

Ж.К. Курманбекова<sup>1</sup>, Ж.К. Кошеметов<sup>2</sup>, М.К. Мустафин<sup>1</sup>,  
Б.М. Мустафин<sup>1</sup>, К.Д. Алиханов<sup>3</sup>

<sup>1</sup>А.Байтұрсынов атындағы Қостанай мемлекеттік университеті,  
Қостанай қ., Қазақстан,

<sup>2</sup>Биологиялық қауіпсіздік проблемалары ғылыми-зерттеу институты,  
Гвардейский қ., Жамбыл облысы, Қазақстан

<sup>3</sup>Қазақ ұлттық аграрлық университеті, Алматы қ., Қазақстан

---

## БЛУТАНГ ВИРУСЫНА ҚАРСЫ ТӘНДІ ҚАН САРЫСУЫН АЛУ

---

**Түйіндеме.** Бұл мақалада блутанг вирусына қарсы тәнді қан сарысуын алу сынағы керсетілген. Блутанг вирусына қарсы тәнді қан сары суын алу үшін жұмыс барысында ағзасы таза 6-12 айлық қой және ешкі пайдаланылды. Тәнді қан сары суын алу кезінде малдарды гипериммундеу үшін үш әдіспен алынған антиген қолданылды. Гипериммундеу жүйесі бір-бірінен антигендердің енгізу әдістерінің өзгешілігімен ерекшеленеді. Тәжірибе нәтижесінде 0,45 миллимикронды сүзгісі бар Миллипор сүзгісімен тазартылған антиген тиімді екені дәлелденді. Осы антигенмен алынған блутанг вирусына қарсы қан сарысуы өзгешелігімен және белсенділігімен ерекшеленді, белсенділігі ДПР-да  $4,0 \log_2$  болды.

**Түйінді сөздер:** блутанг, иммундеу, қан сары суы, диффузды преципитация реакциясы, антиген.

...

**Аннотация.** В статье приведены результаты получения антисыворотки к вирусу блутанга. Для получения специфической сыворотки в опыте были использованы здоровые овцы и козы 6-12 мес. возраста. В процессе гипериммунизации животных были использованы антигены приготовленные тремя способами. Схема гипериммунизации животных между собой отличалась способами введения антигена. В результате для получения сыворотки оптимальным антигеном являлся антиген очищенной через Миллипор с фильтром 0,45 миллимикрон. Сыворотка, полученная данным антигеном, отличалась специфичностью и активностью. Активность полученной сыворотки в РДП составила  $4,0 \log_2$ .

**Ключевые слова:** блутанг, иммунизация, сыворотка крови, реакция диффузионной преципитации, антиген.

...

**Abstract.** This article presents the results of retrieving the antiserum to the virus of bluetongue. In the experiment, healthy sheep and goats of 6-12 months of age

were used to obtain specific serum for the bluetongue virus. When obtaining a specific serum in the process of hyperimmunization of animals we used antigens prepared in three ways. Scheme hyperimmunization animals differed between the methods of administration of the antigen. As a result, to obtain the optimal serum antigen we antigen purified through Millipore filter 0.45 millimicron. Specific serum the antigen differed in specificity and activity of serum obtained at the RDP amounted to  $4.0 \log_2$ .

**Keywords:** bluetongue, immunization, blood serum, diffusion precipitation reaction, antigen.

**Кіріспе.** Қазіргі таңда блутанг індеті ұсақ күйіс қайыратын малдарды жоғарғы деңгейде өлім-жітімге ұшыратып, экономикалық жағынан орасан зор шығын келтіреді. Блутангпен қой, ешкі, ірі қара малы және басқа да үй жануарлары, сонымен қатар жабайы күзендер ауырады [1-4]. Блутанг аурының негізгі клиникалық симптомдар, ол дене температурасының көтерілуі, ауыз қуысынан кеп мелшерде сілекей ағу, ерін мен тілдің ісінуі, тілдің цианозы болып табылады. Малдар блутангпен ауырған жағдайда еріні мен тілі әдетте көгілдір түсті болады, бірақ кейбір жағдайда бұндай көрініс кеп малдарда кездесе бермейді. Блутанг індетінің алғашқы симптомдарын малдың мұрын қуысынан сулы кілегей ағуы және тыныс алуы қиындай түсуімен байқауға болады [5].

Кейбір малдардың аяқ және тұяқ бөлімдері зақымданып, қаңқа бұлшық еттеріндегі дегенеративтік өзгерістерімен байқалады [6].

Блутанг алғаш рет Оңтүстік Африкада 1876 жылы тіркелген. Африкаға еуропалық асыл тұқымды сезімтал қойларды әкелумен аурудың енгізілуі қаупі артты. 1943 жылдан бастап ауру Африка құрлығында тіркеле бастады. 1943 жылы оның Кипр аралында сол жылы Палестина мен Сирия территорияларында эпизоотиялық ошақтары байқалды. 1944 жылдан бастап бұл ауруды Түркия мен Иранда диагностикалаған. 1948 жылы Америкада пайда болды, ал 1956 ж. Португалияның оңтүстігінде, Испанияда және 1962-1964 жылдары Оңтүстік Америка, 1972 ж. Египет елдерінде тіркелді. Ауырып өткен малдар қан сарысуында антиденелер

тек қойларда гана емес, сонымен қатар ірі қара малдарында, буйволдар мен ешкілерде де анықталады [7]. МЭБ бойынша блутанг А тізіміндегі ауруларға жатқызылды, сондай-ақ эпидемиологиялық қадағалау жөніндегі мемлекеттік комитеттің жіктемесіне сәйкес Ресейде блутанг вирусы және Orbivirus-Чангиол және Орунго тектес тағы екі вирус адам үшін патогендігі байқалып 2-ші топқа жатқызылған. Қазіргі уақытта блутанг қоздырғышының 26 серотипі белгілі [8,9]. Қойлардың жұқпалы блутанг ауруына зертханалық балау қою балаулық жиынтықтың ішіне кіретін диагностикалық препараттардың сапасына байланысты (тәндік антиген мен сарысу, иммуноглобулин, конъюгат). Мысалы, Ресей ғалымдары 1993 жылы қойлар арасында блутанг ошағынан 16 серотипті анықтады. Осы 16 серотип негізінде олар моноклоналды антиденелер ала отырып иммуноферментті талдау жасады, ол тек қана қойдың блутанг вирусының топтық тәндік антигенін және 16 серотипіне тәндік антиденені анықтауға мүмкіндік береді [10]. Осыған орай бұл жұмыста Тәжікстан Республикасы жерінде ауру қойдан бөлініп алынған блутанг вирусының «RT / RIBSP-07/16» штамы негізінде малдардан тәнді сарысу алу жолдары көрсетілген.

**Зерттеу материалдары мен әдістері.** Жұмыс барысында блутанг ауруының «RT / RIBSP-07/16» штамы пайдаланылды. Блутангке қарсы тәнді қан сарысуын дені сау 6-12 айлық қой және ешкіден алынды. Тәнді қан сарысуын алу үшін ең бірінші малдарды иммундедік. Ол үшін 6-8 тәуліктік тауық эмбрионының сарыуыз (ТЭС) қапшығында есірілген вирустан физиологиялық ерітіндіде 20% суспензияны дайындадық. Малдарды тазартылған блутанг вирусының антигенімен иммундеу жауырын алдына тері асты енгізту арқылы жүргізіледі, мелшері 2 см<sup>3</sup>, қоюлылығы 230 мкг/см<sup>3</sup>. Иммунделген малдар клиникалық бақылауға қойылып, дене температурасы күніне екі рет елшенді. Малдардың иммунделінгеннен кейін 1 ай өткен соң малдарды гипериммундеуді бастадық.

Малдарды гипериммундеу үшін келесі вирустық антигендер пайдаланылды:

1. ТЭС өсірілген вирустық суспензияны 10804 г 30 мин центрифугалап тазарттық, содан кейін суспензияның жоғарғы қабатын 0,45 миллимикронды сүзгісі бар Миллипор сүзгісімен тазарттық;

2. Эддингтонның ерітіндісіндегі блутанг вирусы бар қан суспензиясы ультрадыбыспен өңделді (30 сек, 20 кГц), соңынан 10804 г 30 мин центрифугалап тазартылды, жоғарғы қабаты антиген ретінде пайдаланылды;

3. Блутанг вирусымен залалданған VERO (жасыл маймыл бүйрегі) жасуша торшасы үш рет минус 40°C температурада қатырылып, бөлме температурасында ерітілді, содан кейін 10% аммоний сульфатымен және 3% NaCl қосып 100 есе қояландырылды, соңынан 10804 г 30 мин центрифугалап тазартылды, жоғарғы қабаты антиген ретінде пайдаланылды.

**Зерттеу нәтижелері және талдау.** Жұмыс барысында қой және ешкіден блутанг індетіне қарсы тәнді сарысу алу үшін жоғарғыдағы әдістермен дайындалған үш антиген қолданылды.

Малдарды гипериммундеу төмендегі кестелердегі көрсетілген схемалар бойынша жүзеге асырылды (1 кесте).

1 Кесте бойынша блутанг вирусына қарсы тәнді және белсенді қан сарысуы қойдан алынды, белсенділігі ДПР-да 4,0  $\log_2$  құрады. Сонымен қатар алынған тәнді қан сарысу қалыпты антигенмен кері нәтиже берді, ал ешкіден осы вирусқа қарсы қан сарысуының белсенділігі 2,0  $\log_2$  болды.

Екінші әдіспен дайындалған блутанг вирусының антигеніне қарсы сарысу алу 2 кестеде көрсетілген (2 кесте).

Кестенің нәтижесі бойынша, гипериммундеу соңында қой мен ешкі қан сарысуының белсенділігі ДПР-да 1,0 және 2,0  $\log_2$  құраса, ал қалыпты антигенменде белсенділігі 1,0  $\log_2$  құрады. Сондықтан алынған қан сарысуы жарамсыз деп табылды.

Сонымен қатар блутанг вирусының үшінші әдісімен жасалған антигенге қарсы қан сарысу алу нәтижесі 3 кестеде көрсетілген.

Қойдан алынған қан сарысуының белсенділігі ДПР-да 1,0  $\log_2$  көрсетті, ал ешкіден алынған қан сарысуының белсенділігі екі есе төмен болды 0,5  $\log_2$  құрады. Алынған қан сарысулары тәнділігімен ерекшеленді.

**1 Кесте - Блутанг вирусына қарсы сарысуды бірінші нөмірлі антигенмен алу схемасы және оның белсенділігі**

Жануардың түрі	Гипериммундеу үшін қолданылатын антиген	Антиген енгізу			Қан сары суының ДПР-ындағы белсенділігі, log <sub>2</sub>	
		Мөлшері, см <sup>3</sup>	Арақашықтығы, тәулік	Жилігі	ТА	ҚА
Қой	Бірінші әдіспен дайындалған антиген	4	8	1	1,0	-
		5	7	2	2,0	-
		6	10	3	4,0	-
Ешкі	құрамында 10 % сапонин	4	7	1	-	-
		5	13	2	-	-
		6	20	3	2,0	-

Ескерту: 1. «-» - теріс нәтиже. 2. «ДПР» - диффузды преципитациялық реакция. 3. «ТА» - төнді антиген. 4. «ҚА» - калыпты антиген.

**2 Кесте – Блутанг вирусына қарсы сарысуды екінші нөмірлі антигенмен алу жүйесі және оның белсенділігі**

Жануардың түрі	Гипериммун-деу үшін қолданылатын антиген	Антиген енгізу			Қан сарысуының белсенділігі, log <sub>2</sub>	
		Мөлшері, см <sup>3</sup>	Арақашықтығы, тәулік	Жилігі	ТА	ҚА
Қой	Екінші әдіспен дайындалған антиген	5	7	1	-	-
		7	7	2	-	-
		10	7	3	1,0	1,0
Ешкі		5	7	1	-	-
		5	7	2	-	-
		7	7	3	2,0	1,0

Ескерту: 1. «-» - теріс нәтиже. 2. «ДПР» - диффузды преципитациялық реакция. 3. «ТА» - төнді антиген. 4. «ҚА» - калыпты антиген.

**3 Кесте – Блутанг вирусының үшінші әдіспен алынған антигеніне қарсы қан сарысуының нәтижесі**

Жануар түрі	Гипериммундеу үшін қолданылатын антиген	Антиген енгізу			Қан сарысуының белсенділігі, log <sub>2</sub>	
		Мөлшері, см <sup>3</sup>	Арақашықтығы, тәулік	Жилігі	ТА	ҚА
Қой	Үшінші әдіспен дайындалған антиген	3	7	1	-	-
		5	7	2	-	-
		7	7	3	1,0	-
Ешкі		5	7	1	-	-
		5	7	2	-	-
		5	7	3	0,5	-

Ескерту: 1. «-» - теріс нәтиже. 2. «ДПР» - диффузды преципитациялық реакция. 3. «ТА» - төнді антиген. 4. «ҚА» - калыпты антиген.

**Қорытынды.** Блутанг вирусына қоюланған және тазаланған тәнді антиген алу кезіндегі жүргізілген әдістемелердің ішіндегі ең қолайлы әдіс болып ТЭС өсірілген вирустық суспензияны 10804 g 30 мин центрифугалап тазарттық, содан кейін суспензияның жоғарғы қабатын 0,45 миллимикронды сүзгісі бар Миллипор сүзгісімен тазарту болып табылды. Осы антигенді пайдалана отырып қойдан белсенді және тәнді қан сарысуы алынды, белсенділігі ДПП-сында  $4,0 \log_2$  құрады.

### Әдебиеттер

1 *Foster. N.M.* Bluetongue in sheep and cattle: efficacy of embryonating chicken eggs in viial isolations // *Am. J. Vet. Res.* -1972.-33(1).-P. 77-81.

2 *N.M. Foster, et. al.* Temporal relationships of viremia, interferon activity, and antibody responses of sheep infected with several bluetongue virus strains // *Am. J. Vet. Res.* - 1991. - 52(2).-P. 192-196.

3 *N.J. MacLachlan, et. al.* The pathogenesis of experimental bluetongue virus infection of calves // *Vet. Pathol.* - 1990. - 27(4). - P. 223-229.

4 *S.J. Wechsler, A.J. Luedke.* Detection of bluetongue virus by using bovine endothelial cells and embryonated chicken eggs // *J. Clin. Microbiol.* - 1991. -29(1).-P. 212-214.

5 *R.S. Singer, N.J. MacLachlan, T.E. Carpenter.* Maximal predicted duration of viraemia in bluetongue virus-infected cattle // *J. Vet. Diagn. Invest.* -2001.- 13.-P. 43-49.

6 *M. Koumbati, et al.* Duration of bluetongue viraemia and serological responses in experimentally infected European breeds of sheep and goats // *Vet. Microbiol.* -1998.-64.-P. 277-285.

7 *K.R. Bonneau, et al.* Duration of viraemia infectious to *Culicoides sonorensis* in bluetongue virus-infected cattle and sheep // *Vet. Microbiol.* - 2002. - 88(2). - P. 115-125.

8 *Вишняков И.Ф. и др.* Идентификация и типирование вируса катаральной лихорадки овец // *Ветеринария.* - 1995. - №4. - С. 20-25.

9 *F. Dal Pozzo, et al.* Experimental reproduction of bluetongue virus serotype 8 clinical disease in calves // *Vet. Micr.* - 2009. - 136. - P. 352-358.

10 *Стрижаков А.А.* Получение и использование моноклональных антител к вирусу катаральной лихорадки овец; дисс. ... канд.вет.наук: 16.00.03. - Покров. - 1994. - 148 с.

**Курманбекова Ж.К.** - ветеринариялық медицина мамандығының Ph.D докторанты

**Кошметов Ж.К.** - биология ғылымдарының докторы

**Мустафин М.К.** - профессоры, ветеринария ғылымдарының докторы

**Мустафин Б.М.** - доценті, ветеринария ғылымдарының докторы

**Алиханов К.Д.** - профессоры, Ph.D докторы