

Заклучение

Таким образом, резюмирую вышеизложенное можно отметить, что Казахский национальный аграрный университет вносит свой вклад в решение проблем пищевой и экологической безопасности Казахстана.

Литература

1. Всеобщее управление качеством: учебник для вузов / О.П. Глудкин и др.- М.: Радио и связь, 1999-600с.
2. Государственный стандарт Республики Казахстан. СТ РК ИСО/МЭК 17025-2007. Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий.
3. Онищенко Г.Г. Организация работы при исследованиях методом ПЦР материала, инфицированного патогенными биологическими агентами III-IV групп патогенности. Методические указания. – М., 2004г.

Ш.А. Әлпейісов

ҚАЗАҚСТАНДАҒЫ АУЫЛ ШАРУАШЫЛЫҚ ӨНІМНІҢ ҚАУІПСІЗДІГІ МЕН САПАСЫН БАСҚАРУДЫҢ ӨЗЕКТІ МӘСЕЛЕЛЕРІ

Бәсекеге қабілетті агроөнеркәсіп кешені мен азық-түлік қауіпсіздігі жағынан ашық нарық жағдайында Қазақстан алдыңғы қатарлы ашық нарықтық экономикалық елдер қатарындағы орындарға ие. Елдің аграрлық секторында нақты бағыттар мен инновациялық қызметтердің көлемі осы дәлелдерден айқын көрінеді. Агроөнеркәсіп кешендерінің әртүрлі салалары және өндірістің барлық шеңберінде қалыптасқан жағдай күрделі жағдайларда белсенді инновациялық қызметті қажет етеді.

Кілт сөздер: экология, инновация, ауыл шаруашылық өндірісі, азық-түлік қауіпсіздігі, егіншілік, мал шаруашылығы.

Sh.A. Alpeisov

TOPICAL ISSUES OF QUALITY AND SAFETY MANAGEMENT OF AGRICULTURAL PRODUCTS IN KAZAKHSTAN

Conclusion Such a way Summarizing the above, Kazakh National Agrarian University contributes to the solution problems of food and environmental security in Kazakhstan.

Key words: ecology, innovation, agricultural productions, food safety, agriculture, stock-raising.

УДК 619:616-07/619.3

М.И. Богданова

РГП "НИИ проблем биологической безопасности" КН МОН Республики Казахстан

ПОЛУЧЕНИЕ ИММУНОГЛОБУЛИНА К ВИРУСУ КАТАРАЛЬНОЙ ЛИХОРАДКИ ОВЕЦ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ

Аннотация. В результате проведенных исследований из специфических сывороток животных с использованием различных методов были выделены иммуноглобулины к вирусу КЛЮ. Для выделения вирусспецифических иммуноглобулинов из специфических

сывороток использовали несколько методов (спиртовое осаждение по Кону, сернокислым аммонием). Активность и специфичность выделенных иммуноглобулинов была исследована РДП, а также дана их сравнительная оценка в ИФА.

В результате, для выделения наиболее активных и специфичных вирусспецифических иммуноглобулинов из всех испытанных методов наиболее пригодным оказался метод спиртового осаждения по Кону.

Ключевые слова: Катаральная лихорадка овец (КЛО), иммуноферментный анализ (ИФА), реакция диффузионной преципитации (РДП)

Введение

Вирус катаральной лихорадки поражает жвачных животных – крупный рогатый скот, коз, овец, оленей, среди животных инфекция распространяется посредством кровососущих насекомых из рода *Culicoides*, восприимчив к заболеванию и человек. Наиболее сильно симптомы болезни проявляются у овец.

Диагноз на блютанг ставят на основании данных эпизоотологического, клинического и патологоанатомического обследования, а также результатов лабораторных исследований - выделение вируса из органов и тканей больных особей, или обнаружение вирусспецифических антител в сыворотке крови больных животных.

В настоящее время в серологической диагностике вируса КЛО применяются реакция диффузионной преципитации (РДП) и иммуноферментный анализ (ИФА) [1, 2, 3, 4]. Для диагностики большинства вирусных инфекций широко применяется иммуноферментный анализ (ИФА). Благодаря ИФА решены многие важные научные проблемы ветеринарии и биологии [3]. В свою очередь чувствительность и специфичность этого метода зависит от качества используемых в реакции диагностических препаратов (иммуноглобулины и конъюгаты) [5].

В настоящей работе представлены результаты экспериментов по выделению вирусспецифического иммуноглобулина к вирусу КЛО с использованием различных методов, пригодного для постановки ИФА при обнаружении антигена данного вируса.

Материалы и методы

Вирус. В работе использовали вирус катаральной лихорадки овец, эпизоотический штамм "RT/RIBSP-07/16" серотип 16, выделенный от мелкого рогатого скота в 2007 году в Республике Таджикистан.

Культуры клеток. Для культивирования вируса КЛО и получения вирусосодержащих суспензий с целью приготовления культурального специфического антигена была использована перевиваемая линия клеток почки зеленой мартышки (VERO), выращенная в 1,5 литровых матрасах стационарным методом.

Животные. В качестве доноров специфических антител применяли взрослых овец местных пород.

Выделение иммуноглобулина спиртовым методом Кона

Осаждение вирусспецифического иммуноглобулина из сыворотки крови по методу спиртового осаждения по Кону проводится трехкратным осаждением различными концентрациями спирта (26 и 53%) [6].

Выделение иммуноглобулина сернокислым аммонием

Для осаждения вирусспецифического иммуноглобулина из сыворотки крови трехкратным осаждением 2,78 М раствором сернокислого аммония [6].

Результаты и обсуждение

Специфические сыворотки для выделения иммуноглобулинов были получены на овцах, после их гипериммунизации штаммом "RT/RIBSP-07/16" вируса катаральной лихорадки овец серотип 16. В качестве нормальной сыворотки использовали сыворотки крови от здоровых мелких жвачных животных. Для иммунизации животных

использованы специфические антигены, полученные путем инфицирования культуры клеток почки зеленой мартышки (Vero) эпизоотическим штаммом "RT/RIBSP-07/16" серотип 16 вируса катаральной лихорадки овец с последующим трёхкратным термоллизом и 100% концентрированием. Результаты активности и специфичности сыворотки крови от овец представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Активность и специфичность гипериммунных сывороток в РДП

Исследуемые сыворотки	Контрольные антигены			
	АС КЛО №1	АС КЛО №2	АС ЧМЖЖ №3	АН КЛО №1
специфическая сыворотка крови овцы №1 против вируса КЛО	1:32	1:32	-	-
специфическая сыворотка крови овцы №2 против вируса КЛО	1:16	1:32	-	-

Примечания 1. «-» - отрицательный результат. 2. «АС» - антиген специфический.

3. «АН» - антиген нормальный.

По данным таблицы можно сделать вывод, что полученные специфические сыворотки против вируса КЛО на овцах оказались довольно активными и специфичными в РДП.

Для выделения вирусспецифических иммуноглобулинов из специфических сывороток использовали несколько методов (спиртовое осаждение по Кону, сернокислым аммонием).

Активность вирусспецифических иммуноглобулинов, выделенных различными методами, исследовали в РДП, результаты предоставлены в таблице 2.

Таблица 2 – Активность вирусспецифических иммуноглобулинов, выделенных различными методами в РДП

Контрольные антигены	Методы осаждения иммуноглобулинов			
	спиртовой по Кону		сернокислый аммоний	
	Овечья №1	Овечья №2	Овечья №1	Овечья №2
Специфический	1:64	1:32	1:16	1:8
Нормальный	-	-	ц	1:2

Примечание: «-» - отрицательный результат.

Из данных таблицы видно, что вирусспецифические иммуноглобулины, выделенные по методу спиртового осаждения Кона, показали высокую активность и специфичность, по сравнению с другим методом, который оказался малоэффективным и в тоже время показал неспецифичный фоновый уровень.

В дальнейшем проводили исследования по сравнительной оценке иммуноглобулинов, выделенных различными методами с помощью ИФА. Результаты представлены в таблице 3.

Для этого специфическими иммуноглобулинами, выделенными различными методами были сенсibilизированы лунки планшет в концентрации 30 мкг/мл.

Постановку ИФА при КЛО проводили по следующей схеме:

- Обработка лунок планшет 1% раствором БСА в течение 1 часа.

- Внесение в лунки планшет контрольных антигенов вируса КЛЮ, контакт 18 часов при 4°C 16-18 часов.
- Наслаивали в лунки планшет вирусспецифический иммунопероксидазный конъюгат при КЛЮ, в рабочем разведении с добавлением 1% БСА, контакт 1 час при 37°C.
- Внесение в лунки планшет готового раствора субстрата АБТС.
- Учитывание результатов ИФА на фотометре марки «Multiskan Flow».

Таблица 3 – Активность вирусспецифических иммуноглобулинов в ИФА.

Контрольные антигены	Методы осаждения иммуноглобулинов			
	спиртовой по Кону		сернокислым аммонием	
	Овечья №1	Овечья №2	Овечья №1	Овечья №2
Специфический	1:3200	1:800	1:1600	1:320
Нормальный	-	-	+	+

Примечание: «-» - отрицательный результат.

Как видно из данных, представленных в таблице 3, что для постановки прямого метода ИФА наиболее активные и специфичные иммуноглобулины получены методом спиртового осаждения по Кону. Иммуноглобулины, выделенные сернокислым аммонием, оказались не пригодными, так как в ходе постановки ИФА показали неспецифическую реакцию с нормальным антигеном.

Выводы

В результате проведенных исследований из специфических сывороток животных с использованием различных методов были выделены иммуноглобулины к вирусу КЛЮ. Активность и специфичность выделенных иммуноглобулинов была исследована РДП, а также дана их сравнительная оценка в ИФА.

Таким образом, для выделения наиболее активных и специфичных вирусспецифических иммуноглобулинов из всех испытанных методов наиболее пригодным оказался метод спиртового осаждения по Кону.

Литература

1. Мамадалиев С.М., Кошематов Ж.К., Керембекова У.Ж., Нурабаев С.Ш., Хайруллин Б.М., Касенов М.М., Ажибаев А.Ж. Применение иммуноферментного метода для ретроспективной диагностики чумы мелких жвачных животных. Актуальные вопросы диагностики болезней животных. Специальный выпуск материалы второй международной конференции. С. 256-261. г. Алматы - 2005г.
2. Бакулов И.А. Эпизоотическая ситуация в мире по особо опасным болезням животных к концу XX столетия //Материалы межд. науч. - практ. конференция г. Покров - 2000г.
3. Васильев А.В., Непоклонова И.В. Иммуноферментный метод в диагностике вирусных инфекций//Ветеринария, 1982, №8, с. 63-65
4. Самуилов В.Д. Иммуноферментный анализ //Соросовский образовательный журнал. -1999. -№12. -с. 9-15
5. Пономарева. Н.А, Нечаева А.С. «Гамма-глобулин» - Москва. 1985г.
6. Фримель Г. Иммунологические методы. – М.: Медицина, 1987.-С.390-412.

М.И. Богданова

ЗЕРТХАНАЛЫҚ ТЕСТ ЖҮЙЕЛЕРІ ҮШІН ҚОЙДЫҢ КАТАРАЛДЫ БЕЗГЕГІНЕ ҚАРСЫ ИММУНОГЛОБУЛИН АЛУ

Катаральды қой безгегіне ИФТ әдісін қою үшін иммуноглобулиндер әртүрлі әдістермен бөлініп, ең қолайлы әдісі анықталынды.

Кілт сөздер: катаральды қой безгегі, иммуноферментті талдау (ИФТ), диффузды преципитация реакциясы (ДПР)

M.I. Bogdanova

RECEIVING IMMUNOGLOBULIN TO THE VIRUS CATARRHAL FEVER SHEEP FOR LABORATORY TEST SYSTEMS

Developed various of methods for isolation of immunoglobulins with bluetongue, suitable for the production by ELISA

Key words: Catarrhal fever of sheep, enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), reaction of a diffusive pretsipitation (RDP).

УДК 619:616-07/619.3

М.И. Богданова

РГП "НИИ проблем биологической безопасности" КН МОН Республики Казахстан

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ИФА ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ АНТИГЕНА ВИРУСА КАТАРАЛЬНОЙ ЛИХОРАДКИ ОВЕЦ

Аннотация. Из антисыворотки к вирусу КЛЮ выделяли иммуноглобулины с использованием нескольких методов. На основе выделенного активного гамма-глобулина приготовлен вирусспецифический иммунопероксидазный конъюгат.

С применением приготовленных диагностических препаратов были проведены исследования по отработке ТФ-ИФА для обнаружения антигена вируса КЛЮ. В ходе, которых были отработанные оптимальные временные и температурные параметры постановки прямого варианта ИФА, подобраны буферные растворы и рабочие концентрации компонентов реакции, а также изучена чувствительность и специфичность полистироловых планшетов различных фирм-производителей.

С использованием полученных препаратов разработан метод ИФА, позволяющий выявлять группоспецифические антигены вируса блютанга в различных вируссодержащих материалах.

Ключевые слова: иммуноферментный анализ (ИФА), иммуноглобулин, конъюгат.

Введение

Группа возбудителей блютанга (синий язык, катаральная лихорадка овец) входит в состав *Orbivirus* семейства *Reoviridae*. Блютанг по определению МЭБ, отнесен к заболеваниям списка А, а также вирус блютанга и еще два вируса рода *Orbivirus* – Чангиола и Орунго отнесены ко 2-ой группе патогенности для человека. В настоящее время известны 24 серотипа возбудителя блютанга, которые вызывают сходную клиническую картину у зараженных восприимчивых животных. К вирусу восприимчивы овцы, крупный рогатый скот, олени, ламы и другие виды диких жвачных животных [1].