

## ОТРАБОТКА УСЛОВИЙ ПОСТАНОВКИ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ТРИХИНЕЛЛЕЗА

*Акибеков О. С. – кандидат ветеринарных наук, старший преподаватель АО «КазТУ имени С.Сейфуллина» г. Астана*

*Лидер Л. А. - кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры ветеринарной медицины АО «КазТУ имени С.Сейфуллина» г. Астана*

*Дордочкина С.А., магистр технических наук, преподаватель РГП «КГУ им. А.Байтурсынова», г. Костанай*

*В статье приведены результаты отработки условий постановки непрямого и «сэндвич» варианта ИФА для диагностики трихинеллеза, основанный на использовании моноклональных антител в качестве реагентов, осуществляющих отбор антигенов, специфичных для гельминта. Для отработки параметров и оптимальных условий постановки «сэндвич»-варианта ИФА при серологической диагностике трихинеллеза нами изучалось влияние следующих физико-химических факторов (температура, ионная сила и значения pH реакционной среды, продолжительность взаимодействия, концентрационные соотношения). Влияние значения pH буферных растворов на адсорбцию МКА к поверхности твердой фазы изучали в диапазоне ионной силы от 2,0 до 9,5. В качестве буферной системы испытывали: натрий - ацетатный буфер с pH 2,0; фосфатно-солевой буфер с pH 7,2-7,4 (ФСБ); карбонат-бикарбонатный буфер pH 9,8 (КББ). Результаты опытов показали, что интенсивность окраски реакционной жидкости в ИФА находится в прямой зависимости от значения pH буферных растворов и увеличивается, достигая максимума при значении pH 7,5-9,8. Нами изучалось влияние временного фактора и температурного режима на прочность фиксации МКА на поверхности твердой фазы. Изучение кинетики фиксации антител при температуре +4°C показало, что полное насыщение твердой фазы МКА происходит через 10-12 часов. В дальнейшем проводили подбор оптимальной концентрации вносимых моноклональных антител, позволяющие в наибольших количествах захватывать антигенные компоненты, улавливающие специфические антитела. Полученные результаты показали, что оптимальной концентрацией МКА является 40 мкг/мл.*

*Ключевые слова: трихинеллез, моноклональные антитела, «сэндвич» варианта ИФА.*

## THE WORKING OFF OF CONDITIONS OF STATEMENT OF AN ENZYME IMMUNOASSAY FOR DIAGNOSTICS OF A TRICHINOSIS

*Akibekov O. S. – the candidate of veterinary sciences, the senior teacher of JSC «S. Seyfulina KATU» Astana city*

*Leader L .A. - the candidate of veterinary sciences, the associate professor veterinary medicine of JSC «S. Seyfulina KATU» Astana city*

*Dordochkina S. A. - the master of technical science, the teacher of RSE of "KSU of A. Baytursynov" Kostanay city*

*Results working off of conditions of statement indirect and the "sandwich" of option of EIA for diagnostics of a trichinosis based on use of monoclonal antibodies as the reagents which are carrying out selection of the antigens specific to a helminth are given in article. For working off of parameters and optimum conditions of statement "sandwich" - EIA option at serological diagnostics of a trichinosis we studied influence of the following physical and chemical factors (temperature, ionic force and PH values of reactionary medium, interaction duration, concentration ratios). Influence of pH value of buffered solutions on adsorption of MCA to a surface of a firm phase was studied, in the range of ionic force from 2,0 to 9,5. As buffer system tested: sodium – the acetate buffer with ph 2,0; the phosphatic and saline buffer with pH 7,2-7,4 (PSB); a carbonate - the bicarbonate pH 98 (CBB) buffer. Results of experiences showed that intensity of coloring of reactionary liquid in EIA is in direct dependence on pH value of buffered solutions and is enlarged, reaching a maximum at pH value 7,5-9,8. We studied influence of a temporary factor and temperature condition on durability of bracing of MCA on surfaces of a firm phase. Studying of kinetics of bracing of antibodies at a temperature of +4 °C showed that full saturation of firm phase MCA happens in 10-12 hours. Further carried out selection of optimum concentration of the brought monoclonal antibodies, the antigenic components allowing to take in the greatest numbers catching specific antibodies. The received results showed that optimum concentration of MCA are 40 mkg/ml.*

*Keywords: trichinosis, monoclonal antibodies, EIA option "sandwich".*

## ТРИХИНЕЛЛЕЗДІ БАЛАУДА ИММУНОФЕРМЕНТТІ АНАЛИЗДІ ҚОЮДЫҢ ШАРТТАРЫН ӨТЕУ

Әкібеков Ө. С.- ветеринария ғылымдарының кандидаты аға оқытышы «С. Сейфуллин атындағы ҚазАТУ» АҚ

Лидер Л.А.-ветеринария ғылымдарының кандидаты, доцент «С. Сейфуллин атындағы ҚазАТУ» АҚ

Дордочкина С.А. - РМК «А.Байтұрсынов атындағы ҚМУ» оқытушы, техника ғылымдарының магистрі

Мақалада гельминттерге спецификалы антигендердің таңдауын жүзеге асыратын, реагенттер ретінде моноклоналды антиденелерді қолдануға негізделген. Трихинеллез диагностикасы үшін ИФТ-ң тура емес және сэндвич нұсқаларын қойудың шарттарын өңдеу нәтежиелері келтірілген. Трихинеллездің серологиялық диагностикасы кезінде ИФТ-ң сэндвич нұсқаларын қоюдың оңайлы жағыдайларын қоюдың оңтайлы жағыдайларын және параметрлерін өңдеу үшін, келесі физикалық – химиялық факторлар зерттелді: температура, иондық күші және концентрациялық қатынастар. Буферлі ерітінділердің МКА адсорбциясына әсері 2,0-9,5 болды. Буферлік жүйе ретінде сыналды: натрий-ацетатты буфер – 2,0; рН 7,2-7,4 болатын фосфатты – тұзды буфер; рН 9,8 болатын карбонат – биокарбонатты буфер. Зерттеу нәтежиелері ИФТ-дағы реакциялық сұйықтықтарды қарқынды бояудың тәжірибелерінің нәтежиелері буферлі ерітінділердің рН мәніне тура байланысты ұлғаятынын көрсетті. Ары қарай, енгізілген моноклоналды антиденелердің оңтайлы концентрациясын таңдау жүргізілді, ол үлкен мөлшерде антигендік компоненттерді қамтиды. Алынған нәтежиелер МКА-ң оңтайлы концентрациясы 40 мкг/мл болып табылатынын көрсетті.

Кілт сөздер: трихинеллез, моноклоналды антидене, ИФТ-ң сэндвич нұсқасы.

Трихинеллез - широко распространенное природно-очаговое паразитарное заболевание млекопитающих, вызываемое гельминтом *Trichinella* spp. Паразиты относятся к роду нематод, которые могут вызвать потенциально серьезные инвазии в организме человека после потребления зараженного мяса.

Виды *Trichinella* spp. встречаются по всему миру и способны инвазировать как домашних, так и диких плотоядных, а также всеядных млекопитающих (барсуки, корсаки, волки, лисы, медведи и дикие кабаны) [1, с. 51].

### Актуальность

Грызуны (крысы и мыши) также играют важную роль в распространении инвазии. Весь жизненный цикл обычно происходит в пределах одного вида хозяина и состоит из взрослого гельминта и личиночной стадии. Взрослые трихинеллы паразитируют в тонком кишечнике животных и человека, а личинки – в поперечно-полосатых мышцах этих же организмов. К настоящему времени зарегистрировано более 100 видов млекопитающих, которые являются хозяевами трихинелл. Среди домашних животных наиболее восприимчивы к трихинеллезу свиньи и собаки. Однако имеются сведения о возможности заражения этой инвазией и других видов домашних животных. Так, например, импорт конины рассматривается как важный источник заражения людей трихинеллезом в некоторых частях Европы, особенно Франции и Италии. Экономический ущерб от трихинеллеза очень велик: трихинеллезные туши животных вне зависимости от степени поражения уничтожают. Трихинеллез у людей протекает очень тяжело, плохо поддается лечению и часто оканчивается смертельным исходом [2, с. 5].

Трихинеллез, вследствие повсеместного распространения возбудителя на земном шаре, является глобальным антропозоогельминтозом. Это инвазионное заболевание представляет собой серьезную медицинскую, ветеринарную и социально-экономическую проблему во всем мире, так как наносит немалый ущерб хозяйству стран и обществу в целом.

Так, наиболее широко применяемая в своем классическом варианте методика компрессорной трихинеллоскопии по Reissman, основанная на исследовании 24 срезов ножек диафрагмы, позволяет выявлять инвазию с интенсивностью свыше 1-2 личинок на 1 г мышц. Между тем, слабое заражение встречается гораздо чаще, чем умеренное и сильное. Помимо этого, метод плохо поддается механизации, малопроизводителен, крайне утомителен и достаточно дорог (требует привлечения большого штата трихинеллоскопистов).

Групповое исследование мышц методом переваривания в искусственном желудочном соке (ИЖС) значительно превосходит по диагностической эффективности компрессорную трихинеллоскопию, особенно с позиции главной задачи экспертизы - предупреждения опасного для здоровья людей заражения трихинеллами, так как успешно выявляет жизнеспособные личинки. Однако, при высоких скоростях убоя и переработки свинины, которые обычно имеются на больших мясо-перерабатывающих предприятиях, применение его становится затруднительным. Кроме того, он

неэффективен в случае гибели личинок, что значительно снижает его ценность (особенно для решения некоторых вопросов эпизоотологии и эпидемиологии).

Основным путем заражения людей трихинеллезом является употребление мяса животных, инвазированных трихинеллезом. Личинки трихинелл могут выживать в плохо проваренном или прожаренном мясе, в сырых колбасах, они не погибают при замораживании. В последние годы вспышки трихинеллеза были зарегистрированы в Латвии, Литве, Польше, Франции, Аргентине, Болгарии, Румынии, Германии, России и др. стран мира [3, с. 527].

Проведя анализ заболеваемости трихинеллезом в странах Азии, определено что трихинеллез - один из самых важных паразитных зоонозов. Так в Китае, много вспышек со смертельными случаями сообщаются каждый год. В 10 областях распространенность *T. spiralis* свиней достигает 50% [4, с. 227].

В Кыргызстане *T. nativa* была обнаружена у рыжей лисы. Нет информации о зараженности людей и домашних животных [5, с. 595]. Ограниченные вспышки заболевания трихинеллеза были зарегистрированы после потребления свинины от кабана в Стамбуле (13 случаев), в Анталии (более, чем 40 человек) и в Бурсе (семь человек) [6, с. 46]. Самая большая вспышка (приблизительно 500 зараженных людей) произошедшая в Измире из-за потребления фрикаделек, сделанных из говядины и свинины от домашних свиней [7, с. 898]. Личинки *Trichinella* spp. были обнаружены у домашних и диких свиней и в продуктах из свинины [8, с. 187].

В Туркмении инфекция *T. britovi* была зарегистрирована у шакала. Нет информации о зараженности людей и домашних животных.

В Казахстане *T. nativa* и *T. britovi* циркулируют среди красной лисы, волков, шакалов, куниц, диких кошек, рысей и кабанов. *T. pseudospiralis* был зарегистрирован у лис, у двухворон, и у орла [9, с. 3]. Трихинеллез у людей был зарегистрирован после потребления свинины от кабанов [10, с. 519]. Нет информация заражения людей трихинеллезом от домашних животных. В 2012 г. в Восточно-Казахстанской, Карагандинской и Северо-Казахстанской областях Казахстана также были отмечены случаи заболевания людей трихинеллезом при поедании свинины. Проведя анализ видно, что у многих стран информация не доступна по заболеваемости трихинеллезом у людей, домашних или диких животных. Однако, нехватка информации у страны не дает основание подразумевать, что этот зооноз отсутствует, скорее всего это говорит о нехватке исследования. Во многих случаях, где о человеческой инвазии не сообщают, она могла существовать, но может не быть признанной врачами. Таким образом, трихинеллез как инвазионное заболевание представляет собой серьезную медицинскую и ветеринарную проблему во всем мире, так как наносит немалый экономический и социальный ущерб. В этой связи во многих странах ведутся комплексные ветеринарно-медико-биологические исследования по трихинеллезу.

Так, в Европе уже с 1860-ых гг. проводится экспертиза свинины на наличие *Trichinella* spp. Giese, C., 1996 [11, с. 249]. Микроскопия, и позже трихинеллоскопия были ограничены исследованиями отдельных животных. Метод переваривания в искусственном желудочном соке, введенный в 1970-ых годах постепенно заменяет трихинеллоскопию. Данный метод отвечает требованиям для более эффективного, надежного и более дешевого осмотра. Хотя трихинеллоскопия до сегодняшнего дня все еще используется в некоторых странах. В странах Европейского союза для торговли между странами-членами ЕС и так же для импорта свинины используют только метод переваривания в искусственном желудочном соке, согласно Директивам 64/433/ЕЕС (Европейское экономическое сообщество, 1964) и 77/96/ЕЕС (Европейское экономическое сообщество, 1976). Методы прямого обнаружения *Trichinella* spp. Очень важны для эпидемиологических исследований в дикой природе, особенно где имеются природные очаги трихинеллеза.

Помимо методов прямого обнаружения, в течение прошлых двух десятилетий активно развивались и улучшались серологические методы, особенно ELISA. Используя серологию, стало возможным выполнить дополнительные меры контроля *Trichinella* spp. (Директива по Зоонозам 92/117/ЕЕС (Европейское экономическое сообщество, 1992), чтобы гарантировать защиту потребителей. Естественно серологические методы исследования не могут заменить общепринятый классический осмотр мяса, но серологический метод ELISA может быть полезным для программ наблюдения за фермой и для эпидемиологических исследований в дикой природе [12, с. 167]. Согласно "Руководству стандартов для диагностических тестов и вакцин", изданных Международным эпизоотическим бюро, два главных метода рекомендуются для диагностики трихинеллеза: (1) прямое обнаружение личинок первой стадии в поперечной-полосатой мускулатуре, и (2) косвенная диагностика инфекции тестами на определенные антитела [13, с. 420]. Для повышения результативности профилактических противотрихинеллезных мероприятий, в первую очередь следует разрабатывать надежные и недорогие методы прижизненной диагностики трихинеллеза свиней, что позволило бы предупреждать затраты на содержание больных животных и решать другие проблемы научно-исследовательского характера, а именно выявлять неблагополучные хозяйства и подворья при эпизоотологических обследованиях, уточнять некоторые вопросы эпизоотологии и эпидемиологии трихинеллеза, пути и факторы

передачи, а также экстенсивность инвазии. Исходя из сказанного, становится понятным, что совершенствование существующих и изыскание новых, высокоэффективных и возможно универсальных методов посмертной и прижизненной диагностики трихинеллеза является первостепенной задачей и насущной необходимостью, как в научном, так и в практическом плане.

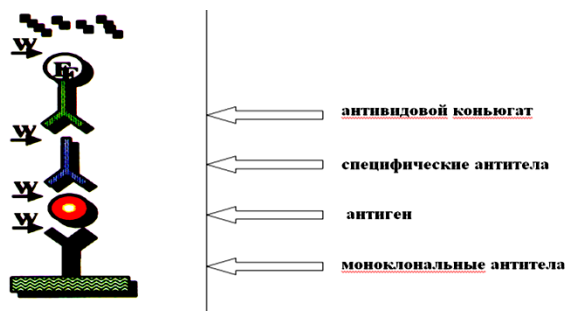
#### **Материалы и методы исследований**

Отработка условий постановки непрямого и «сэндвич» варианта ИФА для диагностики трихинеллеза, основанный на использовании моноклональных антител в качестве реагентов, осуществляющих отбор антигенов, специфичных для гельминта.

Изучение возможности использования полученных моноклональных антител для серологической диагностики трихинеллеза животных. Для отработки параметров и оптимальных условий постановки «сэндвич»-варианта ИФА при серологической диагностике трихинеллеза нами изучалось влияние следующих физико-химических факторов (температура, ионная сила и значения pH реакционной среды, продолжительность взаимодействия, концентрационные соотношения).

Схема постановки иммуноферментного анализа приведена на рисунке 1.

Принцип детекции специфических антител основан на применении моноклональных антител в сэндвич - варианте иммуноферментного анализа, где в качестве «твердой фазы» использованы лунки полистиролового планшета. Моноклональные антитела избирательно захватывают антиген и образуют на твердой фазе комплекс антитела-антиген. При внесении проб антителосодержащей жидкости в лунку с иммуносорбентом, специфичные к антигенам антитела связываются на твердой фазе, образуя комплексы антитело-антиген-антитело. Образовавшиеся комплексы выявляют с помощью антивидового иммуноферментного конъюгата. После отмывания не связавшихся компонентов, вносят раствор хромогена и проводят учет результатов на спектрофотометре.



**Рисунок 1 – Схема постановки сэндвич-варианта иммуноферментного анализа.**

Влияние значения pH буферных растворов на адсорбцию МКА к поверхности твердой фазы изучали в диапазоне ионной силы от 2,0 до 9,5. В качестве буферной системы испытывали: натрий - ацетатный буфер с pH 2,0; фосфатно-солевой буфер с pH 7,2-7,4 (ФСБ); карбонат-бикарбонатный буфер pH 9,8 (КББ). Результаты опытов показали, что интенсивность окраски реакционной жидкости в ИФА находится в прямой зависимости от значения pH буферных растворов и увеличивается, достигая максимума при значении pH 7,5-9,8.

Адсорбция МКА была минимальной при значениях pH 2,0-4,0. Применение ФСБ с pH 7,4 и КББ pH 9,5 приводило к увеличению адсорбции МКА поверхностью твердой фазы. В дальнейшей работе для адсорбции МКА твердой фазой использовали КББ с pH 9,5. Для отмывки лунок планшетов в процессе постановки реакции использовали ФСБ с 0,05% детергента твин-20 (ФСБ-Тв).

Нами изучалось влияние временного фактора и температурного режима на прочность фиксации МКА на поверхности твердой фазы. Изучение кинетики фиксации антител при температуре +4°C показало, что полное насыщение твердой фазы МКА происходит через 10-12 часов. Дальнейшая экспозиция не приводила к увеличению концентрации адсорбированных антител, поскольку показатель оптической плотности реакционной жидкости оставался на одном уровне. Увеличение времени адсорбции антител приводило к повышению фонового сигнала реакции на 10-15%.

В дальнейшем проводили подбор оптимальной концентрации вносимых моноклональных антител, позволяющие в наибольших количествах захватывать антигенные компоненты, улавливающие специфические антитела. Концентрация испытуемых антител составляла 5, 10, 20, 40 и 80 мкг/мл. Полученные результаты показали, что оптимальной концентрацией МКА является 40 мкг/мл.

Для блокирования свободных участков лунок, нами использовались различные нейтральные белки, среди которых 1% раствор бычьего сывороточного альбумина, 0,1% раствор желатина, 0,25% раствор казеина, фосфатно-солевой буфер с твином. Тестирование показало, что

наибольшее значение «фонового» сигнала наблюдалось при использовании в качестве блокирующего агента раствора БСА, что видимо следствие сродства данного белка тестируемой сыворотки крови. Наиболее низкие показатели неспецифических взаимодействий были получены при использовании фосфатно-солевого буфера с твином.

Минимальной концентрацией ЭС-АГ, при которой обеспечивалось насыщение первой фазы (МКА) была концентрация 0,15 мг/мл на ФСБ. В качестве альтернативного варианта антигена была использована соматический антиген трихинелл. Для этого соматический антиген разводили в соотношении 1:10 в ФСБ и использовали в реакции.

Оценку кинетики соединения антигенов с адсорбированным на поверхности твердой фазы МКА проводили при температуре +37°С в течение 30 минут, 1, 2, 3 и 4 часов. Оптимальное время для ИФА проводимого на планшете составило 1 час, т.к. в течение 30 минут наблюдались низкие показатели оптической плотности, а при увеличении времени более 1 часа плотность не увеличивалась.

Большую роль при постановке реакции играет оптимальное разведение исследуемых сывороток, позволяющее исключить ложноположительные результаты. Основываясь на опыте разработчиков коммерческих наборов, испытали разведения: 1:20, 1:50, 1:100, 1:200, инкубацию проводили в течение 1 часа при +37°С. В результате установлено, что оптимальным является разведение 1:100, т.к. при этом отсутствовала «фоновая» реакция отрицательных результатов, наблюдаемая при наименьших разведениях. В качестве буферной системы для разведения сыворотки крови были апробированы трис-буферный раствор с твином (рН7,4) и ФСБ с твином (рН7,2-7,4). Существенных различий при использовании данных систем не регистрировалось, поэтому для дальнейшей работы был определен ФСБ-ТВ.

#### **Результаты исследований**

Результаты оценки связывания антивидового конъюгата с иммунным комплексом показали, что равновесие между системами наступает в течение 1 часа при температуре +37°С. Более продолжительная инкубация сопровождалась возрастанием величин оптической плотности контроля на 25-30%, что вело к росту «фонового» окрашивания реакционной среды при учете результатов на спектрофотометре.

В результате проделанной работы установлено, что оптимальными условиями для проведения ИФА на планшете являются показатели приведенные в таблице 1.

**Таблица 1– Основные параметры проведения «сэндвич» - варианта ИФА**

Реагент	Параметры		
	Концентрация	буферная система	экспозиция
Первичные МКА	40 мкг/мл	КББ, рН 9,5	12 часов при 4°С
Блокирующий агент ФСБ с твином	250мкл на 500 мл	ФСБ	1 час при 37°С
ЭС-АГ	0,15 мг/мл	ФСБ, рН 7,4	1 час при 37°С
С-АГ	1:10	ФСБ, рН 7,4	1 час при 37°С
Сыворотка крови	1:100	ФСБ-ТВ, рН 7,4	1 час при 37°С
Антивидовой конъюгат	1:5000	ФСБ-ТВ, рН 7,4	1 час при 37°С

Таким образом, проведенные нами исследования по изучению влияния различных физико-химических факторов позволили определить оптимальные условия проведения сэндвич-варианта ИФА, на основе использования моноклональных антител к антигенным детерминантам экскреторно-секреторного антигена, для серологической диагностики трихинеллеза животных.

#### **Заключение**

Предусмотренные существующими инструкциями мероприятия по борьбе с трихинеллезом не обеспечивают надежной профилактики этого гельминтоза у сельскохозяйственных животных. Свиная и изделия из нее продолжают оставаться основными источниками возбудителя заболевания людей. Причиной этого является недостаточная эффективность посмертных прямых методов диагностики, используемых на мясокомбинатах и убойных пунктах, не гарантирующих полную выявляемость всех зараженных животных.

#### **Литература:**

1. Абуладзе К.И. Паразитология и инвазионные болезни сельскохозяйственных животных. М.: Колос. - 1990. - 470 с.
2. Gamble H.R., Bessonov A., Cuperlovic K., Gajadhar A.A., van Knapen F., Nockler K., Schenone H. Zhu X., Recommendations on methods for the control of *Trichinella* in domestic and wild animals intended for human consumption // Vet. Parasitol. - 2000.- №93. – P. 393-408.

3. Schuppers M.E., Pozio, E., La Rosa G., Serrano F.J., Barrat J., Rossi, L Environmental and human influence on the ecology of *Trichinellaspiralis* and *Trichinellabritovi* in Western Europe // Parasitology .- 2009. - №113. – P. 527–533.
4. Takahashi Y., Mingyuan L., Waikagul J. Epidemiology of trichinellosis in Asia and Pacific Rim// Vet. Parasitol. - 2000. - №93. – P. 227–239.
5. Shaikenov B.S., Boev S.N. Distribution of *Trichinella* species in the old world // Wiad. Parazytol. - 1983. - №2. – P. 595–608.
6. Merdivenci A., Aleksanyan V., Giriskan G., Perk M., 1977. A case of *Trichinellaspiralis* infection in man and wild pig in Turkey. J. Fac. Med. Vet. Univ. Instambul 3, 46–71.
7. Ozdemir D., Ozkan H., Akkoc N., Onen F., Gurler O., Sari I., Akar S., Birlik M., Kargi A., Ozer E., Pozio, EAcute trichinellosis in children compared with adults // Pediatr. Infect. Dis. J. . - 2005. - №24. – P. 897–900.
8. Nazli B., Inal T. The occurrence of *Trichinellaspiralis* in domestic and wild pigs and in prepared pork products in Turkey. Berl. Munch Tierarztl //Wochenschr. - 1987.- №100. – P. 187–190.
9. Pozio E. The broad spectrum of *Trichinella* hosts: from cold- to warm-blooded animals // Vet. Parasitol. - 2005. - №132. – P. 3–11.
- 10.Boev S.N., Bondareva V.I., Sokolov, I.B., TazievaZ.Kh. Trichinosis in Kazakstan // Wiad. Parazytol. - 1971. - №12. – P. 519–525.
- 11.Der Heidelberger Trichinenstreit. Eineparasitologische Episode ausdemJahr 1840 (The dispute on trichinae of Heidelberg. An episodeof 1840). Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 109, 249–252.
- 12.Nöckler K., Voigt W.P, Protz D., Miko A., Ziedler, K. IntravitaleDiagnostik der Trichinellosebeim Schweinmitdemindirekten ELISA (Indirect ELISA for the diagnosis of trichinellosis in living pigs). Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. - 1995. - №108. – P167–174.
- 13.Gamble H.R., Gajadhar A.A., Solomon M.B. 1996. Methods for the detection of trichinellosis in horses // J. Food Prot .-1996. - №59. – P. 420–425.

#### References:

1. Abuladze KI Parasitology and parasitic diseases of farm animals.M.: Kolos. - 1990. - 470 p.
2. Gamble H.R., Bessonov A., Cuperlovic K., Gajadhar A.A., van Knapen F., Nockler K., Schenone H. Zhu X., Recommendations on methods for the control of *Trichinella* in domestic and wild animals intended for human consumption // Vet. Parasitol. - 2000.- №93. – P. 393-408.
3. Schuppers M.E., Pozio, E., La Rosa G., Serrano F.J., Barrat J., Rossi, L Environmental and human influence on the ecology of *Trichinellaspiralis* and *Trichinellabritovi* in Western Europe // Parasitology .- 2009. - №113. – P. 527–533.
4. Takahashi Y., Mingyuan L., Waikagul J. Epidemiology of trichinellosis in Asia and Pacific Rim// Vet. Parasitol. - 2000. - №93. – P. 227–239.
5. Shaikenov B.S., Boev S.N. Distribution of *Trichinella* species in the old world // Wiad. Parazytol. - 1983. - №2. – P. 595–608.
6. Merdivenci A., Aleksanyan V., Giriskan G., Perk M., 1977. A case of *Trichinellaspiralis* infection in man and wild pig in Turkey. J. Fac. Med. Vet. Univ. Instambul 3, 46–71.
7. Ozdemir D., Ozkan H., Akkoc N., Onen F., Gurler O., Sari I., Akar S., Birlik M., Kargi A., Ozer E., Pozio, EAcute trichinellosis in children compared with adults // Pediatr. Infect. Dis. J. . - 2005. - №24. – P. 897–900.
8. Nazli B., Inal T. The occurrence of *Trichinellaspiralis* in domestic and wild pigs and in prepared pork products in Turkey. Berl. Munch Tierarztl //Wochenschr. - 1987.- №100. – P. 187–190.
9. Pozio E. The broad spectrum of *Trichinella* hosts: from cold- to warm-blooded animals // Vet. Parasitol. - 2005. - №132. – P. 3–11.
10. Boev S.N., Bondareva V.I., Sokolov, I.B., TazievaZ.Kh. Trichinosis in Kazakstan // Wiad. Parazytol. - 1971. - №12. – P. 519–525.
11. Der Heidelberger Trichinenstreit.Eineparasitologische Episode ausdemJahr 1840 (The dispute on trichinae of Heidelberg.Anepisodeof 1840).Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. 109, 249–252.
12. Nöckler K., Voigt W.P, Protz D., Miko A., Ziedler, K. IntravitaleDiagnostik der Trichinellosebeim Schweinmitdemindirekten ELISA (Indirect ELISA for the diagnosis of trichinellosis in living pigs). Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. - 1995.- №108. – P 167–174.
13. Gamble H.R., Gajadhar A.A., Solomon M.B. 1996. Methods for the detection of trichinellosis in horses // J. Food Prot .-1996. - №59. – P. 420–425.

#### Сведения об авторах

Акибеков Оркен Султанхамитович – кандидат ветеринарных наук, старший преподаватель АО «КазТУ имени С.Сейфуллина» г.Астана, ул. Акжол 26, тел 87012856845 [orken.a.s@mail.ru](mailto:orken.a.s@mail.ru)

Лидер Л. А. - кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры ветеринарной медицины АО «КазТУ имени С.Сейфуллина» г. Астана, ул. Акжол, 26, тел 87012856845 [o.a.s@mail.ru](mailto:o.a.s@mail.ru)

Дордочкина С.А. - магистр технических наук, преподаватель РГП «КГУ им. А.Байтұрсынова», г.Костанай, ул.Урицкого 13, тел. 87785450289, [sveta.kz89@mail.ru](mailto:sveta.kz89@mail.ru)

Әкібеков Өркен Сұлтанхамитұлы - ветеринария ғылымдарының кандидаты, аға оқытушы «С. Сейфуллин атындағы ҚазАТУ» АҚ, Астана қ., Ақжол көш, 26, тел 87012856845 [orken.a.s@mail.ru](mailto:orken.a.s@mail.ru)

Лидер Л.А.-ветеринария ғылымдарының кандидаты, доцент «С. Сейфуллин атындағы ҚазАТУ» АҚ Ақжол көш, 26, тел 87012856845 [o.a.s@mail.ru](mailto:o.a.s@mail.ru)

Дордочкина С.А. - РМК «А.Байтұрсынов атындағы ҚМУ» оқытушы, техника ғылымдарының магистрі, Қостанай қ., Урицкий көш, 13, тел. 87785450289 [sveta.kz89@mail.ru](mailto:sveta.kz89@mail.ru)

AkibekovOrken – Candidate of Veterinary Science, senior lecturer “KazATU names of S.Seifullin”, Astana city, Akzhol street 26, tel.87012856845 [orken.a.s@mail.ru](mailto:orken.a.s@mail.ru)

Leader L .A. - the candidate of veterinary sciences, the associate professor veterinary medicine of JSC «S. SeyfulinaKATU»Astana cityAkzhol street 26, tel. 87012856845 [o.a.s@mail.ru](mailto:o.a.s@mail.ru)

Dordochkina S.A., Master of Engineering Science, teacher of RSE “KSU names of A.Baytursynov”, Kostanaycity,Uritskstreet 13tel. 87785450289 [sveta.kz89@mail.ru](mailto:sveta.kz89@mail.ru)