

УДК: 619: 616. 988.43: 616-097

## ELISA НИНГ КОНКУРЕНТ ТЕСТ КОМПОНЕНТЛАРИ ЁРДАМИДА ОҚСИЛ КАСАЛЛИГИГА ЭМЛАШ ТУФАЙЛИ ҲОСИЛ БУЛГАН ИММУН ФОННИ АНИКЛАШ

*Ассистентлар: Аллазов А.С. Жуманазаров А.*

*Самарқанд давлат ветеринария медицинаси, чорвачилик ва биотехнология университети Эпизоотология ва инфекцион касалликлар кафедраси*

**Аннотация.** ИФА в основном, представляет собой твердо фазный иммуноферментный анализ, в котором фермент связывается с анти-иммуноглобулином. Количественные измерение меченных ферментов антииммуноглобулином производится путем колориметрического оценки, после добавления субстрата, который изменяет цвет под действием фермента.

**Annotation.** IFA mainly represents with solid immunofluorescence analyze, that the leaven linkable with anti-globulin. The quantitative measuring operation tagged fermentes with anti-immunoglobulin, product with colorimeters results, after add substrate, which change color under effect the ferments.

**Мавзунинг долзарблиги.** Ҳайвонларнинг вирусли касалликларига диагноз кўйишда антиген ва антителоларга фермент билан белги куйиш усуллари кенг кўлланила бошланди. Кафедрамиз қошидаги замонавий аппаратуралар билан жихозланган лабораторияда ELISA реакциясини конкурент тест усулида куйиш максидида, Пайариқ тумани А.Яссавий махалласи худудида жойлашган «Бибисора фермер хўжалигига тегишли, бўлган ва оксил касаллигига 10.01.2019 йилда эмланган йирик шоҳли ҳайвонларнинг 100 бошидан қон намуналари келтирилди. Барча намуналардан қон зардоб «сывороткаси» ажратиб олинган, гемолизга учраган 7та пробиркадаги қон намуналари 15 дақиқа давомида 3000 айл/ дақиқа центрифугадан утказилган барча намуналар махсус қоида асосида рақамланди, унда вилоят, туман, қайси фуқоролар йиғинига тегишли эканлиги ва қон олинган ҳайвоннинг идентификацион номери ёзиб чиқилди. ELISA реакциясини конкурент тест усулида куйиш учун махсус таёрларлик кўрилган белгиланган СОП-га (стандартное операционные процедуры) риоя қилган ҳолда ишни бажаришга киришдик. Диагностикум ID.VET (INNOVATIVE Diagnostics) томонидан Францияда ишлаб чиқарилган бўлиб FMDNSPC ВЕРСИЯ 09.14 RU яни ID Screen R FMD NSP Competition, дан иборат эди.

**Материаллар ва методлар.** Оксил билан табиий касалланиши натижасида пайдо булган антитело (Структурасиз оксил) ни зардоб ёки плазмада ИФТ конкурент тест С-ELISA IVDET услубида текшириш куйдагича бажарилди.

Диагностикум таркибида мавжуд булган компонентлардан планшет олиниб:

1. Микропланшетга куйдик
  - а. Буфер-18 эритмадан (Dilution buffer) барча лункага (жами 96 лунка) 50 мкл дан дозатор ёрдамида куйиб чиқилди.
  - б. Мусбат (positive control) назоратдаги зардобдан А-1 ва В-1 лункаларга 30мкл;
  - с. Манфий (negative control) назоратдаги зардобдан С-1 ва Д-1 лункаларига 30 мкл;
  - д. Текшириладиган намуналардан қолган барча лункаларга 30 мкл дан куйилди.
2. Микропланшет +37<sup>0</sup> С (±3<sup>0</sup>С ) да 2 соат (±10) инкубация қилинди.
3. Микропланшет, таёрланган ювувчи эритма (wash Solution 2ОХ) (1/20) билан (WASHER аппаратида) 5 марта ювилди (хар лункага 300 мкл х 96=28.8 мл) ( ювувчи эритмани деионлашган сувда 1\20 нисбатда тайёрладик.
4. ( Конюгат буфер-13 эритмасидан 1\10 нисбатта таёрладик). Тайёрланган конюгатни ( Konsentrated conjugate 10 х (1/10) эритмасидан барча лункага 100 мкл дан куйдик.
5. Микропланшет +21<sup>0</sup> Сда (±5С) да 30 (±3С) дақиқа инкубация қилинди.
6. 3- босқични такрорладик.
7. Субстрат эритмасидан (substrate Solution) барча лункага 100 мкл дан куйдик
8. Микропланшет 21<sup>0</sup> С (±5С) да 15 (±2) да дақиқа қоронғу жойда инкубация қилинди.
9. Реакцияни тўхтатиш учун стоп-реагент (Stop Solution) эритмасидан барча лункага 100мкл дан куйдик
10. READER АППАРАТИДА (450нм ёрдамида ) натижаларни ўқидик

**Татқиқот натижалари ва тахлили.** ELISA – натижаларини интерпретацияси.Йирик шохли ҳайвонлар оқ сил билан табиий касалланиш натижасида зардоб ёки плазма таркибида пайдо бўлган антителони яъни структурасиз оқсилни ELISАнинг конкурент тест усулида С-ELISA ID VET диагностикалари ёрдамида аниқлаш натижаларини тахлил қилиш.

(Жадвал N1)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A +	0,054	0,81	0,89	0,82	0,728	0,733	0,887	0,894	0,708	0,834	0,774	0,887
B +	0,065	0,849	0,976	0,748	0,743	0,785	0,976	0,773	0,676	1,273	0,761	1,054
C -	1,068	1,212	0,922	0,804	0,763	0,792	0,707	0,811	0,674	0,658	0,813	0,997
D -	1,124	0,771	0,73	0,846	0,857	0,682	0,814	0,764	0,856	0,716	0,747	1,01
E	0,687	0,757	0,856	0,763	0,711	0,922	1,014	0,623	0,802	0,744	1,195	0,996

F	0,841	0,902	0,726	0,865	0,962	0,914	1,004	0,668	1,079	0,859	0,957	1,108
G	0,922	0,795	0,74	0,959	0,852	0,786	0,849	0,739	0,811	0,816	0,782	0,751
H	0,86	0,754	0,616	0,807	0,63	0,815	0,76	0,725	0,819	0,734	0,762	0,812

1) Манфий назорат ( $K^-$ ) ни ўртача зичлигини ҳисоблаш формуласи:  
 $03K \geq 0,7$

Яни  $C1$  ва  $D1$  лункаларига куйилган манфий назорат ( $K^-$ ) ни ўртача зичлигини кўйидагича топдик ( $C1+D1$ ): $2 \Rightarrow 0,7$

2) Мусбат назорат ( $H^+$ ) ни ўртача зичлигини ҳисоблаш 2- боскичда бўлиб куйидаги формулалар ёрдамида топдик

2.1.  $A1$  ва  $B1$  лункаларига куйилган мусбат назорат ( $K^+$ ) ни ўртача зичлигини топдик ( $A1+B1$ ): $2 = 03K^+$

2.2  $03K^+ : 03K^- < 0,3$

3)  $S/N\% = \frac{\text{Намуна ўртача зичлиги (оз)}}{\text{Манфий назоратни ўртача зичлиги (03к)}} \times 100$

**Хулоса.** Олинган натижа 50% гача ёки тенг бўлса, натижа ижобий (+) яни антитело (Структурасиз оксил) мавжуд демак, ҳайвон табиий касалланган ҳисобланади.

Агар натижа 50% - дан юкори бўлса, натижа манфий (-) яни антитело (Структурасиз оксил) йук демак, ҳайвон касалланмаган саналади. Натижалар шундан далолат кўрсатдики мазкур хўжаликда йирик шохли ҳайвонлар орасида оксил касаллиги билан табиий касалланиш бўлмаганлигини кўрсатди.

### Фойдаланилган адабиётлар рўйхати.

1. N.James Maclachlan, Edvard J.Dubovi "Veterinary virology" Fourth Edition, 2011. С.431-434.

2.Бессарабов Б.Ф, А.А.Вашутин. Инфекционные болезни животных. М.Колос, 2007. с 219-228.

3.Монсеенко Л.С. Инфекционные заболевания домашних животных. Ростов-на-Дону <<Феникс>> 2015. с 98-99.

4. AA, Qambarov, A. S. Allazov, and Hakimov Sh. "KARP BALIQLARI AEROMONOS KASALLIGINI DAVOLASH VA MAXSUS PROFLAKTİKASIDA PVENTI PREPARATINING SAMARADORLIGI." *AGROBIOTEXNOLOGIYA VA VETERINARIYA TIBBIYOTI ILMIY JURNALI* (2022): 231-233.

5.Баходирович, Озод. "АЛЛАЗОВ СА и др. ОСТРЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ ВАРИКОЦЕЛЕ." *ЖУРНАЛ БИОМЕДИЦИНЫ И ПРАКТИКИ* 7.1 (2022).

6.Рузиев, Зоҳид Эгамбердиевич, Жонибек Хайруллаевич Курбанов, and Анвар Салахович Аллазов. "ЙИРИК ШОХЛИ ҲАЙВОНЛАР ЛЕЙКОЗИДАН ХЎЖАЛИКЛАРНИ СОҒЛОМЛАШТИРИШ ТАЖРИБАСИ." *ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ И ЖИВОТНОВОДСТВА* 1.2 (2021).

- 7.Salimov X.S., Qambarov A.A., Salimov I.X., "Epizootologiya va infeksiyon kasalliklar" darslik 2021 yil. Lesson Press MChJ nashriyoti.
- 8.Salimov X.S., Qambarov A.A. "Epizootologiya" darslik 2016 yil. F.Nasimov nashriyoti
- 9.Klichov Odil. "BRUTSELLYOZNI DIAGNOSTIKASI." *VETERINARIYA MEDITSINASI* (2023).
- 10.Klichov Odil. "BRUTSELLYOZ QO'ZG'ATUVCHISINI O'RGANILISH TARIXI." *VETERINARIYA MEDITSINASI* (2023).
- 11.Klichov Odil."BRUTSELLYOZNI EPIZOOTOLOGIYASI." *VETERINARIYA MEDITSINASI* (2023).
- 12.Egamberdiyevich, Ruziyev Zohid, Klichov Odil Ikhomovich, and Allazov Anvar Salokhovich. "Sheep Brucellosis Is A Dangerous Disease (Literature Review)." *Academicia Globe* 2.12 (2021): 11-13.
- 13.Ikhomovich, Klichov Odil, Allazov Anvar Salokhovich, and Nurgaliyeva Janar Sarsengaliyevna. "Methods of checking for brucellosis in sheep and prevention measures." *ACADEMICIA: An International Multidisciplinary Research Journal* 11.10 (2021): 825-828.
- 14.Klichov, O. I., and A. S. Allazov. "BRUTSELLYOZNI SEROLOGIK TEKSHIRISH USULI VA NOSOG'LOM XO'JALIKNI SOG'LOMLASHTIRISH TADBIRLARI." (2023): 25-28.
- 15.Klichov, Odil. "BRUTSELLOZNI TEKSHIRISH USULLARI VA OLDINI OLISH TADBIRLARI." *VETERINARIYA VA CHORVACHILIK SOHASIDAGI YUTUQLAR MAVJUD MUAMMOLAR VA ULARNING YECHIMI* (2021).
- 16.Klichov, Odil. "Biological Drugs Used in Veterinary Medicine Against Infectious Diseases and Their Types." *EUROPEAN JOURNAL OF LIFE SAFETY AND STABILITY (EJLSS)* (2021).
- 17.Klichov, Odil. "VETERINARIYA MIKROBIOLOGIYASI VA IMMUNOLOGIYASI FANIDAN AMALIY MASHG'ULOTLAR USLUBIY QO'LLANMA." *NAVRO'Z POLIGRAF* (2020).
- 18.Klichov, Odil. "VETERINARIYA MIKROBIOLOGIYASI FANIDAN LABORATORIYA MASHG'ULOTLARINI BAJARISH." *NAVRO'Z POLIGRAF* (2021).
- 19.Klichov, Odil. "VETERINARIYA MIKROBIOLOGIYASI VA IMMUNOLOGIYASI FANIDAN AMALIY VA LABORATORIYA MASHG'ULOTLARNI BAJARISH BO'YICHA USLUBIY QO'LLANMA." *NAVRO'Z POLIGRAF* (2022).