

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический университет имени
К.И. Сатпаева

Институт химических и биологических технологий

Кафедра «Биотехнология»

Сулейменова Жанель Оспанбекқызы

«Обеспечение биологической безопасности на промышленных предприятиях от
Infectious bursal disease»

ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

Специальность 5В070100 – «Биотехнология»

Алматы 2019

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический университет имени
К.И.Сатпаева

Институт химических и биологических технологий

Кафедра «Биотехнология»



ДОПУЩЕН К ЗАЩИТЕ

Заведующий кафедрой «БТ»

PhD, профессор

Туйебахова З.К.

« 06 » май 2019 г.

ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

На тему: «Обеспечение биологической безопасности на промышленных предприятиях от *Infectious bursal disease*»

по специальности 5В070100 – «Биотехнология»

Выполнила

Сулейменова Ж.О.

Научные руководители:

канд. с.-х. наук, доцент,

ассоц. профессор

Джамалова Г.А.

« 06 » 05 2019 г.

Заведующий лабораторией

ТОО «НДЦ АЕГ»

Саханин В.С.

« 06 » 05 2019 г.

Алматы 2019

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический университет имени
К.И. Сатпаева

Институт химических и биологических технологий

Кафедра «Биотехнология»

Специальность 5В070100 – «Биотехнология»



УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой «БТ»
PhD, профессор

Туйебахова З.К.
maz 2019 г.

ЗАДАНИЕ

на выполнение дипломной работы

Обучающемуся Сулейменовой Жанель Оспанбекқызы

Тема: «Обеспечение биологической безопасности на промышленных предприятиях от Infectious bursal disease»

Утверждена приказом Ректора Университета № 1163-б от «16» 10.2019 г.

Срок сдачи законченной работы «13» 05.2019 г.

Исходные данные к дипломной работе: результаты иммуноферментного анализа

Краткое содержание дипломной работы:

- а) аналитический обзор литературы;
- б) объект, материал и методика исследования;
- в) результаты исследования.

Перечень графического материала: представлены 7 слайдов презентации работы

Рекомендуемая основная литература: включает 30 наименований

ГРАФИК
подготовки дипломной работы

Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечание
Аналитический обзор литературы	26.02.2019 г.	
Объект, материалы и методика исследования	16.03.2019 г.	
Результаты исследования	02.04.2019 г.	

Подписи

консультантов и нормоконтролера на законченную дипломную работу с указанием относящихся к ним разделов работы

Наименования разделов	Консультанты, И.О.Ф. (уч. степень, звание)	Дата подписания	Подпись
Аналитический обзор литературы	Г.А. Джамалова канд. с.-х. наук, доцент, ассоц. профессор	06.05.2019	
Объект, материалы и методика исследования	Г.А. Джамалова канд. с.-х. наук, доцент, ассоц. профессор В.С. Саханин зав. лабораторией ТОО «НДЦ АЕГ»	06.05.2019	 
Результаты исследования	Г.А. Джамалова канд. с.-х. наук, доцент, ассоц. профессор В.С. Саханин зав. лабораторией ТОО «НДЦ АЕГ»	06.05.2019	 
Нормоконтролер	А.Ж. Абильдаева магистр наук	06.05.2019 ₂	

Научный руководитель _____

Джамалова Г.А.

Задание принял к исполнению обучающийся _____

Сулейменова Ж.О.

Дата

« 06 » 05 2019 г.

АННОТАЦИЯ

Ключевые слова: *Infectious bursal disease*, болезнь Гамборо, иммуноферментный анализ, рекомбинантная вакцина, живая вакцина.

Тема дипломной работы: Обеспечение биологической безопасности на промышленных предприятиях от *Infectious bursal disease*.

Структура и объем дипломной работы. Компьютерный текст дипломной работы изложен на 35 страницах, включает введение (1 стр.), 3 раздела (21 стр.), заключение (1 стр.), библиографический список литературы из 30 наименований. В тексте дипломной работы содержится 10 рисунков и 6 таблиц.

Объект исследования. Вирус инфекционного бурсита кур (*Infectious bursal disease*; болезнь Гамборо).

Предмет исследования: Процесс обеспечения биологической безопасности на птицеводческих предприятиях от *Infectious bursal disease* на основе вакцинотерапии.

Цель дипломной работы: Обеспечение биологической безопасности на промышленных предприятиях от *Infectious bursal disease*.

Результаты исследования. Изучены теоретические основы управления инфекционным процессом на основе использования препаратов, произведенных методами молекулярной биотехнологии, т.е. на основе применения рекомбинантных вакцин. Изучены теоретические основы и методика проведения иммуноферментного анализа. Усовершенствованы мероприятия по обеспечению биологической безопасности на птицеводческих предприятиях от *Infectious bursal disease* на основе применения рекомбинантных вакцин.

АНДАТПА

Түйінді сөздер: Infectious bursal disease, Гамборо ауруы, иммуноферменттік талдау, рекомбинанттық вакцина, тірі вакцина.

Дипломдық жұмыс тақырыбы: Infectious bursal disease-ден өнеркәсіптік кәсіпорындарда биологиялық қауіпсіздікті қамтамасыз ету.

Дипломдық жұмыстың құрылымы мен көлемі. Дипломдық жұмыстың компьютерлік мәтіні 35 бетте жазылған, кіріспе (1 бет), 3 бөлім (21 бет), қорытынды (1 бет) және 30 атаудағы әдебиеттің библиографиялық тізімін қамтиды. Дипломдық жұмыс мәтінінде 10 сурет және 6 кесте бар.

Зерттеу объектісі. Тауықтардың жұқпалы бурситінің вирусы (Infectious bursal disease; Гамборо ауруы).

Зерттеу тақырыбы: Infectious bursal disease-ден вакциноterapia негізінде құс шаруашылығы кәсіпорындарында биологиялық қауіпсіздікті қамтамасыз ету процесі.

Дипломдық жұмыстың мақсаты: Infectious bursal disease-ден өнеркәсіптік кәсіпорындарда биологиялық қауіпсіздікті қамтамасыз ету.

Зерттеу нәтижелері. Рекомбинантты вакциналарды қолдану негізінде биотехнологиялық дәрілердің жұқпалы үрдісін басқарудың теориялық негіздері зерттелді. Иммуноферменттік талдау жүргізудің теориялық негіздері мен әдістемесі зерттелді. Рекомбинантты вакциналарды қолдану негізінде Infectious bursal disease-ден құс шаруашылығы кәсіпорындарында биологиялық қауіпсіздікті қамтамасыз ету жөніндегі іс-шаралар жетілдірілді.

ANNOTATION

Key words: Infectious bursal disease, Gumboro disease, enzyme immunoassay, recombinant vaccine, live vaccine.

Thesis: The provision of biological safety in industrial plants from Infectious bursal disease.

The structure and scope of the thesis. The computer text of the thesis is presented on 35 pages, includes an introduction (1 p.), 3 sections (21 p.), Conclusion (1 p.), A bibliographic list of references from 30 titles. The text of the thesis contains 10 figures and 6 tables.

Object of study. Chick Infectious Bursitis Virus (Infectious bursal disease; Gumboro disease).

Subject of research: The process of ensuring biological safety in poultry farms from Infectious bursal disease on the basis of vaccine therapy.

The aim of the thesis: Ensuring biological safety in industrial plants from Infectious bursal disease.

The results of the study. The theoretical foundations of the management of infectious processes by biotechnological agents have been studied, based on the use of recombinant vaccines. The theoretical bases and methods of conducting immunoassay were studied. Improved biosecurity measures for poultry farms from Infectious bursal disease based on the use of recombinant vaccines.

СОДЕРЖАНИЕ

	Введение	9
1	Аналитический обзор литературы	10
1.1	Ветеринарные аспекты биобезопасности	10
1.2	Общее представление об иммунитете	13
1.3	Возможности управления инфекционным процессом биотехнологическими средствами	17
1.4	Биотехнологические средства управления инфекционным процессом	21
2	Объект, материал и методика исследования	23
2.1	Объект исследования	23
2.2	Материал и методика исследования	23
3	Результаты исследования	29
	Заключение	33
	Список использованной литературы	34

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Прогрессивные технологии в области молекулярной биологии предопределили триумфальное восхождение иммунологии к вершине научного познания. Благодаря открытиям XX века человечеством получено полное представление о функционировании этой сложной системы, отвечающей за внутреннюю среду организма человека, и мы располагаем представлением о глубокой и ультраспецифической иерархии в системе иммунитета, и о том, какой вклад вносит наша иммунная система в процесс протекания каждого конкретного заболевания.

Объект исследования. Вирус инфекционного бурсита кур (*Infectious bursal disease*; болезнь Гамборо).

Предмет исследования: Процесс обеспечения биологической безопасности на птицеводческих предприятиях от *Infectious bursal disease* на основе вакцинотерапии.

Цель дипломной работы: Обеспечение биологической безопасности на промышленных предприятиях от *Infectious bursal disease*.

Задачи исследования:

1) изучить возможности управления инфекционным процессом на основе использования препаратов, произведенных методами молекулярной биотехнологии;

2) изучить теоретические основы и методику проведения иммуноферментного анализа;

3) усовершенствовать мероприятия по обеспечению биологической безопасности на промышленных предприятиях от *Infectious bursal disease*.

Практическое значение. При проведении лабораторных исследований по теме дипломной работы мною освоен метод иммуноферментного анализа.

Достоверность научных теоретических и лабораторных исследований и их результатов подтверждена:

- применением только актуальных утвержденных методик;

- воспроизводимостью теоретических и практических исследований и полученных от этих видов исследований данных.

Личный вклад соискателя:

1) проведение теоретических исследований по изучению вопросов, связанных с иммунитетом и возможностями управления инфекционным процессом биотехнологическими средствами;

2) проведение лабораторных исследований;

3) проведение аналитического анализа по полученным результатам.

Структура и объем дипломной работы. Компьютерный текст дипломной работы изложен на 35 страницах, включает введение (1 стр.), 3 раздела (21 стр.), заключение (1 стр.), библиографический список литературы из 30 наименований. В тексте дипломной работы содержится 10 рисунков и 6 таблиц.

1 Аналитический обзор литературы

1.1 Ветеринарные аспекты биобезопасности

Биобезопасность – система мероприятий, направленных на обеспечение защиты живой природы (биосферы) и условий их обитания от воздействия биологических патогенных агентов (инфекционные микроорганизмы, паразиты и продукты их жизнедеятельности, генно-модифицированные организмы) [1].

Ветеринарные аспекты биобезопасности, как это показано на рисунке 1.1, состоят из четырех мероприятий.



Рисунок 1.1 – Ветеринарные аспекты биобезопасности [1]

Согласно схеме, что указано на рисунке 1.2, зараженный патогенными микроорганизмами организм животного представляет собой опасность в следствии того, что патогенный агент способен не только культивироваться в организме, но и выделяться в окружающую среду, способный наносить таким образом вредоносное воздействие на здоровье человека [2].

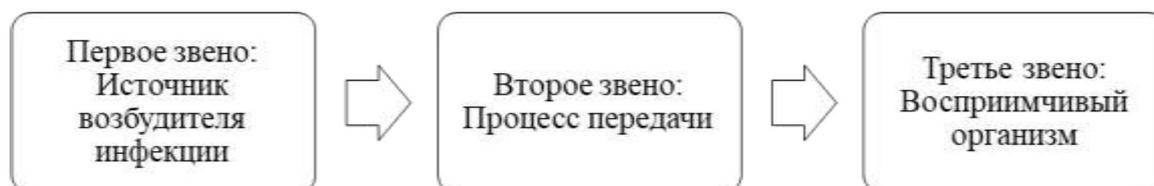


Рисунок 1.2 – Звено эпизоотической цепи [2]

В дополнение к вышесказанному следует отметить, что ключевой деятельностью ветеринаров, в том числе и ветеринарных биотехнологов, из сферы науки и практики является проведение комплекса противоэпизоотических мероприятий, направленных на обеспечение защиты здоровья человека от вредоносного воздействия патогенов (обеспечение биобезопасности) путем:

- своевременного обнаружения больного животного;
- своевременной изоляции больного животного [2].

Таким образом можно заключить, что серологический метод диагностики можно проводить как в организме испытуемого животного, так и в пробирке.

Серологический метод «в пробирке» состоит из следующих подходов:

- реакция связывания комплимента – РСК;
- реакция пассивной гемагглютинации – РПГА;
- непрямой флюоресценции;
- иммуноферментный анализ и др. [2, 3].

Серологический метод диагностики болезней осуществляется с использованием данных:

- эпизоотологии;
- клинической картины;
- патоморфологических изменений;
- результатов аллергических исследований;
- результатов лабораторных исследований [2, 3].

На сегодня имеются технологии, нацеленные на генерацию модифицированных генотипов:

- вирусов;
- бактерий;
- грибов и дрожжей;
- растений;
- животных.

Распространенные, сконструированные *in vitro*, рекомбинантные вирусы включают:

- аденовирусы (представлены группой сравнительно крупных ДНК диаметром 150-200 нм);
- ретровирусы (РНК - содержащие вирусы животных, кодирующие обратную транскриптазу и образующие провирус с хромосомной локализацией);
- вакцины (иммунобиологические препараты, предназначенные для активной иммунопрофилактики);
- герпесвирусы (представлены группой сравнительно крупных ДНК-геномных вирусов диаметром 150-200 нм).

Рекомбинантные вирусы предназначены для экспрессии в целевом организме гетерологичных генов.

В этом случае важно:

- не только оценить риски, исходящие от рекомбинантного вируса;

- но и оценить возможное увеличение потенциала опасности с данным генетическим изменением.

Следовательно, важно выбрать соответствующий уровень биобезопасности [4-7].

Каждый уровень биологической безопасности, как это видно на рисунке 1.3, складывается из характеристик:

- для групп риска существует широкий диапазон градаций;
- оценка риска для каждой группы биологической опасности;
- характеристики агента;
- степень ослабления, фиксаторы, что используются для инактивации агента;
- маршрут инфекции;
- повреждающие для патогена факторы;
- использование штаммов;
- агенты с высоким последствием инфекции [8].

В дополнение к рисунку 1.3, ниже приведены определения для микроорганизмов соответствующего класса опасности: особо опасные (1 класс), возбудители инфекционных заболеваний (2 класс), умеренно (3 класс) и мало опасные (4 класс) [9-11].



Рисунок 1.3 – Класс опасности микроорганизмов: особо опасные (1 класс), возбудители инфекционных заболеваний (2 класс), умеренно (3 класс) и мало опасные (4 класс)

1.2 Общее представление об иммунитете

Иммунитет – это система факторов, обеспечивающая внутреннюю защиту организма от экзогенной (вирусы, бактерии, грибы, чужеродные молекулы) и эндогенной (измененные или опухолевые клетки) биологической агрессии. Выделяют врожденный и приобретенный иммунитет. В первом случае иммунитет функционирует с момента рождения и связан с проявлением не специфических реакций иммунной системы организма, во втором – иммунитет имеет адаптационный характер, так как развивается и закрепляется в ответ на проникновение антигенов во внутреннюю среду организма и связан со специфической функцией лимфоцитов [12].

Иммунная система – это совокупность всех органов лимфоидной системы. В ней различают первичные (центральные) и вторичные (периферические) лимфоидные органы [13].

К первичным органам относят костный мозг и тимус. В них происходит зарождение и дифференцировка лимфоцитов. Для выполнения своих функций лимфоциты мигрируют во вторичные лимфоидные органы – селезенку, лимфоузлы, лимфоидные образования слизистых оболочек и др.:

1) селезенка:

- отвечает за защиту организма от инфекции, проникающей гематогенным путем;

- орган преимущественно ориентирован на выработку гуморального иммунитета, заключающегося в продукции антител;

2) лимфоузлы:

- «улавливают» антигены, поступающие из определенных областей организма через лимфу и тканевую жидкость;

- служат местом, в котором происходит контакт различных клеток иммунной системы и развиваются реакции иммунного ответа;

- отвечают (в преобладании) за процессы формирования клеточного иммунитета;

3) лимфоидные образования:

3.1) слизистых оболочек (миндалины, Пейеровы бляшки кишечника, лимфоидная ткань) обезвреживают антигены, проникающие через слизистые оболочки;

3.2) связанные с кожей (клетки лангерганса, лимфоидные клетки эпидермиса, кератиноциты) играют роль первичного барьера на пути проникновения чужеродных антигенов со стороны слизистых оболочек или кожи (эти органы могут служить местом внетимусного развития части Т-лимфоцитов, а также развития В-лимфоцитов вне костного мозга) [14].

Клетки иммунного ответа. Все клетки предшественники иммунной системы происходят от *стволовой кроветворной клетки*, локализирующейся в костном мозге. В дальнейшем их развитие проходит по двум основным путям:

- лимфопоэз – характеризуется образованием и развитием лимфоцитов;

- миелопоэз – фагоцитов, гранулоцитов и других лейкоцитов [15].

Клетки иммунной системы на основании их происхождения, морфологии и функции классифицируют на следующие группы [16-18]:

1 Фагоциты – клетки, осуществляющие фагоцитоз и элиминацию возбудителя.

2 Гранулоциты и тромбоциты – клетки, осуществляющие внеклеточный цитолиз возбудителя за счет токсинов, содержащихся в их гранулах.

3 Антигенпрезентирующие клетки – клетки, представляющие лимфоцитам антиген для его специфического распознавания. Они могут экспрессировать на своей поверхности молекулы МНС класса II и обеспечивать индукцию стимулирующего сигнала. К ним относят дендритные клетки, макрофаги, В-клетки, тучные клетки и др. Основными и типичными представителями являются дендритные клетки, которые играют центральную роль в презентации антигенов и развития адаптивного иммунного ответа (клетки Лангерганса, интердигитальные клетки тимуса, дендритные клетки слизистых оболочек).

4 Эндотелиальные и другие клетки, выстилающие внутреннюю поверхность кровеносных сосудов; имеют постоянный контакт с циркулирующим пулом клеток крови. Клетки эндотелия:

- имеют совершенно иное происхождение, чем другие клетки крови;
- размножаются простым делением;
- тесно связаны с процессами ангиогенеза;
- необходимы для формирования микроокружения клеток иммунной системы;
- секретируют различные медиаторы.

5 Лимфоциты – клетки, способные осуществлять распознавание антигенов и развивать специфические реакции иммунного ответа.

Различают три основных популяций лимфоцитов: В-, Т- и NK-лимфоциты:

5.1. В-лимфоциты (B_1 , B_2) – клетки памяти, продолжительность жизни несколько месяцев. Основной маркер – BCR (В-клеточный рецепт).

5.2. Т-лимфоциты – клетки памяти, продолжительность жизни исчисляется годами. Основным маркером при их созревании – это экспрессия на их мембране антигенраспознающего рецептора – TCR – CD3. Субпопуляции Т-лимфоцитов:

1) Т-хелперы (Th), несущие на своей поверхности основной маркер CD4. Различают два подкласса Th: Th1 (воспалительные хелперы) с их активностью связывают развитие иммунного ответа, протекающего по клеточному типу; Th2 (иммунные хелперы), с ними связывают развитие гуморального иммунного ответа.

2) Т-киллеры, цитотоксические Т-лимфоциты, несущие на своей поверхности основной маркер CD8;

5.3 NK-лимфоциты – естественные киллеры. В периферической крови человека на их долю приходится 10-12 % всех циркулирующих лимфоцитов, в печени – 42 %, в селезенке – 36 %, в лимфоузлах – 3 %, в легких – 5 %, костном

мозге – 2 %. Их исключительная функция – способность уничтожать клетки, лишённые молекул МНС I (Т-киллеры убивают клетки, имеющие в наличии антиген МНС I).

Клеточный и гуморальный иммунитет. Клеточный иммунитет обеспечивается Т-клетками, а гуморальный – как В-, так и Т-лимфоцитами. Клеточный иммунитет направлен против клеток, несущих на своей поверхности чужеродные антигены (опухолевые или инфицированные вирусами клетки). Гуморальный иммунитет опосредуется циркулирующими в биологических жидкостях антителами, которые продуцируются В-клетками под регуляторным контролем Т-клеток. Антитела связывают соответствующие антигены. Комплексы антитело-антиген быстро удаляются и разрушаются фагоцитарными (макрофагами) клетками. Соединение некоторых антител с клеточными антигенами бактерий запускается серия протеолитических реакций – система комплимента, которая вызывает лизис чужеродных клеток [19].

Таблица 1.1 – Иммуноглобулины [22]

Ig	Количество мономеров	Молекулярная масса, кДа	В сыворотке крови		Характеристика
			Содержание, г/л	Период полураспада, сут	
1	2	3	4	5	6
M	5	970	0,5-1,9	10	Доминируют в качестве ранних, слабоаффинных антител при иммунном ответе на инфекционные агенты и составляют около 10% от общего пула иммуноглобулинов сыворотки крови
G	1	150	8-17	21; для IgG3 – 7	Основные антитела в организме, составляют более 75% от общего пула антител, циркулирующих в крови. Обеспечивают невосприимчивость к инфекциям у новорожденных в первые месяцы жизни. Различают четыре подкласса незначительно различающиеся между собой по аминокислотной последовательности тяжелой цепи (C _γ 1; C _γ 2; C _γ 3 и C _γ 4)
A	1,2,3	160-400	1,4-3,2	6	Молекулы серозно-слизистых секретов (слюна, молозиво, слезы, молоко, отделяемое слизистых мочепоолового, респираторного и кишечного трактов)

1	2	3	4	5	6
E	1	190	0,002- 0,004	2	В сыворотке крови содержится в крайне незначительном количестве; выявляется в фиксированном состоянии на мембранах базофилов и тучных клеток; присутствуют на поверхности клеток слизистых оболочек носовой полости, бронхов и конъюнктивы. Основная роль - развитие многих аллергических процессов, в том числе связанных с развитием противопаразитарного иммунитета
D	1	180	0,03- 0,2	3	В плазме крови представлен менее 1 % всего пула антител, но в значительном количестве – на мембранах В-лимфоцитов. Участвуют в антигензависимой дифференцировке лимфоцитов

Иммуноглобулины – это гетеротетромерные антитела, состоящие из двух одинаковых легких (L-цепи) и двух одинаковых тяжелых (H-цепи) цепей, соединенных вместе дисульфидными связями. Легкие L-полипептидные цепи имеют массу 25 кДа и одинаковы у всех классов. Тяжелые H-цепи с молекулярной массой 50-77 кДа структурно различаются. Для N-концевой последовательности L- и H-цепей свойственна вариабельность, поэтому они названы вариабельными доменами (таблица 1.1) [20].

Эти вариабельные домены, длиной 115 (V_L) и 110 аминокислотных остатков (V_H), образуют эпитопы – антигенсвязывающие центры, состоящие из трех гипервариабельных участков CDR и определяющие комплементарность антител к антигену. С-область полипептида имеет относительно постоянную структуру и обозначается как С - константная область: каждая L-цепь содержит одну константную область размером ~ 110 аминокислот, а каждая H-цепь – три константных областей, размером 330 аминокислотных остатков (C_{H1} ; C_{H2} ; C_{H3}) [21, 22].

В зависимости от числа константных областей различают легкие и тяжелые цепи:

1) легкие цепи делятся на два типа:

- каппа (κ) – характеризуется единственной константной областью;

- лямбда (λ) – характеризуется несколькими родственными типами константных областей;

2) тяжелые цепи на пять типов C_H (μ , δ , γ , ϵ и α), которым соответствуют пять классов иммуноглобулинов (изотипы) – *IgM*, *IgD*, *IgG*, *IgE* и *IgA*. Каждое из этих антител играет специфическую роль в гуморальном иммунитете (таблица 1.1) [21, 22].

1.3 Возможности управления инфекционным процессом биотехнологическими средствами

В развитии любого инфекционного процесса самое непосредственное участие принимают две противоборствующие стороны – система факторов патогенности возбудителя и система иммунитета хозяина. Победа той или иной стороны зависит от исхода инфекционного процесса:

- выздоровление;
- носительство;
- смерть.

1.3.1 Общее представление о вакцинах

Вакцины – это биологические препараты, которые при введении в организм:

- индуцируют первичный иммунный ответ;
- формируют длительное состояние повышенной специфической устойчивости к определенной инфекции.

Различают вакцины:

- живые;
- корпускулярные;
- молекулярные (таблица 1.2);
- комплексные (смесь конкретных моновакцин, создающие иммунную устойчивость сразу к нескольким инфекционным болезням) [23, 24].

С вирусными инфекциями удастся успешно бороться лишь при наличии эффективной и безопасной вакцины.

Разработка любой вакцины требует хорошего знания свойств инфекционного агента и закономерностей развития иммунного ответа организма на инфекцию данным микроорганизмом.

После всех лабораторных исследований клинические испытания потенциальных вакцин проводят в три стадии:

- оценка безопасности потенциальной вакцины на ограниченном круге добровольцев;
- определение иммуногенности;
- оценка протективной эффективности на расширенном круге добровольцев.

1.3.2 Рекомбинантные вакцины «Vaxxitek HVT+IBD» [24]

Для наглядности рассмотрим живую рекомбинантную вакцину «Vaxxitek HVT+IBD», предназначенный против болезни Гамборо кур.

Включает векторы из ДНК штаммов вируса болезни Марека (серотип 3) и болезни Гамборо (9vvIBDV).

Таблица 1.2 – Вакцины [23, 24]

Показатель	Группа вакцин		
	Живые	Корпускулярные (убитые)	Молекулярные
Препарат	Содержит живые микроорганизмы	Основным действующим компонентом являются убитые микробные клетки возбудителя	Растворимые молекулы (белки), полученные из микробных клеток
Вакцинальный процесс	Ослабленная модификация естественного проявления болезни	Характеризуется быстротой развития реакций. Специфичные антитела обнаруживаются в крови вакцинированных уже на 6-7-й день. Антитела могут регистрироваться в крови в течение полутора лет. На динамику ответа большое влияние оказывает адъювант, особенно его «депонирующие» качества	Динамика иммунного ответа во многом сходна с динамикой ответа на убитые корпускулярные вакцины и характеризуется быстрым развитием (пик ответа на 12-17-й день) и таким же быстрым угасанием.
Преимущества	Высокая иммуногенность. Недорогие и технологичные препараты. Разработка, создание и производство не требует дорогостоящего оборудования и понимания тонких механизмов пато- и иммуногенеза	Безопасность. Быстро разрабатываются и конструируются. Используется вирулентный штамм, который убивают, и на его базе путем добавления адъюванта готовят вакцину. Изготовление технологично и довольно дешево.	Низкая токсичность и малая аллергизирующая активность. Относительная безопасность. Возможность увеличения иммунизирующих доз.
Недостатки	Возможность индукции - так называемых вакцинно-ассоциированных заболеваний. Довольно высокая реактогенность и аллергизирующая активность, которая связана с остаточной вирулентностью и длительной персистенцией вакцинного штамма. Трудности диагностики.	Высокая токсичность, реактогенность и аллергизирующая активность. Это связано с наличием токсинов в составе целой микробной клетки. Менее выраженная иммуногенность по сравнению с живыми вакцинами. Кратковременность создаваемого иммунитета и необходимость частых ревакцинаций.	Невысокая иммуногенность. Технологическая сложность и трудоемкость изготовления препарата. Высокая стоимость.

Живой рекомбинантный вирус «вектор vHVT013-69» имеет размер не менее $3,6 \log_{10}$ PFU.

Товарные показатели рекомбинантной вакцины Vaxxitek:

- вакцина по внешнему виду – это замороженная светло-розовая суспензия;

- вакцина расфасована в стеклянные ампулы по 1000, 2000 и 4000 доз (транспортируют и хранят в жидком азоте в сосуде Дьюара);

- разбавитель поставляется вместе с вакциной или отдельно (хранят в сухом темном месте при температуре от 2 до 25 °С).

Ампулы вакцины маркируются с указанием:

- предназначения: для животных;

- названия вакцины;

- фирмы-изготовителя;

- товарного знака;

- номера серии;

- количества доз;

- пути введения;

- срока годности (при соблюдении условий хранения 24 месяца со дня изготовления).

Биологические свойства рекомбинантной вакцины:

- вызывает выработку иммунитета у кур против болезни Марека и болезни Гамборо;

- после однократной вакцинации иммунитет развивается у птиц на 14-й день и сохраняется в течение всей жизни.

1.3.3 Живая вакцина «Авивак» [25]

Живая вакцина «Авивак» используют против следующих заболеваний кур:

- инфекционный бронхит кур (ИБК);

- ньюкаслская болезнь (НБ);

- инфекционная бурсальная болезнь (ИББ);

- реовирусная инфекция инактивированная (теносиновит птиц) (РЕО).

Торговая форма вакцины «Авивак»:

- 1) эмульсия для инъекций;

- 2) изготовлена из:

- 2.1) экстраэмбриональной жидкости эмбрионов кур;

- 2.2) гомогената тушек;

- 2.3) культуры клеток фибробластов эмбрионов СПФ-кур, инактивированных формальдегидом, с добавлением масляного адьюванта Montanide ISA 70 VG и инфицированных вирусами:

- ньюкаслской болезни (штамм «Ла-Сота»);

- инфекционного бронхита кур (штамм серотипа Массачусетс);

- инфекционной бурсальной болезни (штамм «БГ»);

- реовирусом птиц (штамм «1733», «2408»);
- 3) расфасована во флаконы (200–1000 прививных доз) по, см³:
 - 100;
 - 250;
 - 450;
 - 500.

Биологические свойства вакцины «Авивак»:

1) формирует через 28 сут после однократного применения иммунный ответ к возбудителям:

- НБ;
- ИБК;
- ИББ;
- РЕО;

2) иммунный ответ сохраняется в течение 12 мес;

3) безвредна, лечебными свойствами не обладает.

1.4 Биотехнологические средства управления инфекционным процессом

В настоящее время следует выделить несколько типов вакцин, получаемых биотехнологическими методами:

- ДНК-вакцины;
- мукозальные вакцины;
- вакцины, содержащие молекулы МНС;
- антиидиотипические вакцины;
- вакцины из растений [26, 27].

Биотехнологические методы производства вакцин основаны на применении технологий:

- рекомбинантного ДНК;
- рекомбинантного белка.

Противовирусные вакцины получают, внося в клетку гены вирусных белков, проявляющих наибольшую иммуногенность. При культивировании такие клетки синтезируют большое количество вирусных белков, включаемых впоследствии в состав вакцинных препаратов. Важное направление биотехнологии - культивирование растительных клеток, образующих БАВ [27].

ДНК-вакцины. Основная субстанция этого вида вакцин - ДНК возбудителя, кодирующая эпитопы (антигенные детерминанты, образуемые обычно 6-8 аминокислотными остатками и обладающие наибольшим сродством к связывающей области специфического иммуноглобулина) протективных антигенов. В последовательность ее оснований обычно включается подходящий промотор. Такая структура ДНК может проникать в клетку хозяина и встраиваться в ее геном. В результате клетка экспрессирует на своей поверхности эпитоп возбудителя в составе молекул МНС. Вместо композиции ДНК с промотором с успехом могут использоваться плазмиды [27].

Для повышения эффективности ДНК-вакцин можно дополнительно вводить либо плазмиду, экспрессирующую цитокины, либо – короткие иммуностимулирующие последовательности ДНК (ISS), которые усиливают Т-клеточный иммунитет [27].

Преимущества ДНК-вакцин [27]:

1 Простота, дешевизна и безопасность производства. Технология включает в себя культивирование непатогенных бактерий (обычно лабораторных штаммов *E. coli*), содержащих гибридную плазмиду, с последующим разрушением клеток и выделением плазмидной ДНК.

2 Плазмиды более стабильны при хранении, чем большинство вакцин другого типа.

3 Поскольку ДНК-вакцины в организме направляют синтез лишь одного-двух целевых белков, они менее аллергенны, чем цельновирсионные вакцины.

Хотя изученность тонких механизмов действия таких вакцин недостаточна, все-таки отмечена их хорошая эффективность в развитии как клеточного, так и гуморального иммунного ответа.

4 Возможность выполнения экспериментов с ДНК-вакцинами особенно важна для разработки стратегии вакцинопрофилактики.

2 Объект, материал и методика исследования

2.1 Объект исследования [2, 28]

Вирус инфекционного бурсита кур *Infectious bursal disease*:

- 1) из рода Avireovirus семейства реовирусов;
- 2) имеет:
 - РНК геном;
 - размер вириона 60 - 65 нм;
- 3) вызывает инфекционный бурсит кур - болезнь Гамборо;
- 4) резистентен к:
 - эфиру;
 - хлорамину;
 - рН 2,0;
- 5) чувствителен к трипсину;
- 6) в помещении в помете сохраняется 52 дня;
- 7) не погибает в течение часа при 56 °С;
- 8) инактивируется:
 - в 0,5 %-ном растворе хлорамина за 10 мин;
 - в 0,5 %-ном формальдегиде за 6 ч.

Болезнь Гамбора – это вирусная контагиозная болезнь кур, характеризуется воспалением фабрициевой сумки, суставов и кишечника).

У переболевшей птицы образуются вирус антитела (нейтрализующие и преципитирующие).

2.2 Материал и методика исследования [29, 30]

2.2.1 Материалы исследования

Реагенты:

1 Планшеты с покрытием. Инактивированный антиген вируса инфекционного бронхита на микротитрационных планшетах.

2 Конъюгат. Вторичные антитела к антителам кур к ВИБ: меченые щелочной фосфатазой в трис-буфере со стабилизатором белка, инертным красителем красного цвета и консервантом азидом натрия (объемно-весовая концентрация 0,1 %).

3 Таблетки субстрата. Таблетки п-нитрофенилфосфата (пНФФ) для растворения в субстратном буфере.

4 Субстратный буфер. Диэтаноламиновый буфер с кофакторами фермента.

5 Стоп-реагент. Гидроокись натрия в диэтаноламиновом буфере.

6 Разбавитель для образцов. Фосфатный буфер со стабилизатором белка и консервантом азидом натрия (объемно-весовая концентрация 0,2 %).

7 Отмывочный буфер в пакетиках. Забуференный фосфатом физиологический раствор с Твин в виде порошка.

8 Отрицательный контроль. Сыворотка, не содержащая специфических возбудителей, в фосфатном буфере со стабилизатором белка и консервантом азидом натрия (объемно-весовая концентрация 0,2 %).

9 Положительный контроль. Специфические антитела к вирусу ИБ в фосфатном буфере со стабилизатором белка и консервантом азидом натрия (объемно-весовая концентрация 0,2 %).

10 Необходимые материалы и оборудование (не входят в комплект):

- Прецизионные пипетки и одноразовые наконечники;
- 8-канальная или 12-канальная пипетка/репитер-пипетка;
- Пластиковые пробирки или планшет для разведения образцов;
- Дистиллированная или деионизированная вода;
- Устройство для считывания микротитрационных планшетов с фильтром 405 нм;
- Устройство для отмывки микротитрационных планшетов.

2.2.2 Методика исследования

Подготовка реагентов готовят в день использования:

1 Субстрат:

Одну таблетку субстрата с помощью пинцета добавляют к 5,5 мл субстратного буфера.

Перемешивание до полного растворения (около 10 минут).

2 Отмывочный буфер:

К 1 л дистиллированной воды добавляют содержимое одного пакетика с отмывочным буфером.

Перемешивают до полного растворения.

3 Все остальные компоненты набора готовы к использованию, только перед применением их доводят до комнатной температуры (22-27 °С).

4 Подготовка образцов (внимание: положительный и отрицательный контроли не требуют разведения):

Разводят каждый испытуемый образец в соотношении 1/500 в разбавителе для образцов.

Используют 2-этапную процедуру разведения:

1) первое разведение:

- с помощью пипетки добавляют в лунки планшета по 5 мкл каждого образца для разведения образцов (следует записать расположение образцов на шаблоне);

- для получения разведения 1/50 в лунки добавляют в образцы по 245 мкл разбавителя;

2) второе разведение:

- добавив 90 мкл входящего в набор разбавителя для образцов в планшет с покрытием (примечание: необходимо сначала добавить разбавитель в планшет с покрытием);

- возьмите 10 мкл образца, разведенного в соотношении 1/50, и добавьте непосредственно в планшет с покрытием.

Всё это обеспечивает разведение образца в соотношении 1:500 на планшете с покрытием (рисунок 2.1).



Рисунок 2.1 – Этапы постановки реакции: в первые две лунки добавлены: синий цвет – отрицательный контроль, красный цвет – положительный контроль, зеленый цвет – разбавитель для образцов. Фосфатный буфер со стабилизаторами белка и консервантом азидом натрия (объемно-весовая концентрация 0,2 %), красный цвет – конъюгат

2.2.3 Технология лабораторного исследования складывалась из следующих процедур:

1 Получение сыворотки кур (СК, рисунок 2.2).



Рисунок 2.2 – Сыворотки для проведения иммуноферментного анализа

2 В СК с помощью тест-системы измеряют количество антител к вирусу ИБ (инфекционный бурсит):

- микротитрационные планшеты (МТП) покрывают инактивированным антигеном вируса ИБ;

- образцы СК разводят, после их добавляют в лунки МТП;

3 Происходит при ИФА (рисунок 2.3):

- связывание имеющихся антител в СК к вирусу ИБ;

- образование комплексов антиген-антитело;

4 Неспецифические антитела и другие СБ (сывороточные белки) вымывают;

5 В лунки МТП добавляют меченные щелочной фосфатазой вторичные антитела IgG к антителам кур (АТК) к вирусу ИБ:

- все АТК связываются с вирусом ИБ, что находятся в комплексах с антигеном;

- непрореагировавший конъюгат удаляют посредством повторного отмывания;

- добавляют субстрат в виде хромогена п-нитрофенилфосфата (пНФФ).



Рисунок 2.3 – Ридер: микро планшетный фотометр (аппарат для выведения результатов ИФА-теста)

В присутствии АТК к вирусу ИБ появляется желтое окрашивание, интенсивность которого определяется количеством АТК к вирусу ИБ в образце.

Процедура испытания складывалась из следующих мероприятий:

1 Был извлечен планшет (рисунок 2.4) с покрытием из запечатанной упаковки и записано расположение образцов на шаблоне.



Рисунок 2.4 – Полный набор компонентов для постановки ИФА теста

2 Добавлено:

- по 100 мкл отрицательного контроля в лунки A1 и B1;
- по 100 мкл положительного контроля в лунки C1 и D1 (рисунок 2.5).



Рисунок 2.5 – Положительный (красный) и отрицательный (синий) контроль ИФА теста

3 Каждый образец исследуют в отдельной лунке:

- добавляют в соответствующие лунки по 100 мкл каждого образца (1:500);
- накрывают планшет крышкой;
- инкубируйте при комнатной температуре (22-27 °C) в течение 30 минут.

4 Аспирировать содержимое лунок, отмыть 4 раза отмывочным буфером (по 350 мкл на лунку), перевернуть планшет и постучать по фильтровальной бумаге.

5 Добавить по 100 мкл конъюгата в соответствующие лунки. Накрывать планшет и инкубировать при комнатной температуре (22-27 °C) в течение 30 минут.

6 Повторить процедуру отмывки, как описано в пункте 4.

7 Добавить по 100 мкл субстрата в соответствующие лунки. Накрывать планшет крышкой и инкубировать при комнатной температуре (22-27 °С) в течение 15 минут.

8 Остановить реакцию, добавив по 100 мкл стоп – реагента в соответствующие лунки, и выполнить считывание результатов количественного анализа в течение 30 минут.

9 Устанавливают базовое нулевое значение относительно для считывания микротитрационных планшетов и выполняют считывание показателей поглощения для контролей и образцов с использованием фильтра 405 нм.

3 Результаты исследования

На биобезопасность промышленного птицеводства угрозы исходят от особо опасных (список МЭБ), экономически ущербных болезней птиц, таких как:

- болезни Ньюкасла (БН);
- гриппа птиц (ГП);
- инфекционная бурсальная болезнь (ИББ);
- инфекционный бронхит кур (ИБК);
- синдром снижения яйценоскости-76 (ССЯ-76);
- реовирусная инфекция птиц (РВП);
- инфекционный энцефаломиелит птиц (ИЭП);
- респираторный микоплазмоз и микоплазменный синовит, вызываемый

Mycoplasma.

В эксперименте была использована сыворотка крови цыплят, полученная из двух птицефабрик (опыт № 1 и опыт № 2).

Для вакцинации цыплят от *Infectious bursal disease* в опыте № 1 была использована живая вакцина, а в опыте № 2 – рекомбинантная вакцина.

Сведения о пробах опыта № 1 для ИФА и режим работы микропланшетного иммуноферментного фотометра «Ридер» представлены в таблице 3.1.

В дополнение к таблице 1.3 следует отметить, что при работе с Ридером для достоверности реакции важно, чтобы температурный режим лабораторной комнаты находился на уровне 22-27 °С.

Таблица 3.1 – Дата и количество отобранных для ИФА

Тест: Дата взятия крови:	IBD 16.01.2019	Lot on.: Дата Тест:	6480 16.01.2019
Средний титр: Мин. Макс. Титр: G.M.T.: % CV:	6204 1333-11292 5385 47	Кол-во проб Нег/Сомн/По	7 0/0/7
Ожидаемый Титр: Ожидаемый % CV:		-	
VI Index: Target Range VI: Interpretation VI:	132		
Titer Range Ref.Controls	CR100(RF13) (6000-12000)		
Meantiter Ref.Controls	CR100(RF13) (10401)		

Из таблицы 3.1 следует, что:

- сыворотка крови поступило для ИФА 16.01.2019;
- минимальный титр составил 1333;
- максимальный титр - 11292 (при вариации 47 %);

- средний титр – 6204;
- количество проб 7.

О достоверности полученных результатов свидетельствует показатель, высвеченный на экране аппарата: Meantiter Ref.Controls CR100(RF13) (10401) находится в диапазоне требуемого интервала Titer Range Ref.Controls CR100(RF13) (6000-12000).

Результаты иммуноферментного анализа в опыте № 1 представлены в таблице 3.2 и на диаграмме рисунка 3.1.

Таблица 3.2 – Результаты иммуноферментного анализа

Positive Cutoff S/P: >=0,2						
Sample ID	Лунка	Опт.плот	S/P Ratio	Titer	Титрогруппа	Результат
-	A08	0,125				
-	B08	0,143				
+	C08	0,424				
+	D08	0,408				
01	G08	0,906	2,738	6953	7	pos
02	H08	0,837	2,493	6272	7	pos
03	A09	0,752	2,191	5441	6	pos
04	B09	0,786	2,312	5773	6	pos
05	C09	1,334	4,255	11292	9	pos
06	D09	0,306	0,610	1333	2	pos
07	E09	0,847	2,528	6369	7	pos

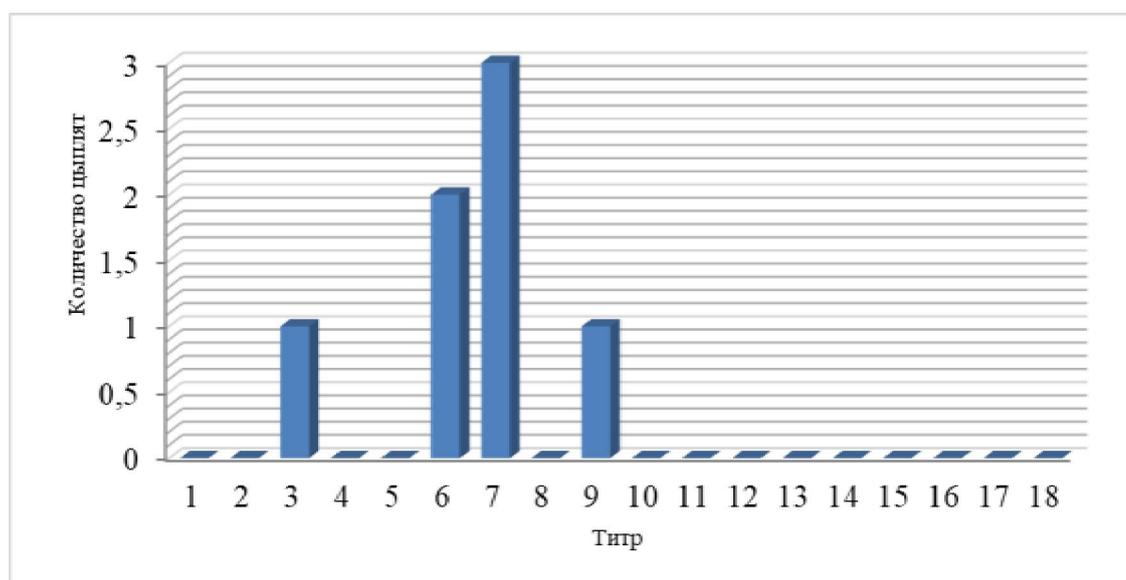


Рисунок 3.1 – Присутствие антител к *Infectious bursal disease* в сыворотке крови 24-недельных цыплят опыта № 1

Как видно из таблицы 3.2, из 7 исследованных проб все 7 проб показали позитивный результат, что указывает на отсутствие болезни. Титры антител

невысокие и варьируют от 2-ой (проба 06) до 9-ой (проба 05) титрогруппы. Таким образом, на основе диагностической системы ИФА, определено неравномерное присутствие антител к *Infectious bursal disease* (таблица 3.2) в сыворотке крови 24-недельных цыплят (рисунок 3.1).

Как видно из рисунка 3.1, диаграмма в сыворотке крови 24-недельных цыплят при использовании живой вакцины указывает на присутствие антител к *Infectious bursal disease* в широком диапазоне. Это свидетельствует о том, что иммунный ответ сформировался неоднородно, от второй до 9-ой титрогруппы.

Данное исследование подтверждает о нестабильно сформированном иммунном ответе. Иммунный ответ на введение живых вакцин перорально ответил образованием среднего уровня антител, что указывает на некачественную вакцинацию.

В опыте № 2 была использована рекомбинантная вакцина.

Сведения о пробах опыта № 2 для ИФА и режим работы микропланшетного иммуноферментного фотометра «Ридер» представлены в таблице 3.3. Как видим, что при работе с Ридером для достоверности реакции важно, чтобы температурный режим лабораторной комнаты находился на уровне 22-27 °С.

Таблица 3.3 – Дата и количество отобранных для ИФА

Тест: Дата взятия крови:	IBD 16.01.2019	Lot on.: Дата Тест:	6480 16.01.2019
Средний титр: Мин. Макс. Титр: G.M.T.: % CV:	7500 5076 - 11386 7247 29	Кол-во проб Нег/Сомн/По	7 0/0/7
Ожидаемый Титр: Ожидаемый % CV:		-	
VI Index: Target Range VI: Interpretation VI:	258		
Titer Range Ref.Controls		CR100(RF13) (6000-12000)	
Meantiter Ref.Controls		CR100(RF13) (10401)	

Из таблицы 3.3 следует, что:

- сыворотка крови поступило для ИФА 16.01.2019;
- минимальный титр составил 5076, максимальный титр 11386 (при вариации 29 %), средний титр 7247;
- количество проб 7.

О достоверности полученных результатов свидетельствует показатель, высвеченный на экране аппарата: Meantiter Ref.Controls CR100(RF13) (10401) находится в диапазоне требуемого интервала Titer Range Ref.Controls CR100(RF13) (6000-12000).

Результаты иммуноферментного анализа в опыте № 2 представлены в таблице 5 и на диаграмме рисунка 3.2.

Как видно из таблицы 3.4, из 7 исследованных проб все 7 проб показали позитивный результат, что указывает на отсутствие болезни. Титры антител находятся приблизительно на одном уровне, т.е. от 6 (пробы 04, 05) до 9 (проба 02).

Таблица 3.4 – Результаты иммуноферментного анализа сыворотки крови

Positive Cutoff S/P: $\geq 0,2$						
Sample ID	Лунка	Опт.плот	S/P Ratio	Titer	Титрогруппа	Результат
-	A08	0,125				
-	B08	0,143				
+	C08	0,424				
+	D08	0,408				
01	G08	1,070	3,319	8592	8	pos
02	F09	1,343	4,287	11386	9	pos
03	H09	1,008	3,099	7968	7	pos
04	A19	0,755	2,202	5471	6	pos
05	B19	0,714	2,057	5076	6	pos
06	C19	0,835	2,486	6252	7	pos
07	D10	0,987	3,025	7759	7	pos

Таким образом, на основе диагностической системы ИФА определено присутствие антител к *Infectious bursal disease* (таблица 3.4) в сыворотке крови 24-недельных цыплят в диапазоне 6-9 титрогруппы (рисунок 3.2).

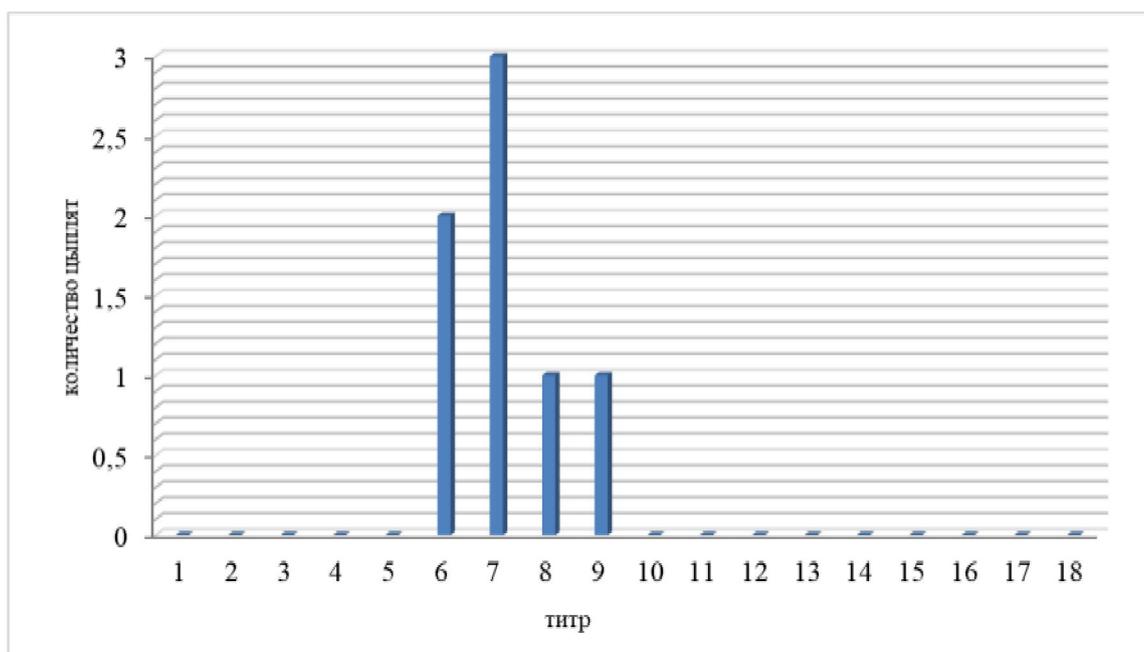


Рисунок 3.2 – Присутствие антител к *Infectious bursal disease* в сыворотке крови 24-недельных цыплят опыта № 2

Как видно из рисунка 3.2, диаграмма в сыворотке крови 24-недельных цыплят, когда применялась рекомбинантная вакцина, присутствие антител к *Infectious bursal disease* наблюдается в узком диапазоне и это указывает на то, что иммунный ответ сформирован более однородно. Данное исследование, основанное на иммуноферментном анализе, подтверждает о стабильно сформированном иммунном ответе.

В итоге можно заключить, что рекомбинантные вакцины стабильно формируют у 24-недельных цыплят высокий иммунитет.

Как видим, выработка антител зависит от вида (живая, рекомбинантная) и метода применения (перорально, подкожно) вакцин и температурного режима лаборатории.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обеспечение биологической безопасности на птицеводческих предприятиях от *Infectious bursal disease* был обеспечен на основе вакцинотерапии.

Выводы:

1 Изучены теоретические основы управления инфекционным процессом на основе использования препаратов, произведенных методами молекулярной биотехнологии, т.е. на основе применения рекомбинантных вакцин;

2 Изучены теоретические основы и методика проведения иммуноферментного анализа;

3 Усовершенствованы мероприятия по обеспечению биологической безопасности на птицеводческих предприятиях от *Infectious bursal disease* на основе применения рекомбинантных вакцин.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Иванов Н. П., Ветеринария в проблеме биобезопасности//Труды Казахского агротехнического университета имени С. Сейфулина. Астана, 2010. – С.93-97.
- 2 Иванов П. П., Диагностика инфекционных болезней. Алматы, 2009. – 907 с.
- 3 Жаворонок С.В., Тапальский Д.В. Иммуноферментный анализ. Учебное пособие. Гомель: Гомельский государственный медицинский университет, 2004. - 28 с.
- 4 Булашев А. К., Кухар Е. В., Ветеринарная биотехнология, Астана, 2009. - 221 с.
- 5 Джамалова Г.А., Мусина У.Ш. Объекты биотехнологии: Учеб. Пособие для технических высших учебных заведений / Г.А. Джамалова, У.Ш. Мусина. – Алматы. КазНТУ, 2015. – 271 с.
- 6 Джамалова Г.А., Мусина У.Ш., Еликбаев Б.К. Основы биотехнологии: Учеб. Пособие для технических высших учебных заведений / Г.А. Джамалова, У.Ш. Мусина., Б.К. Еликбаев – Алматы. КазНТУ, 2015. – 340 с.
- 7 Office of Biotechnology Activities. NIH Guidelines for Research Involving Recombinant and Synthetic Nucleic Acid Molecules. Office of Biotechnology Activities; 2013. [Online: the most current version can be found at. URL: <http://osp.od.nih.gov/office-biotechnology-activities/biosafety/nih-guidelines> (дата обращения: 09.04.2019).
- 8 Pentella MA, Kostle PA, Desjardin L, Gilchrist MJR. Biosafety for airborne pathogens. In: Fleming DO, Hunt DL, editors. Biological Safety: Principles and Practices. 4. Washington, D.C: ASM Press; 2006. pp. 209–220.
- 9 Приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан от 8 сентября 2017 года № 684 Об утверждении Санитарных правил «Санитарно-эпидемиологические требования к лабораториям, использующим потенциально опасные химические и биологические вещества».
- 10 СП 1.2.731-99 Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности и гельминтами.
- 11 Шеина Н.И. Критерии оценки биобезопасности микроорганизмов, используемых в биотехнологической промышленности // Вестник ОГУ № 6 (142). Москва, 2012. – С.165 – 169.
- 12 Кисленко, В.Н. Ветеринарная микробиология и иммунология: Практикум / В.Н. Кисленко. - СПб.: Лань, 2012. - 368 с.
- 13 Иммунология / Д. Мейл и др. - М.: Логосфера, 2007. - 568 с.
- 14 Левинсон, У. Медицинская микробиология и иммунология / У. Левинсон. - М.: Бином, 2015. - 1181 с.
- 15 Хаитов, Р.М. Иммунология. Учебник / Р.М.Хаитов. - М., 2009. – 409 с.
- 16 Меньшиков, И. В. Введение в иммунологию / И.В. Меньшиков, Л.В. Бедулева. - М.: Регулярная и хаотическая динамика, Институт компьютерных исследований, 2010. - 140 с.

- 17 Змушко, Е. И. Клиническая иммунология / Е.И. Змушко, Е.С. Белозеров, Ю.А. Митин. - М.: Питер, 2001. - 576 с.
- 18 Левинсон, У. Медицинская микробиология и иммунология / У. Левинсон. - М.: Бинوم. Лаборатория знаний, 2015. - 678 с.
- 19 Мальцев, В. Н. Медицинская микробиология и иммунология. Учебник / В.Н. Мальцев, Е.П. Пашков. - М.: Практическая медицина, 2014. - 512 с.
- 20 Хаитов, Р. М. Иммунология (+ CD-ROM) / Р.М. Хаитов. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 528 с.
- 21 Кисленко, В. Н. Ветеринарная микробиология и иммунология / В.Н. Кисленко, Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 784 с.
- 22 Хаитов, Р. М. Иммунология (+ CD-ROM) / Р.М. Хаитов. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 528 с.
- 23 Джамалова Г. А., Мусина У. Ш. Объекты биотехнологии: Учеб. пособие для технических высших учебных заведений / Г. А. Джамалова, У. Ш. Мусина. – Алматы: КазНТУ, 2015. – 271 с.
- 24 Джамалова Г. А., Мусина У. Ш., Еликбаев Б.К. Основы биотехнологии: Учеб. пособие для технических высших учебных заведений / Г. А. Джамалова, У. Ш. Мусина, Б.К. Еликбаев. – Алматы: КазНТУ, 2015. – 340 с.
- 25 «Вакситек (Гамборо+HVT)», живая вакцина против болезни Марека и Гамборо. URL: <http://olnis.ru/catalog/382-%C2%ABvaksitek-gamborohvt%C2%BB-zhivaya-vaktsina-protiv-bolezni-mareka-i-gamboro> (дата обращения: 24.04.2019).
- 26 АВИВАК: Общие положения. URL: <http://avivac.com/articles/item/74-sravnenie-vakzin> (дата обращения: 24.04.2019).
- 27 Глик Б. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Глик Б., Пастернак Дж. – М.: Мир, 2002. – 589 с.
- 28 Самотруева М.А., Фельдман Б.В., Цибизова А.А. Фармацевтическая биотехнология. Часть 1. – Астрахань: Изд-во АГМА, 2013 г. – 148 с.
- 29 Гилберт Д.Н., Моллеринг С.Р., Элиопулос Д.М., Сэнд А.М. Стэнфордский справочник: антибиотикотерапия. – М., ЭКСМО 2009. – 288 с.
- 30 BioChek, smart veterinary solutions for Swine & Poultry. URL (дата обращения: 14.04.2019).

Краткий отчет



Университет:	Satbayev University
Название:	Обеспечение биологической безопасности на промышленных предприятиях от Infectious bursal disease
Автор:	Сулейменова Жанель Оспанбекқызы
Координатор:	Гуля Джамалова
Дата отчета:	2019-04-29 11:02:16
Коэффициент подобию № 1: ?	6,1%
Коэффициент подобию № 2: ?	1,0%
Длина фразы для коэффициента подобию № 2: ?	25
Количество слов:	6 282
Число знаков:	48 505
Адреса пропущенные при проверке:	
Количество заверенных проверок: ?	21



К вашему сведению, некоторые слова в этом документе содержат буквы из других алфавитов. Возможно - это попытка скрыть позаимствованный текст. Документ был проверен путем замещения этих букв латинским эквивалентом. Пожалуйста, уделите особое внимание этим частям отчета. Они выделены соответственно.

Количество выделенных слов 10