

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN
SERIES OF AGRICULTURAL SCIENCES

ISSN 2224-526X

Volume 5, Number 23 (2014), 15 – 19

TECHNOLOGICAL ASPECTS OF PRODUCTION OF DIAGNOSTIC PREPARATIONS FOR THE CONTROL OF EPIZOOTIC SITUATION ON RABIES ANIMALS IN KAZAKHSTAN

Zh. M. Batanova, N. N. Akhmetsadykov, D. M. Khussainov, S. Zhusambaeba

¹SPE «Antigen», the village of Abai, Karasay district, Almaty region, Kazakhstan;

²Kazakh national agrarian university, Almaty, Kazakhstan;

National reference center for veterinary medicine, Astana, Kazakhstan.

E-mails: www.antigen.kz

Key words: rabies virus antigen, serological diagnosis.

Abstract. Developed in the Republic of Kazakhstan diagnostic kits of diagnostic rabies immunoglobulin precipitating (IDAP) and immunoglobulin diagnostic rabies fluorescent (IDAF) has been used successfully in the diagnosis of rabies in animals in veterinary laboratories. Epizootic situation on rabies is characterized by the presence of an annual disadvantaged areas and affected population in all regions of Kazakhstan.

УДК 619:616.9:636.1(574.51)

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОИЗВОДСТВА ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ КОНТРОЛЯ ЭПИЗОТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО БЕШЕНСТВУ ЖИВОТНЫХ В КАЗАХСТАНЕ

Ж. М. Батанова¹, Н. Н. Ахметсадыков², Д. М. Хусаинов², С. И. Жусамбаева³

¹НПП «Антиген», село Абай, Карасайский район, Алматинская область, Казахстан;

²Казахский национальный аграрный университет, Алматы, Казахстан,

РГП на ПХВ «Национальный референтный центр по ветеринарии» КВКиН МСХ РК, Астана, Казахстан

Ключевые слова: бешенство, вирус, антиген, серологическая диагностика.

Аннотация. В работе приведена эпизоотическая ситуация и технологические аспекты обеспечения диагностических исследований по бешенству животных в Казахстане. В настоящее время при изучении заболеваемости бешенством животных используются производимые в Казахстане наборы для диагностики бешенства в реакции диффузной преципитации и метод иммунофлуоресценции. С их помощью проводится своевременный контроль за эпизоотической ситуацией по бешенству.

Введение. Ежегодно от бешенства умирает более 55 000 человек, в основном, в Азии и Африке, 40% людей, подвергшихся укусам предположительно бешеных животных, – это дети в возрасте до 15 лет [1].

В Республике Казахстан эпизоотическая ситуация по бешенству характеризуется ежегодными случаями регистрации данного заболевания [2].

Целью наших исследований явилось изучение эпизоотической ситуации по бешенству животных в Казахстане.

Материалы и методы исследований

Работа выполнялась в отделе вирусологии научно-производственного предприятия (НПП) «Антиген», в лаборатории РГП на ПВХ «Национальный референтный центр по ветеринарии» КВКиН МСХ РК.

Диагноз устанавливали постановкой реакции диффузной преципитации и иммунофлуоресценции по разработанной нами методике с подтверждением биопробой. Исследования по бешенству проводили согласно ГОСТ 26075-84.

Результаты исследований

С 2001 года в научно-производственном предприятии «Антиген» были начаты исследования по усовершенствованию технологии изготовления диагностических антирабических иммуноглобулинов для диагностики бешенства животных методом реакции диффузной преципитации (РДП) и реакции иммунофлуоресценции (РИФ), которые в 1970–1980 годах были разработаны и внедрены в практику ветеринарных лабораторий сотрудниками лаборатории ветеринарной вирусологии АЗВИ под руководством профессора К. Н. Бучнева [3]. По результатам проведенных исследований нами получены следующие охранные документы на способы получения иммуноглобулина диагностического антирабического преципитирующего для РДП и иммуноглобулина диагностического флуоресцирующего для РИФ: 1. Способ получения антигена для диагностики бешенства № 23848; 2. Способ получения антирабической сыворотки № 23852; 3. Способ получения иммуноглобулина диагностического антирабического преципитирующего № 23849; 4. Способ получения иммуноглобулина диагностического антирабического флуоресцирующего № 23850 [6–9].

На данные препараты разработана нормативно-техническая документация, они зарегистрированы в государственном реестре Республики Казахстан: 1. «Иммуноглобулин диагностический антирабический преципитирующий (ИДАП) (рисунок 1) для диагностики бешенства методом диффузной преципитации», номер регистрации – РК-ВП-2-0870-08, 24.06.2008; 2. «Иммуноглобулин диагностический антирабический флуоресцирующий (ИДАФ) (рисунок 2) для диагностики бешенства методом иммунолюминесцентной микроскопии (ПМИМ)», номер регистрации – РК-ВП-2-0874-08, 30.06.2008. Они поставляются во все ветеринарные диагностические лаборатории республики. Кроме того, эти препараты поставляются в Республики Кыргызстан, Таджикистан, Узбекистан.



Рисунок 1 – Иммуноглобулин диагностический антирабический преципитирующий (ИДАП) для диагностики бешенства методом диффузной преципитации



Рисунок 2 – Иммуноглобулин диагностический антирабический флуоресцирующий (ИДАФ) для диагностики бешенства методом иммунолюминесцентной микроскопии (ПМИМ)

Сущность разработанной технологии получения диагностических наборов заключается в том, что полученный культуральным методом вирусодержащий материал подвергали обработке ультразвуком при 15-20 КГц в течение 25-30 минут до получения гомогенной суспензии, затем очищали центрифугированием при небольшой скорости (4000 g, 15 мин) для удаления крупных посторонних частиц, далее центрифугировали при высокой скорости (20 000 g, 30 мин) для осаждения вирусных частиц.

Для получения антирабической сыворотки отбирали клинически здоровых, упитанных ослов, полученных из благополучных по инфекционным и инвазионным заболеваниям хозяйств. Рабический антиген для иммунизации получали смешивая вирусную массу в пропорции 1:1 с неполным адьювантом Фрейнда. Иммунизацию животных осуществляли подкожными инъекциями рабического антигена в 6 точек (по 0,5 см³): слева и справа в область шеи, спины, крупа по схеме. Нарастание титра антирабических антител проверяли в пробах сыворотки крови, взятой индивидуально от каждого животного в процессе иммунизации по тестам РДП и РИФ. При достижении преципитационного титра 1:32-1:128 через 14 дней (118 день от начала иммунизации) проводили кровозъятие по полной производственной норме (1800 см³ на 100 кг массы).

Антирабический иммуноглобулин выделяли методом ультрафильтрации из высокоактивной без следов гемолиза сыворотки, используя кассетную систему «Pellicon». Предварительно антирабическую сыворотку прогревали при температуре 56-58°C в течение 30 минут, затем выделяли глобулиновую фракцию методом ультрафильтрации, с последующим лиофильным высушиванием. При получении ИДАФ дополнительно проводили окрашивание флуорохромом по разработанной методике.

В настоящее время нами проводятся исследования по разработке диагностических препаратов на основе моноклональных антител к глико- и нуклеопротеидным антигенам для субтипирования вирусов бешенства методом иммунофлуоресценции, а также исследования по разработке тест-системы для диагностики бешенства методом иммуноферментного анализа.

Диагностика бешенства в республиканских ветеринарных лабораториях проводится с использованием РДП, РИФ и биопробы, в Национальном референтном центре по ветеринарии дополнительно проводится генотипирование с использованием ПЦР.

Нами проведено сравнительное изучение диагностической ценности биопрепаратов ИДАП в РДП на агаровом геле (рисунок 3) и ИДАФ на РИФ (рисунок 4) и биопробы при бешенстве. Диагностическую ценность проверяли на 17 пробах мозга животных, поступивших в Национальный референтный центр по ветеринарии.



Рисунок 3 – Метод диффузной преципитации (РДП)

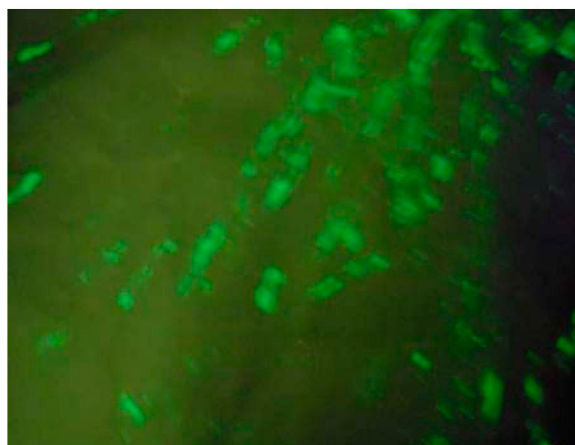


Рисунок 4 – Прямой метод иммунолюминесцентной микроскопии (ПМИМ)

Сравнительная диагностика бешенства в РДП, РИФ и биопробе, проведенные нами, приведены в таблице 1.

Как видно из данных таблицы 1, из 17 исследованных проб, положительными в РДП были 12 проб, в РИФ – 14 проб, в биопробе – 14 проб. Таким образом, наиболее чувствительными из приведенных методов диагностики являются РИФ и биопроба. Однако, РДП является единственным методом диагностики при исследовании загнившего мозга (проба № 2).

Далее нами была изучена динамика распространения бешенства за период с 2008 по 2013 годы, которая приведена в таблице 2.

Таблица 1 – Сравнительная диагностика бешенства в РДП, РИФ и биопробе

Номера проб	Методы исследования			Номера проб	Методы исследования		
	РДП	РИФ	Биопроба		РДП	РИФ	Биопроба
1 (собака)	+	+	+	10 (лисица)	+	+	+
2 (собака)	+	–	–	11 (КРС)	+	+	+
3 (КРС)	–	–	–	12 (собака)	+	+	+
4 (КРС)	+	+	+	13 (собака)	–	+	+
5 (собака)	+	+	+	14 (волк)	+	+	+
6 (собака)	–	+	+	15 (собака)	+	+	+
7 (овца)	+	+	+	16 (КРС)	–	+	+
8 (кошка)	+	+	+	17 (лиса)	+	+	+
9 (собака)	–	–	–	Итого:	12	14	14

Таблица 2 – Распространение бешенства по Республике Казахстан за 2008–2013 гг.

Годы	Неблагополучные пункты	Количество выявленных животных
2008	49	55
2009	27	27
2010	111	113
2011	45	63
2012	18	24
2013	55	137
Общее количество	305	419

Как видно из таблицы 2, бешенство ежегодно регистрируется в Казахстане. За период наблюдения наибольшее распространение бешенства было зарегистрировано в 2010 году, когда количество неблагополучных пунктов составило 111, а количество выявленных животных 113. Наибольшее поражение животных бешенством зарегистрировано в 2013 году – 137 животных.

Таким образом, разработанные нами диагностические препараты позволяют контролировать эпизоотическую ситуацию по бешенству в Республике Казахстан, и своевременно осуществлять меры и по профилактике и ликвидации заболевания. В настоящее время нами проводится работа по повышению активности существующих и разработке новых диагностических препаратов.

Заключение.

1. Разработанные в Республике Казахстан диагностические наборы ИДАП и ИДАФ успешно применяются при диагностике бешенства животных в ветеринарных лабораториях.

2. Эпизоотическая ситуация по бешенству характеризуется ежегодным наличием неблагополучных пунктов и заболевших животных во всех регионах Казахстана.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Ахметсадыков Н.Н., Айтжанов Б.Д., Хусаинов Д.М., Батанова Ж.М. Бешенство // Журнал Ветеринария. – Алматы, 2010. – № 5. – С. 40-46.
- [2] Батанова Ж.М., Әбдіқадырова Ә.М., Ахметсадыков Н.Н. Қазақстан Республикасындағы құтырықтың індеттік жағдайы // Научно-практический журнал «Ветеринария». – 2011. – № 2(18). – С. 35-39.
- [3] Смаковская Г.Г. Особенности диагностических тестов при бешенстве // Научно-практический журнал «Ветеринария». 2013. – № 1(29). – С. 33-36.
- [4] Ахметсадыков Н.Н., Батанова Ж.М., Икранбегийн Р. и др. Способ получения антигена для диагностики бешенства // Инновационный патент № 23848. – Бюл. № 4. – 2011.
- [5] Ахметсадыков Н.Н., Батанова Ж.М., Икранбегийн Р. и др. Способ получения иммуноглобулина диагностического антирабического преципитирующего // Инновационный патент № 23849. – Бюл. № 4. – 2011.
- [6] Ахметсадыков Н.Н., Батанова Ж.М., Икранбегийн Р. и др. Способ получения иммуноглобулина диагностического антирабического флуоресцирующего // Инновационный патент № 23850. – Бюл. № 4. – 2011.
- [7] Ахметсадыков Н.Н., Батанова Ж.М., Икранбегийн Р. и др. Способ получения антирабической сыворотки // Инновационный патент № 23852. – Бюл. № 4. – 2011.

REFERENCES

- [1] Ahmetsadykov N.N., Ajtzhанov B.D., Husainov D.M., Batanova Zh.M. Beshenstvo. Zhurnal Veterinarija. Almaty, 2010. N 5. S. 40-46.
- [2] Batanova Zh.M., Әбдіқадырова Ә.М., Ahmetsadykov N.N. Қазақстан Республикасындағы құтыруқтың индеттік зhardайы. Nauchno-prakticheskij zhurnal «Veterinarija». 2011. N 2(18). S. 35-39.
- [3] Smakovskaja G.G. Osobennosti diagnosticheskikh testov pri beshenstve. Nauchno-prakticheskij zhurnal «Veterinarija». 2013. N 1(29). S. 33-36.
- [4] Ahmetsadykov N.N., Batanova Zh.M., Ikranbegijn R. i dr. Sposob poluchenija antigena dlja diagnostiki beshenstva. Innovacionnyj patent N 23848. Bjul. N 4. 2011.
- [5] Ahmetsadykov N.N., Batanova Zh.M., Ikranbegijn R. i dr. Sposob poluchenija immunoglobulina diagnosticheskogo antirabicheskogo precipitirujushhego. Innovacionnyj patent N 23849. Bjul. N 4. 2011.
- [6] Ahmetsadykov N.N., Batanova Zh.M., Ikranbegijn R. i dr. Sposob poluchenija immunoglobulina diagnosticheskogo antirabicheskogo fluorescirujushhego. Innovacionnyj patent N 23850. Bjul. N 4. 2011.
- [7] Ahmetsadykov N.N., Batanova Zh.M., Ikranbegijn R. i dr. Sposob poluchenija antirabicheskoy syvorotki. Innovacionnyj patent N 23852. Bjul. N 4. 2011.

**ҚАЗАҚСТАНДАҒЫ ЖАНУАРЛАР ҚҰТЫРЫҒЫ БОЙЫНША
ЭПИЗООТИЯЛЫҚ ЖАҒДАЙДЫ БАҚЫЛАУҒА АРНАЛҒАН ДИАГНОСТИКАЛЫҚ
ПРЕПАРАТТАРДЫ ӨНДІРУДІҢ ТЕХНОЛОГИЯЛЫҚ МҮМКІНШІЛІКТЕРІ**

Ж. М. Батанова¹, Н. Н. Ахметсәдықов², Д. М. Хусаннов², С. И. Жусамбаева³

¹«Антиген» «Антиген» ҒӨК, Абай ауыл, Қарасай ауданы, Алматы облысы, Қазақстан;

²Қазақ ұлттық аграрлық университеті, Алматы, Қазақстан,

³Ұлттық референтный орталық ветеринариясы, Астана, Қазақстан

Тірек сөздер: бешенство, вирус, антиген, серологическая диагностика.

Аннотация. Қазақстан Республикасында әзірленген ПАДИ және ФАДИ препараттары жануарлардың құтырығын балау үшін ветеринариялық зертханаларда кеңінен қолданылады. Қазақстанның барлық аймағында құтырық бойынша эпизоотиялық жағдайы жылына сәтсіз пунктер және індетке шалдыққан жануарлардың тіркелуімен сипатталады.

Поступила 15.09.2014