

УДК: 619:578.831.21:578.821.21

Аманова Ж.Т.,
аспирант¹
Жугунисов К.Д.,
старший научный сотрудник, заведующий лабораторией²
Булатов Е.А.,
кандидат биологических наук²,
Жунушов А.Т.,
член-корреспондент НАН КР, доктор ветеринарных наук, профессор¹
Саметова Ж.Ж.,
младший научный сотрудник²
Шаяхметов Е.А.,
старший лаборант²
Баракбаев К.Б.,
кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией²
Абдураимов Е.О.,
доктор ветеринарных наук, заместитель директора²

¹ *Институт биотехнологии Национальной академия наук Кыргызской Республики,*

² *РГП Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, пгт. Гвардейский, Жамбылская область, Казахстан.*

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СТАБИЛИЗИРУЮЩИХ СРЕД ПРИ ЛИОФИЛИЗАЦИИ И ХРАНЕНИИ АССОЦИИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ЧУМЫ МЕЛКИХ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ И ОСПЫ ОВЕЦ

Аннотация. Данная научная статья рассматривает шесть стабилизирующих сред, состоящие из пептона, лактозы, сахарозы, ГЛА и желатина они были протестированы на их эффективность в стабилизации ассоциированной вакцины против чумы мелких жвачных животных и оспы овец при лиофилизации и хранении. Эффективность ассоциированных вакцин, содержащих различные стабилизирующие составы, оценивали по уровню биологической активности вирусов, после их лиофилизации и хранении в разных температурно-временных режимах (минус 20°C, 4°C, (20–22)°C и (35–37°C в течение 12 мес., 7 сут и 5 сут соответственно) с использованием специфических сывороток. Контролем служила вакцина, высушенная без защитной среды. В результате проведенных исследований установлено, что комплексная среда, состоящая из пептона-лактозы в конечной концентрации 3 % и 2 % соответственно, являются эффективными стабилизаторами при лиофилизации и хранении ассоциированной вакцины против чумы мелких жвачных животных и оспы овец.

Ключевые слова: ассоциированная вакцина, чума мелких жвачных животных, оспа овец, лиофилизация, стабилизирующая среда.

МАЙДА КЕПШӨӨЧҮ ЖАНЫБАРЛАРДЫН КАРА ТУМООСУ ЖАНА КОЙЛОРДУН КҮЛ ЫЛАҢДАРЫНА КАРШЫ АССОЦИАЦИЯЛАНГАН ВАКЦИНАСЫНЫН ЛИОФИЛДИК КУРГАТУУ ЖАНА САКТОО УЧУРУНДА СТАБИЛДЕШТИРҮҮЧҮ ЧӨЙРӨЛӨРДҮН НАТЫЙЖАЛУУЛУГУН БААЛОО

Аннотация. Бул илимий макалада пептон, лактоза, сахароза, лактальбумин гидролизаты жана желатинден турган алты стабилдештирүүчү чөйрөлөр, майда кепшөөчү жаныбарлардын кара тумоосу жана койлордун чечек оорусуна каршы ассоциацияланган вакцинасын лиофилдик кургатуу жана сактоо боюнча стабилдештирүүдө алардын натыйжалуулугу боюнча тестирилөөдөн өтүштү. Ар кандай стабилдештирүүчү курамын камтыган ассоциацияланган вакциналарынын натыйжалуулугу, алардын ар кандай температуралык шарттарда (минус 20 °С, 4 °С, (20-22) °С, жана (35-37) °С, 12 ай, 7 күн жана 5 күн тиешелүүлүгүнө жараша) лиофилдик кургатуудан жана сактоодон кийин атайын кан сары суусун колдонуу аркылуу вирустардын биологиялык активтүүлүгү бааланды. Контролду вакцина катары курамында стабилдештирүүчү чөйрөсү жок вакцина колдонулду. Жүргүзүлгөн изилдөөлөрдүн натыйжасында майда кепшөөчү жаныбарлардын кара тумоосу жана койлордун күл ылаңына каршы ассоциацияланган вакцинасын лиофилдик кургатуу жана сактоодо тиешелүүлүгүнө жараша 3% жана 2% концентрациясындагы пептон-лактозадан турган комплексттүү чөйрө натыйжалуу стабилизатор болуп саналды.

Негизги сөздөр: ассоциацияланган вакцина, майда кепшөөчү жаныбарлардын кара тумоосу, койлордун күл ылаңы, лиофилдик кургатуу, стабилдештирүүчү чөйрө.

EFFICIENCY OF STABILIZING MEDIA FOR LYOPHILIZATION AND STORAGE ASSOCIATED VACCINE AGAINST PESTE DES PETITS RUMINANTS AND SHEEP POX

Abstract. Six stabilizing media consisting of peptone, lactose, sucrose, lactalbumin hydrolyzate, and gelatin were tested for their effectiveness in stabilizing the associated vaccine against peste des petits ruminants and sheep pox at lyophilization and storage. The effectiveness of the associated vaccines containing various stabilizing composition was evaluated by the level of the biological activity of the viruses, after their lyophilization and storage in different temperature-time regimes (minus 20°C, 4°C, (20–22)°C and (35–37)°C for 12 months., 7 days and 5 days, respectively) using specific sera. The control was the vaccine, dried without a protective environment. As a result of the research, it was established that a complex medium consisting of peptone-lactose at a final concentration of 3% and 2%, respectively, are effective stabilizers in the lyophilization and storage of the associated vaccine against peste des petits ruminants and sheep pox.

Key words: associated vaccine, sheep pox, peste des petits ruminants, lyophilization, stabilizing media.

Введение

Чума мелких жвачных животных (ЧМЖЖ) и оспа овец (ОО) являются широко распространенными и особо опасными заболеваниями способными при вспышке массово распространяться среди животных, приводя к гибели значительной части поголовья. В особенности вспышка обеих вирусов в одно и то же время среди сельскохозяйствен-

ных животных, приводит к колоссальным экономическим убыткам, связанных с гибелью и вынужденным убоем больных животных, снижением продуктивности, затратами на проведение ветеринарно-санитарных и охранно-карантинных мероприятий. Первостепенной важностью при контроле чумы и оспы среди мелких жвачных животных является применение эффективных вакцин.

В связи с этим, ученые разных стран [1–5] стали уделять особое внимание разработке ассоциированных вакцин против ЧМЖЖ и ОО, так как данная вакцина при применении способствует одновременной выработке иммунитета против указанных болезней, при этом по иммунологической и эпизоотологической эффективности не уступает моновалентным вакцинам против указанных инфекций.

При разработке ассоциированных препаратов особое значение имеет сохранение иммунологической эффективности. В свою очередь, поддержание протективных свойств вакцины в большинстве зависит от биологической устойчивости вакцинного штамма вируса, содержащегося в ее составе, не только в течение длительного хранения, но и на технологических этапах разработки биопрепарата. В этом случае существенную значимость имеют стабилизирующие среды, которые защищают биологическую активность вакцинного штамма от инактивации при лиофилизации и в последующем хранении.

Известно, что в качестве стабилизирующих сред для изготовления биопрепаратов применяют различные белковые и белково-углеводные комплексные стабилизирующие среды обеспечивающие сохранение высушенных культур вирусов десятки лет при минусовых температурах.

В значительной степени самыми распространенными и эффективными в стабилизации вакцин против ЧМЖЖ и ОО являются защитные среды, содержащие в своем составе лактозу, сахарозу, пептон, гидролизат лактальбумина (ГЛА) и желатин в разных процентных соотношениях [6–11].

Исходя из данных литературных источников, нами были выбраны шесть прописей комбинированных защитных сред в разных процентных соотношениях, с целью оценки их эффективности при лиофилизации и хранении ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и ОО.

Материалы и методы

В опытах применяли вакцинные штаммы «Nigeria-75/1» вируса ЧМЖЖ и «НИСХИ» вируса ОО. Исследования по культивированию вирусов ЧМЖЖ и ОО осуществляли в культуре клеток Vero с одновременным внесением вирусов в объеме по 0,01 ТЦД₅₀/кл. Культивирование вирусов проводили при $(37 \pm 0,1)^\circ\text{C}$ на протяжении 7 сут. При репродукции вирусов на 70–80%, сосуды с вирусосодержащими материалами замораживали в морозильных камерах поддерживающие минус 20°C . Через 12–18 ч проводили оттаивание замороженных вирусных материалов в условиях комнатной температуры с дальнейшим сбором в стерильный сосуд. Активность наработанной суспензии вирусов ЧМЖЖ и ОО определяли общепринятым методом в культуре клеток Vero [12]. Титр вируса высчитывали по методу Reed I.J. и Muench H.A и указывали в $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ [13].

Для определения эффективности защитных сред было изготовлено шесть микросерий ассоциированной вакцины с различным стабилизирующим составом. В роли стабилизаторов применяли комбинированные белково-углеводные среды, содержащие пептон, сахарозу, лактозу, ГЛА и желатин в разных паритетах. В качестве контроля использовали ассоциированную вирусосодержащую суспензию без защитных добавок.

Перед высушиванием вирусосодержащую суспензию концентрировали со стабилизирующими средами в соотношениях 1:1, с последующим добавлением антибиотиков (500000 ЕД пенициллина, 0,5 мг стрептомицина и 25000 ЕД нистатина на 1 дм^3). После контакта с антибиотиками в течение 12 ч при плюс 4°C ассоциированную суспензию разливали в ампулы по 2 см^3 и лиофилизировали в сублимационной установке по следующей схеме:

1. Глубокая заморозка вакцинной жидкости в течение 12 ч при температуре $(-56)^\circ\text{C}$;
2. Вакуум в лиофильном аппарате – 0,8–1,0 бар;

3. Режим лиофилизации – нагрев полки до 15–30°C при температуре конденсатора минус 58–62°C;

4. Досушивание препарата в конце лиофилизации при температуре 24°C в течение 8–10 ч.

Продолжительность процесса лиофилизации составила 72 ч. Ампулы после лиофилизации отпаивали под вакуумом и определяли биологическую активность вирусов после их высушивания и хранения при следующих температурах плюс 35–37°C, плюс 20–22°C в течение 5 сут. и 7 сут. соответственно, также для долгосрочного хранения при температурах 4°C и минус 20°C сроком до 12 мес. После различных сроков хранения извлекали по 3 ампулы, и содержимое их ресуспендировали до первоначального объема поддерживающей средой, смешивали и определяли активность вирусов методом титрования в культуре клеток Vero с использованием специфических сывороток к вирусу ЧМЖЖ и ОО [14] и путем электронной микроскопии

контролировали наличие вирусных частиц ЧМЖЖ и ОО.

Статистическая обработка экспериментальных данных. Математическую достоверность результатов исследований устанавливали с использованием программы Graph Pad Prism 6.0. Порогом статистической значимости считали $P < 0.05$.

Результаты исследований

В результате проведенных исследований было приготовлена ассоциированная суспензия с биологической активностью вируса ЧМЖЖ – $5,67 \pm 0,08 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ и ОО – $6,17 \pm 0,08 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$. Готовую ассоциированную суспензию объединяли с выбранными стабилизирующими средами в равных объемах (1:1) и приготовили экспериментальные образцы ассоциированной вакцины.

По разнице данных биологической активности исходных и высушенных материалов судили о протективном свойстве испытуемых сред. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1. Биологические и физические показатели экспериментальных образцов ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и ОО

№№ образцов препарата	Наименование и содержание компонентов стабилизирующей среды в вакцине (%)	Активность вирусов после лиофилизации, $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$	Снижение активности вирусов после лиофилизации, $\lg \text{ТЦД}_{50}$	Физические показатели вакцины после лиофилизации
1	Пептон – 3 Лактоза – 2	$5,17 \pm 0,08 /$ $5,75 \pm 0,00$	-0,50 / -0,42	Однородная таблетка светло-бежевого цвета
2	Пептон – 5 Лактоза – 3	$5,25 \pm 0,00 /$ $5,83 \pm 0,08$	-0,42 / -0,34	Однородная таблетка бежевого цвета
3	Пептон – 3 Сахароза – 2	$5,00 \pm 0,00 /$ $5,58 \pm 0,08$	-0,67 / -0,59	Однородная слегка пористая таблетка желтого цвета
4	Пептон – 5 Сахароза – 3	$5,08 \pm 0,08 /$ $5,67 \pm 0,08$	-0,59 / -0,50	Однородная слегка пористая таблетка желтого цвета
5	Сахароза – 3 Желатин – 0,5 ГЛА – 3	$5,00 \pm 0,00 /$ $5,58 \pm 0,08$	-0,67 / -0,59	Однородная пористая таблетка желтого цвета
6	Сахароза – 3 ГЛА – 3	$4,67 \pm 0,08 /$ $5,42 \pm 0,08$	-1,00 / -0,75	Деформированная пористая таблетка желтого цвета
7	Контроль	$3,75 \pm 0,00 /$ $4,50 \pm 0,08$	-1,92 / -1,67	Рассыпчатая масса бледно-розоватого цвета

Примечания:

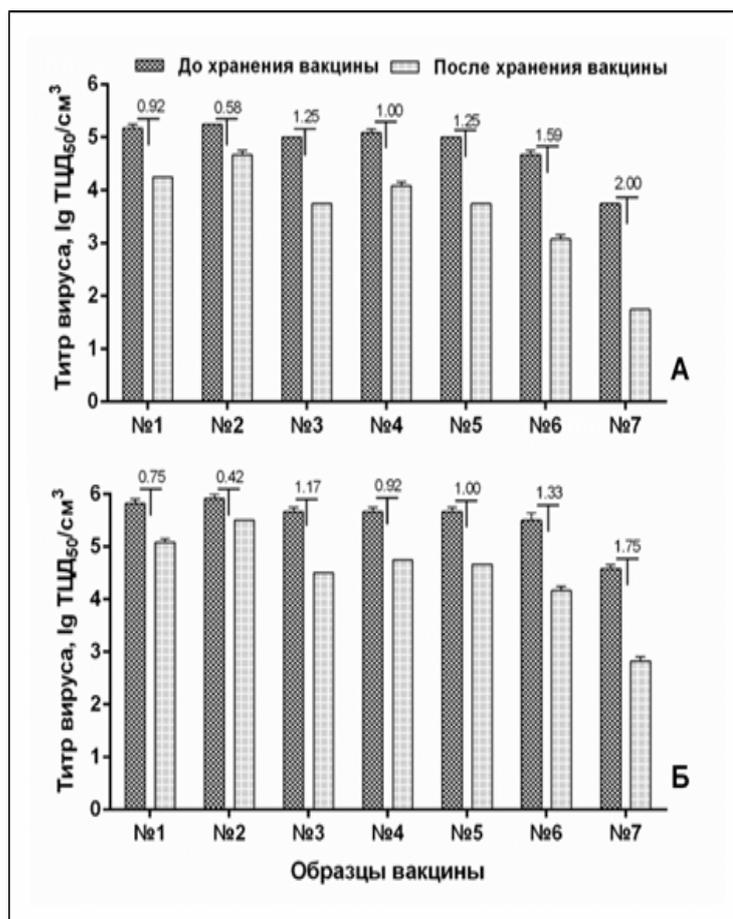
Ч и с л и т е л ь – активность вируса ЧМЖЖ;

З н а м е н а т е л ь – активность вируса ОО.

Данные представленные в таблице 1 свидетельствуют, что защитные возможности комбинированных сред таких, как пептон-лактоза (3% – 2%, 5% – 3%) и пептон-сахароза (5% – 3%) выше по сравнению с другими средами, при этом снижение биологической активности вирусов ЧМЖЖ и ОО после лиофилизации составляло в пределах 0,42–0,59 / 0,34–0,50 lg ТЦД₅₀/см³ соответственно. Эффект стабилизации при использовании комбинированных сред, состоящих из 3 % сахарозы с 0,5% желатином и 3% ГЛА а также 3 % пептона с 2% сахарозой несколько ниже чем предыдущие защитные среды. Так, потеря вирусов ЧМЖЖ и ОО с данными защитными средами после лиофилизации составила 0,67 / 0,59 lg ТЦД₅₀/см³ соответственно. Наименьшими защитными свой-

ствами для вирусов ЧМЖЖ и ОО после лиофилизации обладал 3% сахароза с 3% ГЛА, потеря вирусов составила 1,00 / 0,75 lg ТЦД₅₀/см³ соответственно. Наибольшее снижение биологической активности отмечалось в контрольных образцах вакцины без защитной среды (1,92 / 1,67 соответственно).

Защитные свойства комбинированных стабилизирующих сред также изучены при хранении образцов вакцины в разных температурно-временных режимах, при этом степень снижения активности оценивали по разнице титра в исходном и хранившемся материале. Для этого образцы ассоциированной вакцины выдерживали при температурах (35–37) °С и (20–22) °С в течение 5 сут и 7 сут соответственно. Результаты представлены на рисунках 1 (А, Б) и 2 (А, Б).



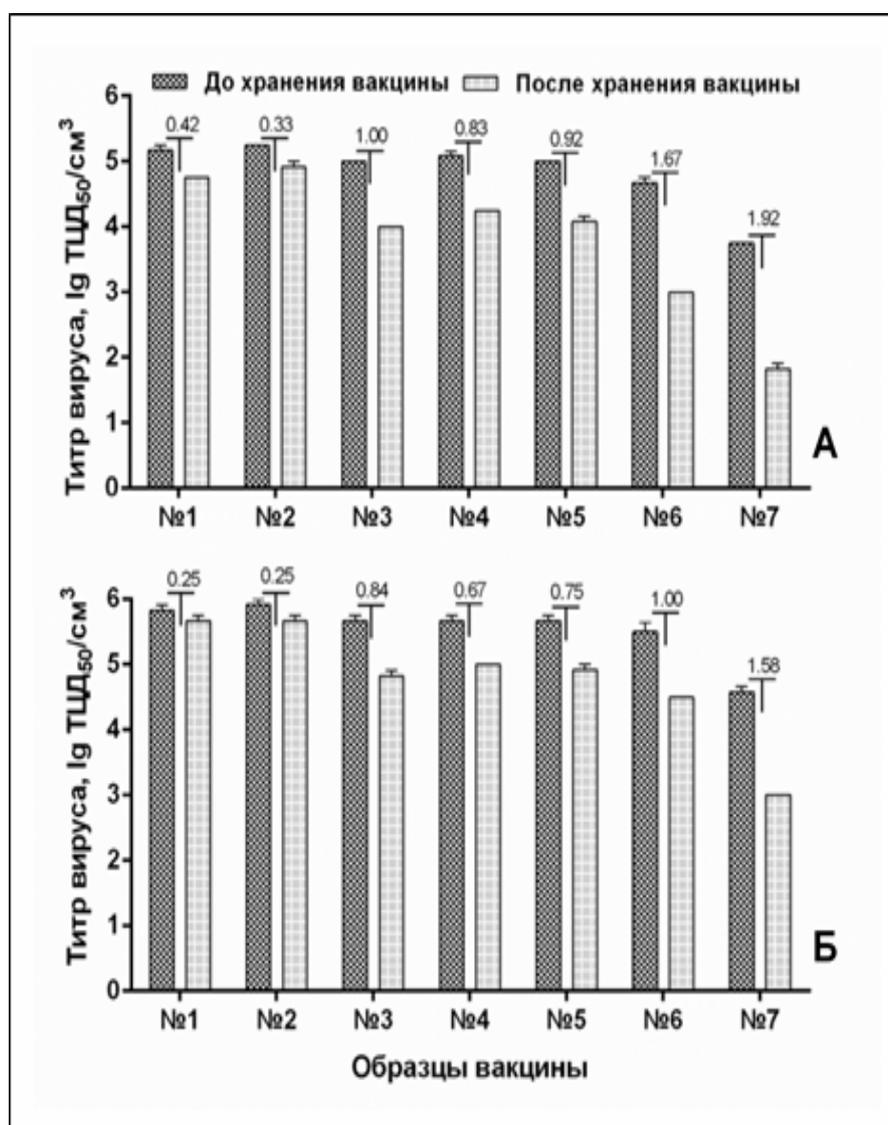
А – активность вируса ЧМЖЖ; Б – активность вируса ОО;

Т – разница между титрами исходного вируса и после его хранения в lg ТЦД₅₀/см³

Рис. 1. Сохраняемость образцов ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и ОО при температурах (35–37) °С

Из рисунка 1 видно, что хранение образцов ассоциированного препарата при температурах (35–37)°С в течение 5 сут наибольшими протективными свойствами обладают защитные среды, использованные в образцах вакцины № 1 (пептон 3%, лактоза 2 %), № 2 (пептон 5 %, лактоза 3%). В данных образцах вакцины снижение биологической активности вирусов ЧМЖЖ и ОО составила в пределах от 0,58 до 0,92 lg ТЦД₅₀/см³, и от 0,42 до 0,75 lg ТЦД₅₀/см³, соответственно. При указанных

температурах хранения на 5 сут незначительным защитным эффектом обладали образцы вакцины № 3 (пептон 3 %, сахараза 2 %), № 4 (пептон 3 %, сахараза 2 %) и № 5 (ГЛА – 3 %, сахараза 3 % и желатин 0,5 %), где потеря вируса ЧМЖЖ составила в пределах 1,00–1,25 и вируса ОО 0,92–1,17. Наибольшее снижение активности вирусов ЧМЖЖ и ОО отмечалось в образцах вакцины № 6 (ГЛА 3 % и сахараза 3 %) и № 7 без защитной среды от 1,59 до 2,00 / от 1,33 до 1,75 lg ТЦД₅₀/см³, соответственно.



А – активность вируса ЧМЖЖ; Б – активность вируса ОО;

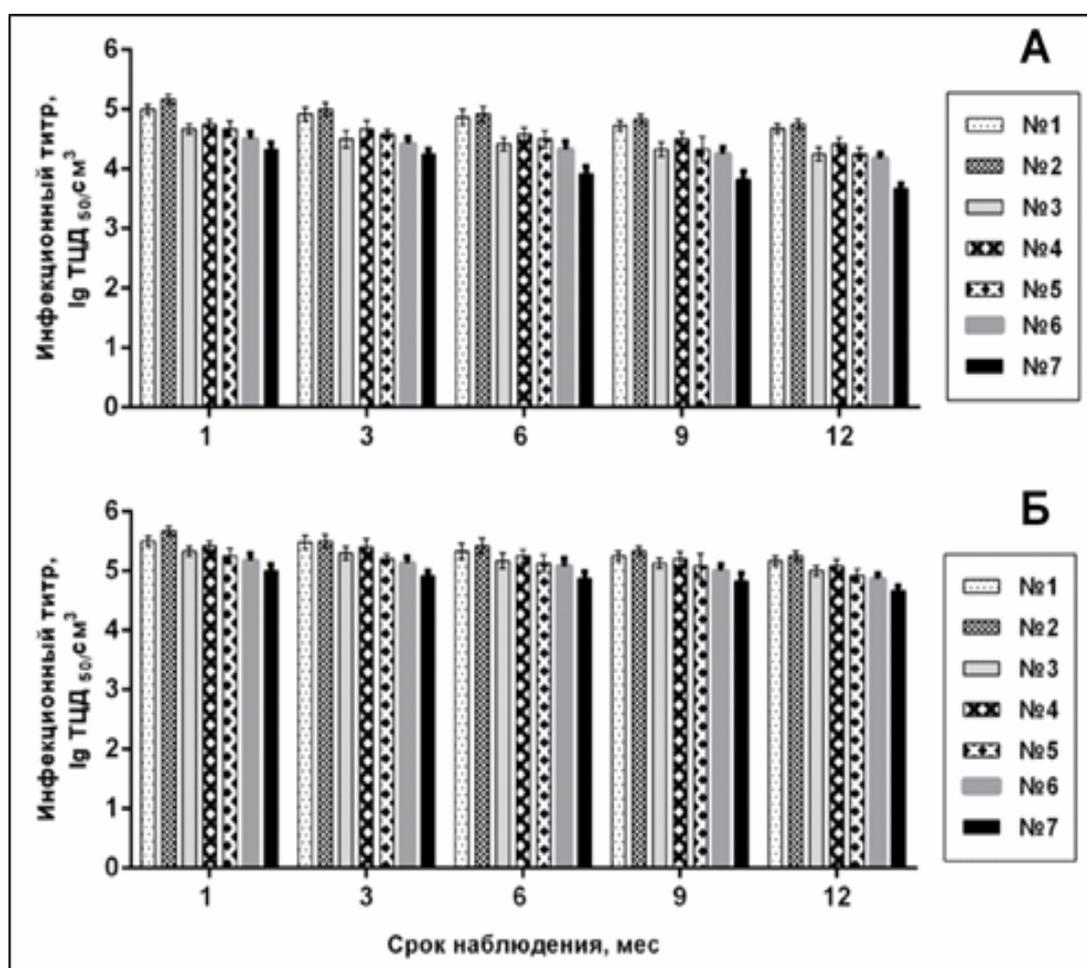
Т – разница между титрами исходного вируса и после его хранения в lg ТЦД₅₀/см³

Рис. 2. Сохраняемость образцов ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и ОО при температурах (20–22)°С

Из данных рисунка 2 следует, что наилучшая сохраняемость вирусов ЧМЖЖ и ОО при температурах (20–22)°С в течение 7 сут наблюдаются в образцах вакцины № 1 и № 2 с защитной средой пептон 3–5%, лактоза 2–3 %, где степень снижения вирусов составила от 0,33 до 0,42 / 0,25 lg ТЦД₅₀/см³ соответственно. В образцах вакцины № 3, № 4 с защитной средой пептон 3–5 % с сахарозой 2–3 % и № 5 3 % ГЛА с сахарозой и 0,5 % желатином, титр вирусов снижался от 0,83 до 1,00 / от 0,67 до 0,84 lg ТЦД₅₀/см³ соответственно. Наименьшей защитной возможностью обладали образ-

цы вакцины № 6 со стабилизирующей средой 3 % сахарозой с 3 % ГЛА и № 7 контрольный образец вакцины, где активность вирусов снижались до 1,92 / 1,58 lg ТЦД₅₀/см³ соответственно.

В последующих исследованиях определяли стабильность образцов ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и ОО при длительном хранении. С этой целью экземпляры вакцины были заложены на хранение сроком на 1, 3, 6, 9 и 12 мес при температурах 4°С и минус 20°С. Результаты проведенных исследований представлены на рисунке 3 (А, Б).



А – активность вируса ЧМЖЖ; Б – активность вируса ОО.

Рис. 3. Сохраняемость образцов ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и ОО при температуре 4°С

Данные рисунка 3 показывают, что потеря вирусов ЧМЖЖ и ОО при температуре хранения 4°C в течение 12 мес составила в пределах от 0,10 до 0,25 lg ТЦД₅₀/см³ для вируса ЧМЖЖ и от 0,06 до 0,16 lg ТЦД₅₀/см³ для вируса ОО.

Следует отметить, что при температуре хранения минус 20°C за срок наблюдения (12 мес) во всех исследуемых образцах ассоциированной вакцины снижение инфекционной активности не отмечено.

На основе полученных результатов исследований по определению эффективности стабилизирующих сред при лиофилизации и хранении ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и ОО установлено, что образцы ассоциированной вакцины, содержащие 3–5% пептона с 2–3% лактозой, обладают наибольшими защитными свойствами по сравнению с другими образцами вакцины.

Таким образом, исходя из анализа полученных результатов исследований, для лиофилизации и хранения ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и ОО выбрана защитная среда – пептон (3%) с лактозой (2%), так как разница между концентрациями стабилизирующих сред, использованных в образцах вакцины № 1 и № 2 не приводит к существенному снижению активности вирусов ЧМЖЖ и ОО ($P > 0.0001$).

Обсуждение результатов

Общепризнанным является факт, что залогом надежной стабильности сухих биопрепаратов является применение в технологии их приготовления эффективных защитных сред-стабилизаторов, предотвращающих повреждения микроорганизмов в процессе замораживания, обезвоживания и длительного хранения в высушенном состоянии [15].

В доступных литературных источниках представлены работы ученых ряда зарубежных стран, связанные с разработкой ассоциированных вакцин против ЧМЖЖ и ОО, где при лиофилизации и хранении данной вакцины во многом используют защитные среды, содержащие в своем составе лактозу, сахарозу, пептон, ГЛА, желатин

в разных процентных соотношениях. В частности ученые из Марокко F. Fakri, F. Ghzal, S. Daouam, и др. при приготовлении аналогичной вакцины в качестве стабилизирующей среды используют 4% пептона с 8% сахарозой и 2% глутаматом [1].

Индийские ученые S.S. Chaudhary, K.D. Pandey, R.P. Singh, и др. для лиофилизации ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и ОО в качестве защитной добавки используют 5% ГЛА с 10% сахарозой [4].

Российские ученые А. В. Константинов, С. К. Старов, В. И. Диев и др., в аналогичных исследованиях для получения лиофилизированных ассоциированных вирусвакцин против ОО, оспы коз (ОК) и ЧМЖЖ, ОО и ЧМЖЖ, а также ОК и ЧМЖЖ применяют 5% сахарозы, 1% желатозы и 3% ГЛА [5].

Также Балышев В.М., и др. в своих исследованиях по разработке ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и ОО в качестве защитной среды используют 4% лактозу с 20% пептоном либо 10% сахарозу с 2% желатином [2].

Сложный состав и высокое процентное содержание стабилизирующих сред в вышеперечисленных исследованиях возможно связано с длительностью хранения препаратов в различных температурных условиях, однако при производстве вакцины для массового использования увеличиваются затраты на стабилизирующие среды, что отражается на высокой стоимости готового препарата.

Приготовленный нами экспериментальный образец ассоциированной вакцины в качестве защитной среды содержит в своем составе лактоза-пептонный стабилизатор в конечной концентрации 3% и 2% соответственно. При этом лиофилизированный образец ассоциированной вакцины при хранении обладает сравнительно хорошей устойчивостью и активность вирусов не претерпевает значительных изменений при температуре, рекомендуемой для хранения вакцины в условиях хозяйства (4 ± 1)°C в течение 12 мес.

Выводы

На основе анализа полученных результатов исследования по сохранению вирусов ЧМЖЖ и ОО в составе ассоциированной вакцины, подобрано комплексная защитная среда, состоящая из пептона с лактозой в концентрации 3%–2% соответственно, которая обладает лучшим стабилизирующим эффектом в процессе лиофилизации и последующего хранения.

Список литературы

1. *F. Fakri., F. Ghzal., S. Daouat., A. Elarkam., L. Douieb., [et al.]* Development and field application of a new combined vaccine against Peste des Petits Ruminants and Sheep Pox // *Trials in Vaccinology.* – 2015. – Vol. 4. – P. 33–37.
2. *Балышев В. М., Парилов С. В., Калантаенко Ю. Ф., Горшкова Т. Ф., Жуков А. Н., Гарькин А. В., Анисимова Л. И.* Разработка ассоциированной вакцины против оспы овец и чумы мелких жвачных животных // *Ветеринария.* – 2010. – №9. – С. 21–24.
3. *G. Berhel, C. Minet, C. Le Goff, T. Barrett², A. Ngangnou³* [et al.] Development of a Dual Recombinant Vaccine To Protect Small Ruminants against Peste-des-Petits-Ruminants Virus and Capripoxvirus Infections // *Journal, of Virology.* – 2003. – Vol. 77. – P. 1571–1577.
4. *S. S. Chaudhary., K. D. Pandey., R. P. Singh., [et al.]* A Vero cell derived combined vaccine against sheep pox and peste des petits ruminants for sheep // *Vaccine.* – 2009. – Vol. 27. – P. 2548–2553.
5. *Константинов А. В., Старов С. К., Диев В. И., Мороз Н. В., Курненко Е. В., Басова Д. К., Кононов А. В., Федосеев К. Ю., Мельников В. П.* Антигенная и протективная активность ассоциированной вирусвакцины против оспы овец, оспы коз и чумы мелких жвачных // *Ветеринария сегодня.* – 2017. – №3. – С. 28–32.
6. Пат. 2325185 С1 Российская Федерация, МПК: А61К 39/275 (2006.01), А61Р 31/12 (2006.01). Способ получения сухой культуральной вирус-вакцины против чумы мелких жвачных животных / Калантаенко Ю.Ф., Балышев В.М., Курченко Ф.П., Жестерев В.И., Луницын А.В., Горшкова Т.Ф., Михалкин И.П.; заявитель и патентообладатель Владимир. ГНУ «ВНИИВВи М»; заявл. 24.01.07; опубл. 27.05.08, Бюл. № 15.
7. *Asim M., Rashid A., Chaudhary A.H.,* Effect of various stabilizers on titre of lyophilized live attenuated peste des petits ruminants (PPR) vaccine // *Pakistan Veterinary Journal.* – 2008. – 28. – P. 203–204.
8. *Н.Р. Зарылдыкович., К.Ж. Каукарбаевич., К.Е. Дмитриевна., Б.М. Хайруллин* Стабилизация антигена вируса чумы мелких жвачных животных // *Вестник КНАУ.* – 2016. – № 1 (37). С.142–147.
9. *Бабак В.А., Пунтус И.А., Гусев А.А., Згировская А.А., Ломако Ю.В.* Конструирование вакцины живой лиофилизированной для специфической профилактики оспы овец // *Сборник научных трудов: Сельское хозяйство – проблемы и перспективы / г. Гродно.* – 2013. – 304, [1] с. : ил. – 100 экз. – ISBN 978-985-537-026-1.
10. Пат. 2403064 С1 Российская Федерация, МПК: А61К 39/275 (2006.01), А61Р 31/12 (2006.01). Вирусвакцина ассоциированная против оспы овец и оспы коз культуральная сухая / Иванович Д.В., Михайлович З.В., Владимировна М.Н., Сергеевна К.М., Константиновна Б.Д., Владимирович Б.В., Александровна Б.Г., Владимирович К.А., Викторович Г.А.; заявитель и патентообладатель Владимир. ФГУ «ВНИИЗЖ»; заявл. 21.04.09; опубл. 10.11.10, Бюл. № 31
11. *Zeidan S.M¹., Namaa A. Mohamed², Hanan M.S. E. I. Zawahry³, Saad M. A. A⁴* [et al.] Preliminary study for preparation of combined attenuated vaccine against sheeppox and PPR viruses // *Int. Journal of Advanced Research.* – 2016. – Vol. 4. – P. 212–219.
12. *Аманова Ж.Т., Таранов Д.С., Ершебулов З.Д., Жугунисов К.Д., Баракбаев К.Б., Булатов Е.А., Хайруллин Б.М., Сансызбай А.Р.* Оценка эффективности ассоциированной вакцины против чумы мелких жвачных животных и оспы овец // *ветеринария.* – 2016. – №9. – С. 21–24.

13. *Reed I.J., Muench H.A.* A simple method of estimating fifty per cent endpoints // *Am. J. Hyg.* – 1938. – 27. – P.493 – 497.

14. Изучение интерференции между вирусами оспы овец и чумы мелких жвачных животных в культуре клеток животных / Таранов Д.С., Аманова Ж.Т., Баракбаев К.Б., Ершебулов З.Д., Кайсенов Д.Н., Баракбаев К.Б. // Актуальные проблемы и перспективы биологической безопасности: материалы. науч.-прак. конф. мо-

лодых ученых, посвящ. дню образования «НИИПББ». – пгт. Гвардейский, 2012. – С. 180–183.

15. *Кожамкулов Е.М.¹, Табынов К.К.¹, Рыскельдинова Ш.Ж.¹, Бейшеналиева С.Т.¹* Подбор оптимальных стабилизирующих сред для лиофилизации и хранения вируса гриппа холодоадаптированного штамма А/НК/ОТАР/6:2/2010(Н3N8) // *Известия вузов (Кыргызстан)*. – 2014. – № 5. – С. 139–142.