

FTAMP: 68.41.53

Ә. ӘБУТӘЛШІ¹, Б.Д. АЙТЖАНОВ¹, С.Ғ. ҚАНАТБАЕВ¹, С.Т. ДӘУҒАЛИЕВА^{2*},
Б.Б. ҚАЙЫПБАЙ³, А.Ә. ӘБУБЕКОВА⁴, А.И. БАЙМАН⁵, S. PELETTO⁶

¹Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты, Алматы, Қазақстан

²Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы, Алматы, Қазақстан

³Қазақстан Республикасы Ауыл шаруашылығы министрлігінің ветеринариялық бақылау және қадағалау комитетінің Қостанай облыстық аумақтық инспекциясы, Қостанай, Қазақстан

⁴С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық Университеті, Астана, Қазақстан

⁵Батыс Қазақстан инновациялық-технологиялық университеті, Орал, Қазақстан

⁶Пьемонт, Лигурия және Валле-д'Аоста жануарларының алдын алу эксперименттік институты, Болонья, Турин, Италия

*e-mail: saule.daugalieva@mail.ru

ҚАРАСАНҒА ҚАРСЫ ИММУНДЕЛГЕН ЖАНУАРЛАР АҒЗАСЫНДА ВАКЦИНАЦИЯДАН KEЙІНГІ ПАЙДА БОЛАТЫН ANТИДЕНЕЛЕР ДЕНГЕЙІ ЖӘНЕ ДИНАМИКАСЫ

doi: 10.53729/MV-AS.2023.03.06

Түйін

Мақалада қарасанға қарсы иммунделген жануарлар ағзасында вакцинациядан кейінгі пайда болатын антиденелер деңгейі және динамикасы туралы мәліметтер келтірілген. Антиденелердің ең жоғары титрі жануардың бір жақ санына қарасан вакцинасының екі есе мөлшері, яғни 4 мл, екінші жағына «Имунофарм» иммуномодуляторы 5 мл енгізген жануарларда байқалды. Бұл жағдайды, қарасан ауруының алдын алу үшін вакцина қолданғанда, антидене титрінің мейлінше жоғары болып және ұзағырақ сақталынуын қамтамасыз ету үшін пайдалануға болады.

Жүргізілген зерттеулер ҚазҒЗВИ-да ойластырылған латекс-агглютинация реакциясы арқылы, қарасанға қарсы иммунделген жануарлардың қан сарысуындағы антиденелер деңгейін және динамикасын анықтауға болатынын көрсетті. Осы тәсілді пайдалана отырып, вакцинацияланған жануарлардағы иммунитет деңгейін және қолданылған вакцинаның сапасын да анықтауға болады.

Кілтті сөздер: қарасан, вакцина, антидене титрі, латекс-агглютинация реакциясы.

Қарасан (эмфизематозды карбункул) – жануарлардың әдетте жайылым кезеңінде пайда болатын, жіті өтетін, бұлшық еттерді басып көргенде сықырлайтын ерекшеленетін жұқпалы, энзоотиялық ауру. Қоздырушысы - *Clostridium chauvoei* - түзу, аздап иілген анаэробты таяқша, ұзындығы 2-8 мкм. Ауру негізінен ет тіндерінің крепитациялық некрозы және оған жақын тері астындағы тіндердің серозды-геморрагиялық инфильтрациясы түріндегі ауыр, ошақты зақымдану түрінде өтеді. Қарасанмен негізінен 4 жасқа дейінгі ірі қара және ұсақ мүйізді мал ауырады [1,2].

Қарасанға стационарлық сипат тән, ол ауру қоздырушысының сыртқы ортада (топырақ, су) ұзақ уақыт сақталуына байланысты [3,4,5]. Қарасан әлемнің көптеген елдерінде кездеседі [6,7,8,9]. ТМД елдерінде қарасан барлық аймақтарда тіркелген [10,11].

Қазақстандағы жануарлардың жұқпалы патологиясында індет ошақтарының саны бойынша қарасан ауруы бруцеллез бен құтырудан кейінгі орынды алады. 2010-2020 жылдар аралығында Қазақстан Республикасы аумағының 71,4% құрайтын 10 облысы территориясы қарасан ауруынан қолайсыз, ал қалған 4 облыс аумағы (Қызылорда, Солтүстік Қазақстан, Маңғыстау, Түркістан) бұл індеттен таза болып есептелінді [12].

Қарасанның алдын алу және онымен күрес шараларының ең басты бағыттарының бірі осы індетке қарсы вакцина қолдану болып табылады.

Қарасанға қарсы иммундеу үшін ең алғашқы формоль вакцинаны 1925 жылы Лекленч және Валли ұсынды. КСРО-да формоль вакцинаны 1929 жылы С.Н. Муромцев әзірледі.

1959 жылы Ф.И. Қаган және А.И. Колесева қарасанға қарсы концентрацияланған алюминий гидрототықты вакцинасын шығарды [13].

Төрт жастан асқан жануарларда иммунизирлеуші субинфекция арқасында қарасанға қарсы иммунитеттің пайда болуы, ғалымдардың осы ауруға қарсы вакцина жасап шығаруына және оны практикада қолдануға негіз болды [14]. Бұрынғы КСРО және қазіргі ТМД елдерінде жануарлар қарасанының спецификалық профилактикасы ондаған жылдар бойы «ірі қара ІҚ және қойдың қарасанына қарсы инактивтелген, концентрацияланған алюминий гидрототықты вакцинасын» қолдану арқылы жүргізіліп келеді. Бұл вакцинамен жануарларды егу, оларды жайылымға шығарардан 14 күн бұрын жүзеге асуы тиіс. Жануарлардың жайылымда болу мерзімі 6 айдан асатын өңірлерде, бұл ауруға бейім мал басы арасына 6 ай салып жылына екі рет иммунделуі қажет [15].

Қазіргі кезде ҚР ірі қара мал қарасанының алдын алу мақсатында әр түрлі өндірушілер шығарған (Армавир, Ставрополь биофабрикалары, «Антиген» ҒӨО және т.б.) вакциналар пайдаланылып келеді. Осы вакциналарды ҚР аумағында қолдану тиімділігін талдауға арналған кейбір зерттеулер көрсеткендей, жекелеген, вакцина қолданған шаруашылықтарда қарасан індетінің орын алған жағдайлары кездеседі. Басқа аса қауіпті саналатын індеттерге қарсы вакцина пайдалану тәжірибесінде, вакцинамен егілген жануарларды белгілі бір уақыттан кейін серологиялық тәсілдермен зерттеп, олардың қансарысуындағы поствакцинальдық антидене титрін анықтау арқылы иммунделген жануарлардағы пайда болған иммунитет деңгейін анықтайды.

Алайда, қарасан ауруына қарсы қолданылатын вакциналар нұсқаулықтарында ұқсас жағдай, яғни поствакцинальдық антиденелер титрін зерттеу арқылы иммунитеттің қаншалықты дәрежеде пайда болғанын анықтау қарастырылмаған. Мұның басты бір себебі қарасан індетін серологиялық балау әдістерінің ойластырылмағандығы.

Ертеректе жарияланған жекелеген зерттеулер [16,17,18] қарасанға қарсы егілген жануарлардағы антиденені серологиялық реакциялар қою арқылы анықтау әрекеттері зертхана аясында ғана қалып, ресми диагностикалық тәсіл ретінде қабылданған жоқ.

Осыны ескере отырып, ҚазҒЗВИ ғалымдары 2021-2023 жылдары қарасанның серологиялық диагностикасы үшін латекс агглютинациясы реакциясын қоюға арналған антиген ойластырып және осы реакцияны қою әдісі ұсынылды. Жүргізілген зерттеулер аталған антигеннің және оны пайдаланып латекс реакциясын қоюдың қарасан қоздырушысына қарсы жануарлар ағзасында пайда болған антиденелерді анықтау үшін жарамды және телімді тәсіл екендігін дәлелдеп, оған өнертапқыштық ретінде патент рәсімделінді [19].

Жоғарыда айтылғандарды ескере отырып, осы жұмыстың мақсаты ретінде қарасанға қарсы иммунделген жануарлар ағзасындағы вакцинациядан кейінгі пайда болатын антиденелер деңгейі мен динамикасын сараптауға арнадық.

Материалдар мен әдістер

Зерттеу материалдары ретінде республиканың әр өңірінен әкелінген қарасанға қарсы иммунделген 167 қан сынамасы және ҚазҒЗВИ-да *Clostridium chauvoei* қоздырушысын ультрадыбыс әсерімен дезинтеграциядан өткізіп, латекс бөлшектеріне сенсбилизацияланған қарасан антигені пайдаланылды. Имунизацияланған жануарлардың қан сарысуындағы вакцинациядан кейінгі пайда болатын антиденелер мөлшерін және динамикасын анықтау үшін аталған антигенді пайдаланып латекс агглютинациясы зерттелінетін қан сарысуы 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320 қатынаста сұйылтылды. Реакцияның бақылауы ретінде қарасан қоздырушысымен гипериммунизация арқылы алынған оң нәтижелі қан сарысуы және сау қояндардан алынған теріс нәтижелі қан сарысулары қолданылды.

Нәтижелер және оларды талдау

Жұмысымыздың алғашқы кезеңінде, осы жоғарыда аталған тәсілді пайдалана отырып Республиканың әртүрлі аймақтарында (солтүстік, оңтүстік, шығыс, батыс және орталық) қарасанға қарсы иммунизацияланған жануарлардың қан сарысуындағы спецификалық антидене деңгейін анықтау мақсатында зерттеулер жүргіздік. Барлық облыстардан иммунизацияланған жануарлардан алынған 167 қан сынамасы жеткізіліп, оларды аталған антигенді пайдаланып, латекс агглютинациясы реакциясында (ЛАР) зерттелді 1-кесте).

Кесте 1 – Қарасанға қарсы егілген жануарлардың қан сарысуын ЛАР-да зерттеу нәтижелері

№	Аймақ	Сынама алынған облыс атауы	Пайдаланылған вакцина атауы	Вакцинациядан кейінгі зерттеу уақыты (күндер)	Саны			Антидененің орташа титрі
					Сынама	Оң Нәтиже /%	Теріс Нәтиже /%	
1	Солтүстік	Қостанай	Конц. АГТ вакцина, Ставрополь биофабрикасы	150	30	23/76,6	7/23,3	1:11
2	Оңтүстік	Алматы	Армавир биофабрикасы	35	47	47/100	0/0	1:37
3	Шығыс	Шығыс-Қазақстан	Конц. АГТ вакцина, Ставрополь биофабрикасы	23	30	30/100	0/0	1:45
4	Батыс	Батыс-Қазақстан	Конц. АГТ вакцина, Ставрополь биофабрикасы	30	30	30/100	0/0	1:34
5	Орталық	Қарағанды	Конц. АГТ вакцина, Ставрополь биофабрикасы	30	30	30/100	0/0	1:34

*Ескерту: Конц. АГТ – концентрацияланған, алюминий гидрототықты (вакцина), б/ф – биофабрика

Бірінші кестеден көрінгендей, вакцинациядан кейін 23 күннен кейін жануарлардың ЛАР-дағы антидене титрлері 1:45; 30 және 35 күннен кейін, тиісінше 1:34 және 1:37; Вакцинациядан кейін 150 күннен кейін поствакциналдық антиденелер жануарлардың 76,6% анықталды, олардың орташа титрлері 1:11 тең болды. Иммунизацияланған жануарларда вакцинациядан кейінгі антиденелердің титрлерінде олардың орналасу аймағына және вакцина түріне байланысты айтарлықтай айырмашылық болған жоқ.

Осылайша, жүргізілген зерттеулер, институтта жасалынған ЛАР -ын қоюға арналған антигенді пайдалану қарасанға қарсы вакцинацияланған жануарлардың қан сарысуындағы антиденелер деңгейін анықтау мүмкіндігін көрсетті. Сонымен қатар, вакцинациядан кейін 150 күннен кейін поствакциналдық антиденелер жануарлардың тек 76,6%, төмен дәрежедегі титрде сақталғаны белгілі болды.

Жұмысымыздың келесі кезеңінде, Алматы облысы, Талғар ауданы «Сырымбет» ШҚ қарасанға қарсы әр түрлі схемамен егілген ІҚ ағзасындағы вакцинациядан кейінгі антидене титрінің 6 ай арасындағы динамикасын зерттедік.

Тәжірибеге әр қайсысы 10 жануардан тұратын 1- 3 жастағы 4 топ ірі қара малы алынды. 1 топ жануарларына тек қана қарасан вакцинасы пайдалану нұсқаулығына сәйкес, 2 мл мөлшерінде санның бұлшық ет ішіне енгізілді; 2 топ жануарларының бір жақ санына 2 мл қарасан вакцинасы, ал екінші жақ санының бұлшық етіне ҚазҰЗВИ - да шығарылған «Иммунофарм» иммуномодуляторы [20] 5 мл мөлшерінде егілді; 3 топ жануарларына - бір жақ санына қарасан вакцинасының екі есе мөлшері, яғни 4 мл, екінші жағына «Иммунофарм» иммуномодуляторы 5 мл; 4 топ жануарларына - 2 мл қарасан вакцинасы

және 5 мл «Иммунофарм» иммуномодуляторы араластырылып сан бұлшық етіне бірге енгізілді. Зерттеу нәтижелері 2 кестеде берілді.

Кесте 2- Қарасанға қарсы иммунделген ІҚМ поствакциналдық антиденелер динамикасы

№	Жануарлардың ның жеке №	Егілгеннен кейінгі зерттеу мерзімі (күндер) және антидене титрі			
		30	90	150	180
1 топ жануарлары					
1	00331387	1:40	1:30	1:20	1:20
2	58188906	1:40	1:40	1:20	1:10
3	96760014	1:30	1:30	1:20	1:10
4	60237761	1:30	1:30	1:10	-
5	60237760	1:40	1:40	1:20	1:10
6	№ жоқ, ақ сиыр	1:20	1:20	1:10	-
7	60636700	1:40	1:30	1:20	1:10
8	62056139	1:20	1:20	1:10	-
9	59685365	1:40	1:30	1:20	1:10
10	60237768	1:30	1:20	1:10	1:10
Титрдің орташа көрсеткіші		1:33,0	1:29,0	1:16,0	1:8,0
2 топ жануарлары					
11	60237773	1:40	1:30	1:30	1:20
12	60636701	1:30	1:30	1:20	1:10
13	58188905	1:40	1:30	1:20	1:20
14	59685369	1:30	1:30	1:20	1:10
15	58187384	1:30	1:20	1:20	-
16	60636697	1:30	1:20	1:10	-
17	60636704	1:30	1:30	1:20	1:10
18	60636692	1:60	1:40	1:30	1:20
19	62056140	1:40	1:40	1:20	1:10
20	60636695	1:60	1:40	1:20	1:20
Титрдің орташа көрсеткіші		1:39,0	1:31,0	1:21,0	1:12,0
3 топ жануарлары					
21	61278185	1:40	1:40	1:30	1:30
22	61278184	1:60	1:40	1:30	1:30
23	62056143	1:40	1:40	1:30	1:20
24	60006421	1:40	1:30	1:20	1:10
25	59185999	1:20	1:20	1:10	-
26	60636698	1:60	1:60	1:40	1:20
27	6000634	1:30	1:30	1:20	1:10
28	59185991	1:40	1:40	1:30	1:20
29	60237753	1:80	1:80	1:60	1:30
30	60006408	1:40	1:40	1:30	1:20
Титрдің орташа көрсеткіші		1:45,0	1:42,0	1:30,0	1:19,0
4 топ жануарлары					
31	61278205	1:40	1:40	1:20	1:20
32	61278202	1:40	1:30	1:20	1:20
33	62056164	1:30	1:30	1:20	1:10
34	61278192	1:40	1:40	1:20	1:10
35	61286031	1:20	1:20	1:10	-
36	61285954	1:30	1:30	1:20	1:10
37	61278194	1:30	1:30	1:10	-
38	61285945	1:40	1:30	1:20	1:10
39	61278190	1:30	1:30	1:10	1:10
40	61278206	1:30	1:20	1:20	1:10
Титрдің орташа көрсеткіші		1:33,0	1:30,0	1:16,0	1:10

Екінші кестеден көрінгендей, қарасан вакцинасы пайдалану нұсқаулығына сәйкес, 2 мл мөлшерінде бұлшық ет ішіне енгізілген 1 топ жануарларының вакцинациядан 30 күннен кейінгі орташа титрі 1:33 ке тең болды. Бұдан кейінгі зерттеу мерзімдерінде (90, 150 және 180 күндер) қарасанға қарсы иммунделген жануарлардағы антиденелердің орташа титрі, сәйкесінше - 1:29, 1:16 және 1:8 шамасын құрады. Айта кететін жайт, вакцинациядан соң 180 күннен кейінгі зерттеулерде 3 жануарларда (30%) антидене мүлде анықталмады.

Антиденелер титрінің шамамен осыған сәйкес динамикасы, қарасан вакцинасы «Иммунофарм» иммуномодуляторымен араластырылып бірге еккен 4 топ жануарларында да байқалды, бірақ бұл топтағы жануарлардың 180 күннен кейінгі зерттеулерде теріс нәтиже бергендер саны 2-еу (яғни, 20%) болды.

Бір жағына қарасан вакцинасы, ал екінші жағына «Иммунофарм» иммуномодуляторын еккен 2 және 3 топ жануарларында 30 күннен кейінгі антидененің орташа титрі жоғары, сәйкесінше, 1:39,0 және 1:45,0-ті құрады. Бірінші және 4 топтағы жануарлардағы антидене титрімен салыстырғанда, 2 және 3 топтағы жануарларда жоғары титрдегі антидене мөлшері 150 және 180 күнге дейін сақталды, және соңғы мерзімдегі зерттеулерде ағзасында антидене анықталмаған жануарлар саны да осы топтарда өте аз болды (сәйкесінше 20 және 10%).

Сонымен бұл тәжірибеден, жануарларға бір мезгілде, ағзаның әр жеріне қарасан вакцинасы және «Иммунофарм» иммуномодуляторын қоса еккен кезде пайда болатын антидене титрі неғұрлым жоғары және ұзақ мерзімге дейін сақталатыны белгілі болды.

Антиденелердің ең жоғары титрі жануардың бір жақ санына қарасан вакцинасының екі есе мөлшері, яғни 4 мл, екінші жағына «Иммунофарм» иммуномодуляторы 5 мл енгізген жануарларда байқалды. Бұл жағдайды, Иммунофарм иммуномодуляторының екі еселенген мөлшердегі қарасан вакцинасының реактогенділігін бәсеңдетіп, иммундық жүйе жауабын күшейтуге ықпал еткендігімен түсіндіруге болады. Аталған құбылыстың дәлелі біздің бұдан бұрынғы жүргізген зерттеулерімізде көрсетілген болатын [21].

Қорытынды

Республиканың әртүрлі аймақтарында қарасанға қарсы иммунизацияланған жануарлардың қан сарысуындағы спецификалық антидене деңгейі анықталды. Вакцинациядан 23 күннен кейін жануарлардың ЛАР-дағы антидене титрлері 1:45, 35 күннен кейін 1:37, 150 күннен кейін 1:11 тең болды. Соңғы зерттеу мерзімінде поствакциналдык антиденелер жануарлардың тек 76,6% ғана анықталды. Зерттелген жануарларда вакцинациядан кейінгі антиденелер титрлерінде олардың орналасқан аймағына және вакцина түріне байланысты айтарлықтай айырмашылық болған жоқ.

Бұдан кейінгі зерттеулерде, қарасанға қарсы әр түрлі схемамен егілген ІҚМ ағзасындағы вакцинациядан кейінгі антидене титрінің 6 ай арасындағы динамикасы сарапталды.

Қарасан вакцинасымен нұсқаулығына сәйкес егілген жануарларда вакцинациядан 30 күннен кейін поствакциналдык антиденелердің орташа титрі 1:33 ке тең болды. Бұдан кейінгі зерттеу мерзімдерінде (90, 150 және 180 күндер) орташа титр, сәйкесінше - 1:29, 1:16 және 1:8 шамасын құрады. Вакцинациядан 180 күннен кейінгі зерттеулерде 30% жануарларда антидене мүлде анықталған жоқ, яғни бұл жануарлардағы иммунитет деңгейі төмен болғанын көрсетеді.

Жануарларға бір мезгілде, ағзаның әр жеріне қарасан вакцинасы және «Иммунофарм» иммуномодуляторын қоса еккен кезде пайда болатын антидене титрі неғұрлым жоғары және ұзақ мерзімге дейін сақталатыны белгілі болды.

Антиденелердің ең жоғары титрі бір жақ санына қарасан вакцинасының екі есе мөлшері, екінші жағына «Иммунофарм» иммуномодуляторын еккен жануарларда байқалды. Бұл жағдайды, қарасан ауруының алдын алу үшін вакцина қолданғанда, антидене титрінің мейлінше жоғары болып және ұзағырақ сақталуын қамтамасыз ету үшін пайдалануға болады.

Жүргізілген зерттеулер ҚазҒЗВИ-да ойластырылған латекс-аггютинация реакциясы арқылы, қарасанға қарсы имунделген жануарлардың қан сарысуындағы антиденелер деңгейін және динамикасын анықтауға болатынын көрсетті. Яғни, осы тәсілді вакцинацияланған жануарлардағы иммунитет деңгейін және қолданылған вакцинаның сапасын анықтауға және сонымен қатар спецификалық профилактика шараларын талдау үшін де пайдалануға болады.

Әдебиеттер:

- 1 Сайдулдин Т. *Индеттану және жануарлардың жұқпалы аурулары*. Алматы. 2009. 252 бет. (https://www.studmed.ru/sayduldin-t-ndettanu-zh-ne-zhanuarlardy-zh-paly-aurulary-epidemiologiya-i-infekcionnye-bolezni-zhivotnyh_db10a46ee7a.html).
- 2 *Эпизоотология с микробиологией: Учебник* /Под ред. В. А. Кузьмина, А. В. Святковского. СПб., 2017. 432 с. (<https://e.lanbook.com/book/145838>).
- 3 Rychener L., Albon S.I., Djordjevic S.P., Chowdhury P.R., Ziech R.E., de Vargas A.C., et al. *Clostridium chauvoei*, an evolutionary dead-end pathogen. *Front. Microbiol.*, 2017, 8:1054. (doi: 10.3389/fmicb.2017.01054).
- 4 Ziech R.E., Gressler L.T., Frey J., de Vargas A.C. Blackleg in cattle: current understanding and future research needs. *Ciência Rural*, 2018, 48:e20170939. (doi: 10.1590/0103-8478cr20170939).
- 5 Даугалиева С.Т., Даугалиева А.Т., Ашанин А.И., Ерғали Б.Б. Влияние рациона на продуктивность бычков казахской белоголовой породы и концентрацию архей в микробиоме желудочно-кишечного тракта. *Микробиология және вирусология*, 2023, 40:221-239. (doi:10.53729/MV-AS.2023.01.15).
- 6 Abreu C.C., Blanchard P.C., Adaska J.M., Moeller R.B., Anderson M., Navarro M.A., et al. Pathology of blackleg in cattle in California, *J. Vet. Diagnostic. Investig.*, 2018, 30:894–901. (doi: 10.1177/1040638718808567).
- 7 Gacem F., Madadi M.A., Khecha N., Bakour R. Study of vaccinal properties of *Clostridium chauvoei* strains isolated during a blackleg outbreak in cattle in Algeria. *Kafkas University. Vet. Fak. Derg.*, 2015, 21:825–9. (doi: 10.9775/kvfd.2015.13616).
- 8 Heckler R.F., de Lemos R.A., Gomes D.C., Dutra I.S., Silva O.S., Lobato C.F., et al. Blackleg in cattle in the state Mato Grosso do Sul, Brazil: 59 cases. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 2018, 38(01) (doi: 10.1590/1678-5150-pvb-4964).
- 9 Hussain R., Ehtisham-Ul-haque S., Khan I., Jabeen G., Siddique A.B., Ghaffar A., et al. Clinico-hematological, patho-anatomical and molecular based investigation of blackleg disease in Cholistani cattle Pakistan. *J. Agric. Sci.*, 2021, 58:1017–25. (doi: 10.21162/PAKJAS/21.1240).
- 10 Капустин А.В., Алипер Т.И. *Эпизоотология и профилактика клостридиозов крупного рогатого скота*. Мат. Межд. вет. Конгресса - Единый мир – единое здоровье. Уфа. 2017. С. 106-108. (<https://www.dissercat.com/content/etiologicheskaya-struktura-i-spetsificheskaya-profilaktika-klostridiozov-krupnogo-rogatogo>).
- 11 Глотова, Т.И. Возбудители и возрастная восприимчивость крупного рогатого скота к клостридиозам. *Сибирский вестник с.-х.науки*, 2017, Т.47. №1. С.90-96. (<https://www.dissercat.com/content/etiologicheskaya-struktura-i-spetsificheskaya-profilaktika-klostridiozov-krupnogo-rogatogo>).
- 12 Aspen Abutalip, Vladislav Laskavy, Batyrbek Aitzhanov, Gulnara Baikadamova, Aiganym Abubekova. Epizootic situation of animal emcar (blackleg) on the territory of the republic of Kazakhstan for 2010-2020. *Вестник науки Казахского агротехнического университета им.С.Сейфуллина*, 2022, 3:(114). Ч.2. Р. 167-180. (<https://kazatu.edu.kz/pages/nauka/vestnik-nauki-kazahskogo-agrotehniceskogo-universiteta-im-s-sejfullina>).
- 13 Капустин А.В. Разработка вакцины против эмфизематозного карбункула крупного рогатого скота. *Russian Journal of Agricultural and So-cio-Economic Sciences*, 2016, 5(53). С. 97-102. (<https://rjoas.com>).
- 14 Капустин А.В. Эффективность вакцины «Клостбовак-8» против клостридиоза крупного рогатого скота, вызванного различными видами *Clostridium spp.* *Ветеринария, зоотехника и биотехнология*, 2016, 9:6-11. (<https://www.litres.ru/serii-knig/zhurnal-veterinariya-zootehniya-i-biotehnologiya/zhurnal-veterinariya-zootehniya-i-biotehnologiya-2016>).

15 Бессарабов Б.Ф., Воронин Е.С. и др. Инфекционные болезни животных /Под ред. А.А. Сидорчука. М., Колос, 2007. 671 с. (https://www.studmed.ru/bessarabov-bf-vashutin-aa-voronin-es-i-dr-infekcionnye-bolezni-zhivotnyh_30a18b3684f.html).

16 Сатин Н.К., Смирнов А.П. Изучение поствакцинальных реакций у крупного рогатого скота при иммунизации вакцинами эмфизематозного карбункула крупного рогатого скота. *Научн. труды Саратовского с/х ин-та*, 1973, вып.17, ч.2:12-18. (<https://www.dissercat.com/content/infekcionnye-bolezni-nutritii-v-zverovodcheskikh-khozyaistvakh-severnogo-kavkaza>).

17 Одаренко К.И., Грязин В.И. Реакция агглютинации (РА) при эмфизематозном карбункуле. *Тр. КазНИВИ*, 1976, т.16:180-184. (<https://kaz-nivi.kz>).

18 Айтжанов Б.Д. Эффективность метода иммунофлуоресценции при выявлении возбудителей и специфических антител эмфизематозного карбункула и злокачественного отека крупного рогатого скота и овец. Дисс. канд. вет. Наук. Алматы, 1986. 142 с. (<https://library.tou.edu.kz/fulltext/buuk/b636.docx>).

19 Абуталип А., Айтжанов. Б.Д., Касенов М.М., Мырзалиев А., Тусупканулы О. *Способ получения латексного диагностикума для постановки реакции латекс-агглютинации*. Заявка на выдачу патента на полезную модель. №2023/0087.2. от 30.01.2023 г. (https://journal.microbe.ru/jour/article/view/1416?locale=ru_RU).

20 Регистрационное удостоверение на иммуномодулятор «Имунофарм» № РК-ВП-1-35-35 от 26.03.2018 года. (https://www.gov.kz/uploads/2023/2/22/61d73813a47434817a49357fee70e992_original.5233396.pdf).

21 Горелов Ю.М., Ласковый В.Н., Султанов А.А., Сущих В.Ю., А. Абуталип и др. *Способ повышения иммуногенности вакцин против инфекционной инфекции сибирской язвы и эмфизематозного карбункула (Эмкар)*. ФГБНУ «Саратовский НИВИ»; ТОО «КазНИВИ». № 201200605. Заявл. 18.05.12. Оpubл. 30.12.16. (<https://kzpatents.com>).

А. АБУТАЛИП¹, Б.Д. АЙТЖАНОВ¹, С.Г. КАНАТБАЕВ¹, С.Т. ДАУГАЛИЕВА^{2*},
Б.Б. КАЙЫПБАЙ³, А.А. АБУБЕКОВА⁴, А.И. БАЙМАН⁵, S. PELETTO⁶

¹Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт, Алматы, Казахстан

²Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии, Алматы, Казахстан

³Костанайская областная территориальная инспекция Комитета ветеринарного контроля и надзора Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан, Қостанай, Казахстан

⁴Казахский агротехнический университет имени Сакена Сейфуллина, Астана, Казахстан

⁵Западно-Казахстанский инновационно-технологический университет, Уралск, Казахстан

⁶Экспериментальный институт зоофилактики Пьемонта, Лигурии и Валле д'Аоста, via Bologna, Турин, Италия

*e-mail: saule.daugalieva@mail.ru

ИЗУЧЕНИЕ УРОВНЯ И ДИНАМИКИ АНТИТЕЛ, ОБРАЗУЮЩИХСЯ В ОРГАНИЗМЕ ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ЭМКРА

Аннотация

В статье приводятся данные об уровне и динамике антител, образующихся после вакцинации в организме животных, иммунизированных против эмкара. Самый высокий титр антител наблюдался у животных, которым вводили вдвое больше вакцины «Имунофарм» с одной стороны бедра животного, т.е. 4 мл, а с другой - 5 мл иммуномодулятора "Имунофарм". Это состояние можно использовать для обеспечения максимально высокого титра антител и его сохранения на высоком уровне дольше при использовании вакцины против болезни эмкара.

Проведенные исследования показали, что с помощью реакции латекс-агглютинации, разработанной в КазНИВИ, можно определить уровень и динамику антител в сыворотке крови животных, иммунизированных против эмкара. Используя этот метод, можно также определить уровень иммунитета и качество используемой вакцины у вакцинированных животных.

Ключевые слова: эмкар, вакцина, титр антител, реакция латекс-агглютинации.

IRSTI: 68.41.53

A. ABUTALIP¹, B.D. AITZHANOV¹, S.G. KANATBAYEV¹,
S.T. DAUGALIYEVA^{2*}, B.B. KAIYPBAY³, A.A. ABUBEKOVA⁴, A.I. BAIMAN⁵,
S. PELETTO⁶

¹Kazakh Research Veterinary Institute, Almaty, Kazakhstan

²Research and Production Center for Microbiology and Virology, Almaty, Kazakhstan

³Kostanay Regional Territorial Inspectorate of the Committee for Veterinary Control and Supervision of the Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan, Kostanay, Kazakhstan

⁴Kazakh Agrotechnical University named after Saken Seifullin, Astana, Kazakhstan

⁵West Kazakhstan Innovation and Technology University, Uralsk, Kazakhstan

⁶Experimental Institute for Animal Prevention of Piedmont, Liguria and Valle d'Aosta, via Bologna, Turin, Italy

*e-mail: saule.daugalieva@mail.ru

STUDYING THE LEVEL AND DYNAMICS OF ANTIBODIES PRODUCED IN ORGANISM OF ANIMALS AFTER VACCINATION AGAINST EMCAR

doi: 10.53729/MV-AS.2023.03.06

Abstract

The article provides data on the level and dynamics of antibodies formed after vaccination in the body of animals immunized against blackleg. The highest antibody titer was observed in animals that were injected with twice as much of the Immunopharm vaccine on one side of the animal, i.e. 4 ml, and on the other-5 ml of the immunomodulator Immunopharm. This condition can be used to ensure that the antibody titer remains as high as possible and lasts longer when using a vaccine to prevent blackleg disease.

The conducted studies have shown that using the latex-agglutination reaction developed at Kaznivi, it is possible to determine the levels and dynamics of antibodies in the blood serum of animals immunized against blackleg. Using this approach, it is also possible to determine the level of immunity and the quality of the vaccine used in vaccinated animals.

Keywords: Emkar, vaccine, antibody titer, latex agglutination reaction.

Emkar (Emphysematous carbuncle, Blackleg) is an infectious, enzootic disease of animals that usually occurs in the grazing period, is acute, not transmitted, but is characterized by inflammation of the muscles, which becomes hoarse when pressed. The causative agent - *Clostridium chauvoei* - is a straight, slightly curved anaerobic bacillus 2-8 microns long. The disease proceeds mainly in the form of a severe focal lesion in the form of crepitative necrosis of meat tissues and serous-hemorrhagic infiltration of adjacent subcutaneous tissues. Mostly cattle and small cattle under the age of 4 years are sick [1,2].

Emkar is characterized by a stationary nature, due to the long-term preservation of the pathogen in the external environment (soil, water) [3,4,5]. Emkar is found in many countries around the world [6,7,8,9]. In the CIS countries, Emkar is registered in all regions [10,11].

In terms of the number of epidemic foci in the infectious pathology of animals in Kazakhstan, Emkar disease ranks third after Brucellosis and Rabies. In the period from 2010 to 2020, the territory of 10 regions, which make up 71.4% of the territory of the Republic of Kazakhstan, was unfavorable from this disease, and the territories of the remaining 4 regions (Kyzylorda, North Kazakhstan, Mangystau, Turkestan) were considered clean from this infection [12].

One of the main directions of measures for the prevention and control of Emkar is the use of a vaccine against this disease.

The first vaccine was proposed by Leklench and Valli in 1925. In the USSR, the formal vaccine was developed by S.N. Muromtsev in 1929. In 1959, F.I. Kagan and A.I. Koleseva produced a concentrated aluminum hydrotechnical vaccine against Emkar [13].

The emergence of immunity to bacteria due to immunizing subinfection in animals older than four years served as the basis for the development of a vaccine against this disease by scientists and its application in practice [14]. In the countries of the former USSR and the modern CIS, specific prophylaxis has been carried out for several decades using "inactivated concentrated aluminum hydroxide vaccine against emphysematous carbuncle of cattle and sheep". Vaccination of animals with this vaccine must be carried out no later than 14 days before they are put out to pasture. In regions where the duration of the stay of animals on pastures exceeds 6 months, the most susceptible animals to this disease should be immunized twice a year with an interval of 6 months [15].

Currently, in order to prevent Emkar, cattle in the Republic of Kazakhstan, a vaccine from various manufacturers is used (Armavir, Stavropol biofactory, SPC "Antigen", etc.). Some studies devoted to the analysis of the effectiveness of the use of these vaccines in the territory of the Republic of Kazakhstan have shown that in individual farms using the vaccine, there are cases of Emkar. In the practice of using a vaccine against other, considered especially dangerous epidemics, the level of acquired immunity in immunized animals is detected by serological examination of vaccinated animals after a certain time and by determining the titer of post-vaccination antibodies in their blood serum.

However, the guidelines for vaccines used against Emkar disease do not provide for determining the degree of acquired immunity by examining a similar condition, i.e., the titer of post-vaccination antibodies. One of the main reasons for this is the lack of methods for the serological detection of Emkar.

Separate previously published studies [16,17,18] showed that attempts to detect antibodies in animals vaccinated against Emkar by setting up various serological tests remained only within the framework of laboratory studies and were not accepted for practical use. Taking this into account, KazNIVI scientists in 2021-2023 developed an antigen for setting up a latex agglutination reaction for the serological diagnosis of Emkar and proposed a method for setting up this reaction. The conducted studies have proved that this antigen and the latex reaction with its use are specifically and suitable for detecting antibodies formed in the body of animals vaccinated against animals Emkar, for which a patent for the invention was issued [19]. Given the above, the aim of this work was to determine the level and dynamics of antibodies formed after vaccination of animals for the subsequent use of the data obtained to determine the level of post-vaccination immunity against Emkar.

Materials and methods of research

Blood samples from 207 cattle immunized against Emkar delivered from different regions of the republic and Emkar antigen produced by the disintegration of the pathogen *Clostridium chauvoei* under the influence of ultrasound with subsequent sensitization to latex particles were used as research materials. To determine the amount and dynamics of post-vaccination antibodies in the blood serum of immunized animals, the blood serum is examined in the latex agglutination reaction (RLA) in a dilution of sera in a dilution of 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1: 320. Positive blood serum obtained by hyperimmunization of rabbits with the Emkar pathogen and negative blood serum obtained from healthy rabbits were used as a reaction control.

Results and discussion

At the first stage of our work, using the above method, studies were conducted to determine the level of specific antibodies in the blood serum of animals immunized against Emkar in various regions of the Republic (Northern, Southern, Eastern, Western and Central). From all regions, 167 blood samples of immunized animals were delivered, which were examined in the latex agglutination reaction using the developed antigen (Table 1).

Table 1 - results of the study of blood serum of animals vaccinated against Emkar in the reaction of latex agglutination (RLA)

№	Region	Name of areas from which samples were taken	Name of used vaccine	Study time in the post-vaccination period (days)	Quantity			Average anti body titer
					Tested samples	Positive result, %	Negative result, %	
1	Northern	Kostanay	Conc.AH vaccine, Stavropol biofactory	150	30	23/76,6	7/23, 3	1:11
2	Southern	Almaty	Conc.AH vaccine, Armavir biofactory	35	47	47/100	0/0	1: 37
3	Eastern	East Kazakhstan region	Conc.AH vaccine, Stavropol biofactory	23	30	30/100	0/0	1:45
4	Western	West Kazakhstan region	Conc.AH vaccine, Stavropol biofactory	30	30	30/100	0/0	1:34
5	Central	Karaganda	Conc.AH vaccine, Stavropol biofactory	30	30	30/100	0/0	1:34

*Note: Conc.AH – concentrated aluminum hydroxide vaccine

As can be seen from table 1, twenty three days after vaccination, the antibody titers in animals in RLA were 1:45; after 30 and 35 days, respectively 1:34 and 1:37; 150 days after vaccination, post-vaccination antibodies were detected in 76,6% of the animals, the average titers of which were 1:11. In immunized animals, there was no significant difference in antibody titers after vaccination, depending on the area of their location and the type of vaccine.

Thus, the conducted studies have shown the possibility of determining the level of antibodies in the blood serum of animals vaccinated against Emkar in the reaction of latex agglutination (RLA) using the antigen developed at the institute. In addition, 150 days after vaccination, it turned out that post-vaccination antibodies persisted only in 76.6% of animals with a low titer.

At the next stage of our work, the Peasant Farm "Syrymbet" of the Talgar district of the Almaty region, we studied the dynamics of the titer of post-vaccination antibodies in cattle vaccinated according to different schemes against Emkar for 6 months.

The experiment included 4 groups of cattle aged 1-3 years, each of which consisted of 10 animals. Animals of the 1st group received only emkar vaccine in the amount of 2 ml in accordance with the instructions for use; animals of the 2nd group - 2 ml of the emcar vaccine intramuscularly in one side of the thigh, and the other side - the immunomodulator "Immunofarm" [20] in the amount of 5 ml. Animals of the 3rd group - on one side of the thigh was injected with a double size of the Emkar vaccine, i.e. 4 ml, on the other side of the immunomodulator "Immunopharm" 5 ml. Animals of the 4th group - 2 ml of emcar vaccine and 5 ml of "Immunopharm" were mixed and injected together into the thigh muscle. The results of the study are presented in table 2.

Table 2 - Dynamics of post-vaccination antibodies of cattle immunized against Emarc

No.	Individual numbers of animals	Terms (days) of the study and antibody titer after vaccination			
		30	90	150	180
animals of the 1st group					
1	00331387	1:40	1:30	1:20	1:20
2	58188906	1:40	1:40	1:20	1:10
3	96760014	1:30	1:30	1:20	1:10
4	60237761	1:30	1:30	1:10	-
5	60237760	1:40	1:40	1:20	1:10
6	no number white cow	1:20	1:20	1:10	-
7	60636700	1:40	1:30	1:20	1:10
8	62056139	1:20	1:20	1:10	-
9	59685365	1:40	1:30	1:20	1:10
10	60237768	1:30	1:20	1:10	1:10
Average titer		1:33,0	1:29,0	1:16,0	1:8,0
animals of the 2nd group					
11	60237773	1:40	1:30	1:30	1:20
12	60636701	1:30	1:30	1:20	1:10
13	58188905	1:40	1:30	1:20	1:20
14	59685369	1:30	1:30	1:20	1:10
15	58187384	1:30	1:20	1:20	-
16	60636697	1:30	1:20	1:10	-
17	60636704	1:30	1:30	1:20	1:10
18	60636692	1:60	1:40	1:30	1:20
19	62056140	1:40	1:40	1:20	1:10
20	60636695	1:60	1:40	1:20	1:20
Average titer		1:39,0	1:31,0	1:21,0	1:12,0
animals of the 3rd group					
21	61278185	1:40	1:40	1:30	1:30
22	61278184	1:60	1:40	1:30	1:30
23	62056143	1:40	1:40	1:30	1:20
24	60006421	1:40	1:30	1:20	1:10
25	59185999	1:20	1:20	1:10	-
26	60636698	1:60	1:60	1:40	1:20
27	6000634	1:30	1:30	1:20	1:10
28	59185991	1:40	1:40	1:30	1:20
29	60237753	1:80	1:80	1:60	1:30
30	60006408	1:40	1:40	1:30	1:20
Average titer		1:45,0	1:42,0	1:30,0	1:19,0
animals of the 4th group					
31	61278205	1:40	1:40	1:20	1:20
32	61278202	1:40	1:30	1:20	1:20
33	62056164	1:30	1:30	1:20	1:10
34	61278192	1:40	1:40	1:20	1:10
35	61286031	1:20	1:20	1:10	-
36	61285954	1:30	1:30	1:20	1:10
37	61278194	1:30	1:30	1:10	-
38	61285945	1:40	1:30	1:20	1:10
39	61278190	1:30	1:30	1:10	1:10
40	61278206	1:30	1:20	1:20	1:10
Average titer		1:33,0	1:30,0	1:16,0	1:10

As can be seen from table 2, the average titer of animals of the 1st group 30 days after vaccination, which were administered the Emkar vaccine according to the instructions for use, i.e. in the amount of 2 ml, was equal to 1:33. In subsequent terms of the study (90, 150 and 180 days), the average antibody titer in animals of this group was 1:29, 1:16 and 1:8, respectively. It should be noted that in studies 180 days after vaccination in 3 animals (30%) no antibodies were found at all.

Approximately the same dynamics of the antibody titer was observed in animals of the 4th group, which received a combined vaccination with the "Immunopharm" immunomodulator, but only in 2 animals of this group (i.e. 20%) negative results were obtained in studies after 180 days.

In animals of the 2nd and 3rd groups, which were vaccinated with the Emkar vaccine on the one hand and the "Immunopharm" immunomodulator on the other, the average antibody titer after 30 days was higher, respectively, 1:39.0 and 1:45.0. Compared with the antibody titer in animals of groups 1 and 4, in animals of groups 2 and 3, the content of antibodies in a high titer remained up to 150 and 180 days. The number of animals in which no antibodies were found in the studies of the last period was also lower in these groups (20 and 10%, respectively).

Thus, from this experience it became clear that the antibody titer formed during the simultaneous administration of the Emkar vaccine and the "Immunopharm" immunomodulator into different parts of the animal body remains higher and longer.

The highest antibody titer was observed in animals that were injected with a double dose of the vaccine, i.e. 4 ml, on one side of the animal's thigh and on the other, 5 ml of the "Immunopharm" immunomodulator. This condition can be explained by the fact that the immunomodulator "Immunopharm" reduces the reactivity of the vaccine administered in a double dose and enhances the response of the immune system. Evidence for this phenomenon was demonstrated in our earlier studies [21].

Conclusion

The level of specific antibodies in the blood serum of animals immunized against Emkar in different regions of the republic was revealed. 23 days after vaccination, the antibody titers in animals were equal to 1:45, after 35 days - 1:37, after 150 days - 1:11. During the last period of the study, post-vaccination antibodies were detected only in 76,6% of the animals. In the studied animals, there was no significant difference in antibody titers after vaccination, depending on the area of their location and the type of vaccine.

In subsequent studies, the dynamics of post-vaccination antibody titers in the body of cattle vaccinated according to various schemes against Emkar was analyzed for 6 months.

In animals vaccinated with the Emkar vaccine, the average titer of post-vaccination antibodies 30 days after vaccination was 1:33. In subsequent terms of the study (90, 150 and 180 days), the average titer was 1:29, 1:16 and 1:8, respectively. In studies 180 days after vaccination, 30% of the animals showed no antibodies at all, which means that these animals had a lower level of immunity.

It is known that the titer of antibodies formed during the simultaneous vaccination of animals in different parts of the body, including the Emkar vaccine and the "Immunopharm" immunomodulator, remains higher and longer.

The highest antibody titer was observed in animals that were injected with a double dose of the vaccine on one side of the thigh and immunomodulator "Immunopharm" on the other side. This condition can be used to ensure that the antibody titer remains as high as possible and lasts longer when using the emcar disease vaccine.

The conducted studies have shown that using the latex agglutination reaction developed in KazNIVI, it is possible to determine the level and dynamics of antibodies in the blood serum of animals immunized against Emkar. That is, the method can be used to determine the level of immunity and the quality of the vaccine used in vaccinated animals, as well as to analyze specific prevention measures.

References:

- 1 Sajduldin T. Indettanu zhəne zhanuarlardyң zhұqpalı aurulary. Almaty. 2009. 252 bet. (https://www.studmed.ru/sayduldin-t-ndettanu-zh-ne-zhanuarlardy-zh-paly-aurulary-epidemiologiya-i-infekcionnye-bolezni-zhivotnyh_db10a46ee7a.html).
- 2 *Jepizootologija s mikrobiologiej: Uchebnik* /Pod red. V. A. Kuz'mina, A. V. Svjatkovskogo. SPb., 2017. 432 s. (<https://e.lanbook.com/book/145838>).
- 3 Rychener L., Albon S.I., Djordjevic S.P., Chowdhury P.R., Ziech R.E., de Vargas A.C., et al. *Clostridium chauvoei*, an evolutionary dead-end pathogen. *Front. Microbiol.*, 2017, 8:1054. (doi: 10.3389/fmicb.2017.01054).
- 4 Ziech R.E., Gressler L.T., Frey J., de Vargas A.C. Blackleg in cattle: current understanding and future research needs. *Cienc Rural*, 2018, 48:e20170939. (doi: 10.1590/0103-8478cr20170939).
- 5 Daugalieva S.T., Daugalieva A.T., Ashanin A.I., Erfali B.B. Vlijanie racionalna na produktivnost' bychkov kazahskoj belogolovoj porody i koncentraciju arhej v mikrobiome zheludochno-kishechnogo trakta. *Mikrobiologija zhəne virusologija*, 2023, 40:221-239. (doi:10.53729/MV-AS.2023.01.15).
- 6 Abreu C.C., Blanchard P.C., Adaska J.M., Moeller R.B., Anderson M., Navarro M.A., et al. Pathology of blackleg in cattle in California, *J. Vet. Diagnostic. Investig.*, 2018, 30:894–901. (doi: 10.1177/1040638718808567).
- 7 Gacem F., Madadi M.A., Khecha N., Bakour R. Study of vaccinal properties of *Clostridium chauvoei* strains isolated during a blackleg outbreak in cattle in algeria. *Kafkas Univ. Ve.t Fak. Derg.*, 2015, 21:825–9. (doi: 10.9775/kvfd.2015.13616).
- 8 Heckler R.F., de Lemos R.A., Gomes D.C., Dutra I.S., Silva O.S., Lobato C.F., et al. Blackleg in cattle in the state Mato Grosso do Sul, Brazil: 59 cases. *Pesqui Vet. Bras.*, 2018, 38(01). (doi: 10.1590/1678-5150-pvb-4964).
- 9 Hussain R., Ehtisham-Ul-haque S., Khan I., Jabeen G., Siddique A.B., Ghaffar A., et al. Clinico-hematological, patho-anatomical and molecular based investigation of blackleg disease in Cholistani cattle Pakistan. *J. Agric.Sci.*, 2021, 58:1017–25. (doi: 10.21162/PAKJAS/21.1240).
- 10 Kapustin A.V., Aliper T.I. *Jepizootologija i profilaktika klostridiozov krupnogo rogatogo skota*. Mat. Mezhd. vet. Kongressa - Edinyj mir – edinoe zdorov'e. Ufa. 2017. S. 106-108. (<https://www.dissercat.com/content/etiologicheskaya-struktura-i-spetsificheskaya-profilaktika-klostridiozov-krupnogo-rogatogo>).
- 11 Glotova, T.I. Vozbuditeli i vozrastnaja vospriimchivost' krupnogo rogatogo skota k klostridiozam. *Sibirskij vestnik s.-h.nauki*, 2017, T.47. №1. S.90-96. (<https://www.dissercat.com/content/etiologicheskaya-struktura-i-spetsificheskaya-profilaktika-klostridiozov-krupnogo-rogatogo>).
- 12 Aspen Abutalip, Vladislav Laskavy, Batyrbek Aitzhanov, Gulnara Baikadamova, Aiganym Abubekova. Epizootic situation of animal emcar (blackleg) on the territory of the republic of Kazakhstan for 2010–2020. *Vestnik nauki Kazahskogo agrotehnicheskogo universiteta im.S.Sejfullina*, 2022, 3:(114). 2. P. 167-180. (<https://kazatu.edu.kz/pages/nauka/vestnik-nauki-kazahskogo-agrotehnicheskogo-universiteta-im-s-sejfullina>).
- 13 Kapustin A.V. Razrabotka vakciny protiv jemfizematoznogo karbunkula krupnogo rogatogo skota. *Russian Journal of Agricultural and So-cio-Economic Sciences*, 2016, 5(53). S. 97-102. (<https://rjoas.com>).
- 14 Kapustin A.V. Jefferktivnost' vakciny «Klostbovak-8» protiv klostridioza krupnogo rogatogo skota, vyzvannogo razlichnymi vidami *Clostridium*s pp. *Veterinarija, zootehnika i biotehnologija*, 2016, 9:6-11. (<https://www.litres.ru/serii-knig/zhurnal-veterinariya-zootehniya-i-biotehnologiya/zhurnal-veterinariya-zootehniya-i-biotehnologiya-2016>).
- 15 Bessarabov B.F., Voronin E.S. i dr. Infekcionnye bolezni zhivotnyh /Pod red. A.A. Sidorchuka. 2007, M., 671 s. (https://www.studmed.ru/bessarabov-bf-vashutin-aa-voronin-es-i-dr-infekcionnye-bolezni-zhivotnyh_30a18b3684f.html).
- 16 Satin N.K., Smirnov A.P. Izuchenie postvakcinal'nyh reakcij u krupnogo rogatogo skota pri immunizacii vakcinami jemfizematoznogo karbunkula krupnogo rogatogo skota. *Nauchn. trudy Saratovskogo s/h in-ta*, 1973, vyp.17, ch.2:12-18. (<https://www.dissercat.com/content/infekcionnye-bolezni-nutritiv-v-zverovodcheskikh-khozyaistvakh-severnogo-kavkaza>).
- 17 Odarenko K.I., Grjazin V.I. Reakcija aggljutinacii (RA) pri jemfizematoznom karbunkule. *Tr. KazNIVI*, 1976, t.16:180-184. (<https://kaz-nivi.kz>).

18 Ajtzhанov B.D. Jeффективност' metoda immunoflorescencii pri vyjavlenii vozбудitelej i specificheskikh antitel jemfizematoznogo karbunkula i zlokachestvennogo oteka krupnogo roгатого skota i ovec. *Diss. kand. vet. Nauk.* Almaty, 1986. 142 s. (<https://library.tou.edu.kz/fulltext/buuk/b636.docx>).

19 Abutalip A., Ajtzhанov. B.D., Kasenov M.M., Myrzaliev A., Tusupkanuly O. *Sposob poluchenija lateksnogo diagnostikuma dlja postanovki reakcii lateks-aggljutinacii.* Zajavka na vydachu patenta na poleznuju model'. №2023/0087.2. ot 30.01.2023 g. (https://journal.microbe.ru/jour/article/view/1416?locale=ru_RU)

20 Registracionnoe udostoverenie na immunomoduljator «Immunofarm» № RK-VP-1-35-35 ot 26.03.2018 goda. (https://www.gov.kz/uploads/2023/2/22/61d73813a47434817a49357fee70e992_original.5233396.pdf).

21 Gorelov Ju.M., Laskovyj V.N., Sultanov A.A., Sushhih V.Ju., A. Abutalip i dr. *Sposob povyshenija immunogennosti vakcin protiv infekcionnoj infekcij sibirskoj jazvy i jemfizematoznogo karbunkula (Jemkar).* FGBNU «Saratovskij NIVI»; TOO «KazNIVI». № 201200605. Zajavl. 18.05.12. Opubl. 30.12.16. (<https://kzpatents.com>).