С.Сейфуллиннің 120 жылдығына арналған «Сейфуллин оқулары-10: Мемлекеттің индустриалды-инновациялық саясатын құрудағы бәсекеге қабілетті кадрларды дайындау келешегі мен ғылымның рөлі» атты халықаралық ғылыми-теориялық конференциясының материалдары//Материалы международной научно-теоретической конференции «Сейфуллинские чтения-10: «Новые перспективы подготовки конкурентоспособных кадров и роль науки в формировании индустриально-инновационной политики страны», посвященной 120-летию со дня рождения С. Сейфуллина. – 2014. – Т.1., ч.1. – Б. 141-142

АУСЫЛ ВИРУСЫНЫҢ ҚҰРЫЛЫМДЫҚ ЕМЕС ЗА РЕКОМБИНАНТТЫ АНТИГЕНІН ҚОЛДАНУ НЕГІЗІНДЕ ДИФФЕРЕНЦИАЛДЫ ДИАГНОСТИКАСЫ ҮШІН ИММУНОФЕРМЕНТТІ ТАЛДАУ

Мукантаев К.Н., Ашимов С.А., Бекзатова А.Б.

Дифференциалды диагностика вакцинацияланған жануарлардың жасырын вирус тасымалдаушылардан аусыл вирусының таралуын жойылуынын маңызды аспектісі. Дәстүрлі вирусологиялық және сериологиялық әдістермен вакцинациаланған күйіс қайыратын жануарлардан белгісіз жиі инфекция диагностикаланбайды. Сондықтан да Үкімет тарапынан терең зерттеулер жүргізілуде. Жүргізіліп жатқан иммуноферментті анализ әдісін қолданып келеді. Жұмыстың жасалу барысы вакцинацияланғаннан кейін он күн өткеннен кейін немесе ауруынан сауыққан жануарлардың сары суын қолдану арқылы жүзеге асырылады.

Ауру жұқтырылған және вакцинирленген жануарларда дифференциалды диагностикаға арнайы бирнеше тесттер жүйесі әзірленді. Тесттер құрылымдық емес ақуыздарды анықтауға негізделген. Қосымша қасиеттерге: құрылымдық белок антиденесіне, сериотиптерге телимді емес, ақуыз аусыл вирусының әр түрлілігінін қызыметін сақтайды. Әдебиеттердің басым көпшілігінде көрсетілгендей тест жүйелеріне ЗА ЗВ ЗС құрылымдық емес белоктарын қолданады.

Жұмыстың мақсаты: Жүргізілген тестілеудің нәтидесінен алынған аусыл вирусының құрылымдық емес ЗА рекомбинантты антигені ауру жануарлардың қан сарысуы қолдану;

Алынған аусыл вирусының құрылымдық емес ЗА рекомбинантты антигені ауру жануарлардың қан сарысуын ИФА нын жанама әдісін қолдану;

Зерттеу жабдықтары мен әдістері. Дефференциалды диагностика аусыл вирусының рекомбинантты құрылымдық емес антигенін тазалауда ИФА жанама әдісін қолданды. Концентрацияны өңдеу және иммобилизация қатты фазада жүргізіледі бекіту планшеттің беткі бос қабатында жүргізіледі.

ИФА жанама әдісін қою:

1. Иммобилизденген планшет сұйытылған антигенін А – 125 мкг/ мл қатарынан басталып Н- 0,7 мкг/ мл қатарынан аяқталады. рН – 9,5 болатын бикарбонат ерітіндісімен араластырылады. 12 сағатқа +4С инкубасцияға қоямыз. Инкубациядан кейін 4 рет рН -7,2 болатын фосфатты тұз ерітіндісімен шаямыз.

2. Планшеттін барлық ұяшықтарына 0,1 ден 0,5% жұмыртқа белогын құйып 37 С температурада 1 сағатқа инкубацияға қоямыз. Тағыда 4 рет рН -7,2 болатын фосфатты тұз ерітіндісімен шаямыз.

3. Алдын ала сарысуға сұйылтым жасалады. Ол үшін екі таза пробирканы алып біріншісіне рН -7,2 болатын 1мл фосфатты тұз ерітіндісін құйып ал екіншісіне бақылау сарысуды құйып 1:20 сұйылтым жасаймыз.

4. Иммунологиялық планшеттің барлық ұяшықтарына 0,1 мл сарысуды бір қатарына құйып шығамыз 37 С температурада 1 сағатқа инкубацияға қойып 4 рет рН -7,2 болатын фосфатты тұз ерітіндісімен шаямыз.

5. Е11-Н11және Е 12-Н12 басқа ұяшықтарынан басқа рН -7,2 болатын 0,1мл фосфатты тұз ерітіндісімен толтырып үстіне 0,1 мл антивидовитті конъюгатты құямыз. Планшетті қақпағымен жауып 37 С температурада 1 сағатқа инкубацияға қойып 4 рет рН -7,2 болатын фосфатты тұз ерітіндісімен шаямыз.

6. Барлық ұяшықтарға 0,1 мл субстрат ерітіндісін қосамыз. Субстрат ерітіндісі 8 мг ортофенилениаминнен 10 мл лимон қышқылы рН 4,5 және 50мкл 3% асқын тотығы болады. Планшетті жауып жарық түспейтін қараңғы жерде 15 минутқа инкубациялаймыз.

7. Реакцияны әрбір планшеттін ұяшығына 0,1 мл 2М күкірт қышқылын қосумен тоқтатады

8. Нәтижені көзбен немесе спектофотометрмен көреміз.Егер планшетте оң нәтиже болса ұяшықтар қою қоңыр түске боялады, ал теріс нәтиже кезінде түссіз болады.

Зерттеу нәтижелері мен тұжырымы

Тестілеуге алынған рекомбинантты құрылымдық емес ақуыз аусыл вирусының оң нәтижелі сарысу сынамасы мен ауру жануардан алынған сарысуды ИФТ жанама әдісін қолданылды Осы мақсатта иммунологиялық планшетті иммобилизденген рекомбинатты ақуыз мен сұйылтым жасап концентрациясы 125 мкг/мл ден 700 мкг/мл ге дейн. 1:20 сұйылтым жасалды.

Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде алынған аусыл вирусының құрылымдық емес 3А рекомбинантты антигені ауру жануарлардың қан сарысуымен телімді байланысады. Аусыл вирусының құрылымдық емес 3Арекомбинантты антигенін қолдану негізінде ауыл шаруашылық жануарлардың дефференциалды диагностикасы үшін иммуноферментті талдаудың жанама әдісінің негізгі шарттары оңтайландырылды.