

7. Охупкина С.С., Акишев А.Г., Дегтярев С.Х. Полимеразно-цепная реакция (ПЦР) и ее применение. <http://www.sciencerussian.sibenzyme.com>

8. Forsyth M.A. & Barrett T. (1995). Evaluation of polymerase chain reaction for the detection and characterisation of rinderpest and peste des petits ruminants viruses for epidemiological studies. // *Virus Res.* -Vol. 39. -№. 2-3. -P. 151-163.

С.Ш. Нурабаев

ҰСАҚ КҮЙІС ҚАЙЫРАТЫН МАЛДАРДЫҢ ОБАСЫН ПТР ӘДІСІМЕН АНЫҚТАУ ҮШІН ТӘНДІ ПРАЙМЕРЛЕРДІ СИНТЕЗДЕУ

Ұсақ күйіс қайыратын малдардың обасын ПТР әдісімен анықтау үшін праймерлер іріктелініп алынды және синтезделінді.

Кілт сөздер: праймер, синтез, РНК, ұсақ күйіс қайыратын малдар обасы.

S.Sh. Nurabayev

RECRUITING AND SYNTHESIS OF SPECIFIC PRIMERS FOR PCR WITH THE PLAGUE OF SMALL RUMINANTS

Chosen and synthesizing primers for statement PCR at a peste des petits ruminants

Keywords: primer, synthesis, RNA, peste des petits ruminants virus.

УДК 619:578.831.2:57.083.138

С.Ш. Нурабаев

*РГП Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, ПГТ
Гвардейский Жамбыльской области, Казахстан*

ПОДБОР СТАБИЛИЗИРУЮЩИХ СРЕД ДЛЯ ЛИОФИЛЬНОЙ СУШКИ АНТИГЕНА ПРИ ЧУМЕ МЕЛКИХ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Аннотация. При исследовании различных стабилизирующих сред, добавляемых в диагностические препараты при их лиофилизации, испытаны различные их концентрации, а также компонентный состав.

В ходе проведенных опытов установлено, что кроме стабилизатора Сахароза/Желатин/Агар, 7,5/1,5/0,2% остальные испытанные защитные среда в два, иногда в восемь раз снижают активность специфических антигенов чумы МЖЖ после процесса лиофильной сушки.

В ходе опытов подобрана оптимальная защитная добавка для антигенов при чуме мелких жвачных животных, которой является Сахароза/Желатин/Агар, в концентрации 7,5/1,5/0,2% соответственно.

Ключевые слова: стабилизатор, желатин, сахароза, агар, пептон

Введение

Одним из главных моментов при приготовлении диагностических препаратов при чуме мелких жвачных животных является подбор стабилизирующих сред в процессе лиофильной сушки материалов. Для лиофильной сушки диагностических препаратов в научных и производственных учреждениях в качестве стабилизирующих сред широко

используются желатин, агар, бычий сывороточный альбумин, пептон, сахароза, лактоза, обезжиренное молоко и другие материалы [1-4].

Целью нашей работы являлось- подбор стабилизирующих сред для диагностических препаратов, которые обеспечивают длительное хранение препаратов с минимальной потерей их активности в процессе хранения.

Материалы и методы

В работе использовали следующие препараты:

- антигены специфические при чуме мелких жвачных животных серии №18, 13 и 21;
- антиген нормальный (контрольный) серия №4;
- диагностические наборы для РДП и ИФА при чуме мелкого рогатого скота;
- защитные среды: желатин, агар, бычий сывороточный альбумин, пептон, сахароза, лактоза, обезжиренная молоко.

Процесс лиофилизации диагностических препаратов при чуме мелких жвачных животных проводили по следующей схеме:

1. Глубокая заморозка в течение 12 часов при температуре 56⁰С;
2. Вакуум 0,8-1,0 бар;
3. Режим лиофилизации 15% / 15⁰С;
4. Досушивание препарата после лиофилизации проводили при температуре + 24⁰С в течение 8-10 часов;
5. Продолжительность лиофилизации 36 часов.

До и после лиофилизации и процессе хранения диагностических препаратов проверяли их активность в лабораторных тест-системах (ИФА, РДП).

Постановка РДП

В агаре по трафарету с помощью металлической трубки делали лунки диаметром 0,5 см³ на расстоянии 0,3-0,4 см друг от друга. Лунки располагали таким образом, чтобы одна из них находилась в центре и 6 лунок вокруг нее.

Для обнаружения антигена в испытуемых пробах РДП ставили одновременно с двумя стандартными (специфическим и нормальным) компонентами реакции. При исследовании антигенов в центральные лунки вносили стандартные специфическую и нормальную сыворотки в рабочем разведении, а в периферические - испытуемые антигены в цельном виде и в двукратных разведениях. После постановки реакции чашки Петри закрывали крышками, ставили под стеклянный колпак и выдерживали 24-72 ч при комнатной температуре.

Результаты реакции начинали учитывать с контролей, в которых обязательно должны быть линии преципитации между стандартным специфическим антигеном и стандартной специфической сывороткой при отсутствии их между нормальной сывороткой и специфическим антигеном и специфической сывороткой и нормальным антигеном.

Реакцию считали положительной, если между лунками с испытуемыми антигенами и специфической сывороткой через указанное выше время имеются линии преципитации по характеру идентичные линиям в контроле. При отсутствии линий преципитации между указанными компонентами реакцию считали отрицательной.

Иммуноферментный анализ ставили по следующей схеме:

- сенсibilизация лунок полистироловых планшет специфическими иммуноглобулином или антигеном чумы МЖЖ, взятыми в рабочей концентрации в течение 18ч при 4⁰С;

- время контакта испытуемых и контрольных антигенов с иммуноглобулинами или сывороток с антигеном, закрепленными на твердой фазе в течение 18ч при 4⁰С;

- взаимодействие вирусспецифического или антивидового конъюгатов с антигенами или сыворотками в течение 1ч при 37⁰С, а затем с субстратом в течение 15-30 минут при комнатной температуре.

Результаты и обсуждение

При добавления стабилизирующих сред в диагностические препараты испытаны различные концентрации, также в сочетании с другими стабилизирующими средами.

Компонентное и процентное содержание дополнительных добавок представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Содержание и состав стабилизирующей среды

№№ п/п	Наименование компонентов	Содержание в ТЖ, %
1	Пептон/Сахароха	2,5:2,5
2	Пептон/Сахароза	3/3
3	Сахароза/Желатин/Агар	7,5/1,5/0,2
4	Обезжиренная молоко	50
5	Пептон/лактоза	3/2,5
6	БСА	0,5
7	БСА	1
8	Пептон/БСА	2/0,5

До и после процесса лиофилизации определяли активность диагностических препаратов в РДП и ИФА, которые представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Активность антигенов в РДП и ИФА до и после сушки с защитной средой

Наименование стабилизирующих сред и содержание, в %	Наименование диагностических препаратов	До сушки		После сушки	
		в РДП	в ИФА	в РДП	в ИФА
Пептон/Сахароха, 2,5:2,5	Антиген специфический серия №18	1:8	1:1280	1:2	1:320
Пептон/Сахароза, 3/3		1:8	1:1280	1:4	1:320
Сахароза/Желатин/Агар, 7,5/1,5/0,2		1:8	1:1280	1:8	1:1280
Обезжиренная молоко, 50		1:8	1:1280	ц	1:64
Пептон/лактоза, 3/2,5		1:8	1:1280	1:4	1:640
БСА, 0,5		1:8	1:1280	1:8	1:320
БСА, 1		1:8	1:1280	1:4	1:320
Пептон/БСА, 2/0,5		1:8	1:1280	1:2	1:160
Пептон/Сахароза, 2,5:2,5		Антиген специфический, серия №13	1:16	1:2560	1:16
Пептон/Сахароза, 3/3	1:16		1:2560	1:4	1:640
Сахароза/Желатин/Агар, 7,5/1,5/0,2	1:16		1:2560	1:8	1:1280
Обезжиренное молоко, 50	1:16		1:2560	1:2	1:640
Пептон/лактоза, 3/2,5	1:16		1:2560	1:4	1:1280
БСА, 0,5	1:16		1:2560	1:8	1:640
БСА, 1	1:16		1:2560	1:4	1:320
Пептон/БСА, 2/0,5	1:16		1:2560	1:4	1:640
Пептон/Сахароза, 2,5:2,5	Антиген нормальный, серия №4		-	-	-
Пептон/Сахароза, 3/3		-	-	-	-
Сахароза/Желатин/Агар, 7,5/1,5/0,2		-	-	-	-
Обезжиренное молоко, 50		-	-	-	-
Пептон/лактоза, 3/2,5		-	-	-	-
БСА, 0,5		-	-	-	-
БСА, 1		-	-	-	-
Пептон/БСА, 2/0,5		-	-	-	-

В ходе проведенных опытов установлено, что кроме стабилизатора Сахароза/Желатин/Агар, 7,5/1,5/0,2% все защитные среда в два, иногда в восемь раз снижают активность специфических антигенов чумы МЖЖ после процесса лиофильной сушки. Стабилизатор в состав которого входят Сахароза/Желатин/Агар, 7,5/1,5/0,2% нас вполне устраивал, так как при применения данного стабилизатора активность антигенов после сушки снижалась на один порядок.

На следующем этапе исследований определяли сохраняемость активности данных антигенов со стабилизатором Сахароза/Желатин/Агар, 7,5/1,5/0,2% при различных температурно-временных режимах хранения (4⁰С; 22-25⁰С; минус 20⁰С).

После хранения в течение 3-х мес. при различных температурных режимах в экспериментальных образцах препарата, определяли активность в РДП и ИФА. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Активность антигенов в РДП и ИФА после хранения в течение 3-х месяцев

Наименование стабилизирующих сред и содержание, в %	Наименование диагностических препаратов	Температура хранения антигенов, °С	Активность антигенов до хранения		Через 3 месяца после хранения	
			в РДП	в ИФА	в РДП	в ИФА
Сахароза/Желатин/Агар, в концентрации 7,5/1,5/0,2% соответственно	Антиген специфический серия №18	4	1:8	1:1280	1:8	1:1280
		22-25			1:2	1:160
		минус 20			1:8	1:1280
	Антиген специфический, серия №13	4	1:8	1:1280	1:8	1:1280
		22-25			1:4	1:640
		минус 20			1:8	1:1280
	Антиген специфический, серия №21	4	1:8	1:640	1:4	1:320
		22-25			1:4	1:160
		минус 20			1:8	1:640
	Антиген нормальный, серия №4	4	-	-	-	-
		22-25			-	-
		минус 20			-	-

Проведенные исследования показали, что антигены оказались более устойчивыми при хранении в течении 3 мес. при минусовых температурах и в условиях бытового холодильника, так как потери активности антигенов при этих температурах не наблюдали.

Выводы

В результате нами были проведены опыты по подбору стабилизирующих сред при лиофильной сушки диагностических препаратов против чумы мелких жвачных животных. В ходе опытов подобрана оптимальная защитная добавка для антигенов при чуме мелких жвачных животных, которой является Сахароза/Желатин/Агар, в концентрации 7,5/1,5/0,2% соответственно.

Литература

1. Кульбаева К.Р., Троицкий Е.Н., Копа Л.А. и др. Получение пылевидных образцов вакцины против оспы овец из штамма “НИСХИ” способом лиофильного высушивания. // Тезисы научной конференции “Актуальные проблемы вирусологии”, пгт. Гвардейский, 1994.

2. Абдрахманов С.К., Уфимцев К.П., Битаев К.Б. Изучение стабилизирующего эффекта различных добавок для вируса болезни Ауески. //Сборник научных трудов АЗВИ “Резервы биотехнологии, ветеринарной медицины и зоотехнии в повышении эффективности животноводства”, Алматы, 1995

3. Битов Н.Т., Кыдырбаев Ж.К., Далбаев Н.К. Выбор защитной среды для изготовления пылевидной вирусвакцины против болезни Ньюкасла. //Биотехнология. Теория и практика 2000, № 1-2

4. Троицкий Е.Н., Копа Л.А., Рыскельдинова Ш.Ж. Таблетирование вирусных препаратов и изучение их сохраняемости. //Матер. межд. конф. "Современный эпидемический потенциал природных очагов чумы - Талдыкорган. 2001.

С.Ш. Нұрабаев

ҰСАҚ КҮЙІС ҚАЙЫРАТЫН МАЛДАРДЫҢ ОБАСЫ АНТИГЕНІН ЛИОФИЛЬДІ КЕПТІРУ ҮШІН СТАБИЛИЗАТОРДЫ АНЫҚТАУ

Ұсақ күйіс қайыратын малдардың обасы антигенін лиофильді кептіру үшін ең қолайлы стабилизді жарамды орта анықталынды.

Кілт сөздер: стабилизатор, желатин, сахароза, агар, пептон.

S.Sh. Nurabayev

SELECTION OF STABILIZING MEDIA DURING LYOPHILIC DRYING OF DIAGNOSTIC PRODUCTS FOR THE PLAGUE OF SMALL RUMINANTS

Chosen the optimal stabilizing environment suitable for lipophilic drying diagnostic products in a peste des petits ruminants

Keywords: stabilizer, gelatin, sucrose, agar, peptone.

УДК:619:616.995.121:591.8

Ж.М.Валиева, Н.Б.Сарсембаева, А.З.Мауланов, А.Е.Усенбаев

Казахский национальный аграрный университет

ЭХИНОКОККОЗ ОВЕЦ НА ЮГО-ВОСТОКЕ КАЗАХСТАНА: ЗАРАЖЕННОСТЬ, РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЦИСТ ПО ОРГАНАМ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ МЫШЦ

Аннотация. При исследовании 2123 особей убойных взрослых овец на рынках юго-востока Казахстана установлено, что средняя зараженность животных цистами *Echinococcus granulosus* составляет 9,1% с преимущественной локализацией в печени и легких. Выявлено, что гистологическая структура мышечной ткани инвазированных овец подвергается деструктивным изменениям с преобладанием зернистой дистрофии.

Ключевые слова: эхинококкоз, овцы, баранина, патоморфология

Цистный эхинококкоз – паразитарное заболевание млекопитающих, включая человека и многих видов домашних и диких животных, которое вызывается личиночной стадией цестоды *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786), имеет глобальное распространение в более 100 странах мира [1,2,3].

Ежегодный экономический ущерб от эхинококкоза в мировом масштабе оценивается в пределах четырех миллиардов долларов США, и он складывается из потерь вследствие нетрудоспособности, затрат на лечение заболевших людей, а также падежа скота, вынужденного уничтожения внутренних органов убойных животных, недополучения продукции и других издержек производства. Поэтому, учитывая значимость проблемы,