

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF AGRICULTURAL SCIENCES

ISSN 2224-526X

Volume 4, Number 34 (2016), 58 – 60

MODERN METHODS OF ISOLATION OF COENURUS ANTIGEN

S.S. Usmangaliyeva, D.M. Khussainov,
Kh.B. Abeuov, G.S. Shabdarbayeva, G.D. Akhmetova

Kazakh agrarian national university, Almaty

Keywords: coenurosis, pathogen multiceps cestode, cyst, diagnosis, antigen, ultrasonication.

Abstract. In the article it is introduced the results of modern technology construction of coenurus diagnostic antigen from sick sheep.

ӘОЖ 619:616 – 07:616.995.1]:636.3

ЦЕНУРОЗДЫҚ АНТИГЕНДІ АЛУДЫҢ ЖЕТІЛДІРІЛГЕН ТӘСІЛІ

С.С. Усманғалиева, Д.М. Хусаинов,
Х.Б. Абеуов, Г.С. Шабдарбаева, Г.Д. Ахметова

Қазақ ұлттық Аграрлық университеті, Алматы қ.

Түйін сөздер: ценуроз, Multiceps multiceps цестодасы, циста, диагностика, ультрадыбыстық өңдеу.

Аннотация. Мақалада ауру қойлардың миынан ценуроздық балаулық антигенді алу технологиясын жетілдіру бойынша жүргізілген зерттеулердің нәтижелері жазылған.

Кіріспе

Қазақстан Республикасы аумағында кең таралған паразиттік аурулар еліміздің мал шаруашылығына елеулі экономикалық зиян келтіреді. Қазіргі кезде шағын фермерлер мен жеке шаруашылықтар малдарын ауыл төңірегіндегі шектеулі жайылымдарға жаюға мәжбүр. Мұндай жағдайда ауыл маңындағы жайылымдар түрлі паразит элементтерімен залалданады, соның нәтижесінде паразитоздардың эпидемиологиялық-эпизоотологиялық шиеленісу көрсеткіштері жоғарылайды. Республикамыздың оңтүстік өңірлерінде мал басын көбейтіп, олардан алынатын өнімдер сапасын арттыру үшін қолда бар мүмкіндіктерді толық пайдаланумен қатар, малды аман сақтаудың, оларды аурулардан қорғаудың маңызы зор. ҚР оңтүстігінде жиі кездесетін аурулар, солардың ішінде ценуроз ауыл экономикасына едәуір шығын келтіреді және әлеуметтік жағдайды шиеленістіреді. Ценурозды халық арасында айналма деп те атайды [1, 2, 3].

Ценуроз (Coenurosis cerebralis – айналма) – малдың миын, жұлынын зақымдайтын ауру. Қазақстанда кең тараған. Айналмамен көбінесе күйіс қайыратын мал, әсіресе ірі қара мен қой жиі ауырады. Ауруды миға түскен құрт қоздырады. Айналма құртының пішіні жұмыртқаға ұқсайды, іші кілтілдеген су, диаметрі 5-7 см. Кейбір малдың миында 2-3, тіпті 25-27 таспа құрт болады. Малға айналма иттен жұғады. Иттің ащы ішегіндегі таспа құрт нәжіске араласып сыртқа шығады. Мал сол құрттарды шөппен бірге жеп, ауруға шалдығады [1, 3, 4].

Ауру дернәсілдің өсіп, дамуына байланысты төрт сатыға бөлінеді және орналасқан жеріне қарай әртүрлі болады. Ауру малдың бас сүйегі жұқарады, таспа құрт жатқан жердің тұсын бармақпен басса, былқылдап тұрады. Егер ол шеке немесе самайға орналасса, мал оң немесе сол жағына қарай айналады. Қарақұста орналасса, артқа қарай шегінеді немесе ілгері қарай ұмтылады, ал жұлынды жайлаған болса, малдың жүріс-тұрысы бұзылады. Ауруды анықтау үшін офтальмоскопия әдісі және меналлергиялық реакция қолданылады. Сақтық шаралары: шаруашылықтағы иттер есепке алынып, оларды жылына төрт рет тексеруден өткізу керек [2, 5, 6].

Бұрындар ценурозды балау мақсатында қолданылатын диагностикалық антигенді Multiceps multiceps цестодасының жетілген мүшеліктерінен әзірлеген. Ол үшін паразитарлық массаны ыдыратып, ішінен онкосфераны бөліп алып өсіру арқылы проценурустарын алу жүзеге асырылған.

Кейіннен оларды 10-15 минут уақыт аралығында 20-24 кГц қуаттылығымен ультрадыбыспен өңдеп, рН мөлшерін 8,0-9,0-ға жеткізгеннен кейін 1 атмосфера (120°C) қысыммен 20-30 мин ішінде автоклавтан өткізіп 18-25°C температураға дейін суытып барып, минутына 8-10 мың айналым жылдамдықпен центрифугадан айналдырған. Пайда болған тұнба үстіндегі сұйықтықты ценуроздық балаулық антиген ретінде қолданған (ҚР №19188 «Ценуроз кезінде тікелей емес гемагглютинация реакциясына арналған эритроцитарлық антигенді алу тәсілі», алдын ала патенті. бюл. №3.-14.03.2008. МПК G01N 33/569). Бірақ антигеннің кемшілігі оның белсенділігі мен телімділігінің төмен болуында.

Біздің зерттеуіміздің негізгі мақсаты ценурозды балауға арналған диагностикалық антигеннің әзірлеу технологиясын жетілдіру болып табылды.

Зерттеу материалдары мен әдістері. Ғылыми-зерттеу жұмыстары (ҒЗЖ) ҚазҰАУ биологиялық кафедрасының паразитоздарға қарсы биотехнология зертханасында жүргізілді.

ҒЗЖ жүргізу барысында ценурозбен ауырған 2 жасар қойлардың милары, көпіршік сұйықтығы, ценур цисталары, сколекстер, шуттель аппараты, термостат, ультрадыбыстық өндеуге арналған «УЗДН-2Т» аспабы, центрифуга және т.б. химиялық заттар мен ерітінділер қолданылды.

Балаулық антигенді дайындау үшін ауру қойдың миынан алынған паразитарлық массадан ценуроздық цисталар жиналып алынды. Қой миының ұлпасынан бөлініп алынған цисталарды аршып ішінен көпіршік сұйықтығын бөлек ыдысқа құйып алдық. Одан кейін цисталардың ішкі қабырғасын пинцетпен қырып сколексттерді 1:5 қатынасында алынған стерильді физиологиялық ерітіндімен шайып ыдысқа құйдық. Жуылған цисталардың ішкі қабырғасынан герминативті қабықшалар бөлініп алынды, қалған ценуроздық цисталар жойылып тасталынды.

Герминативті қабықшалардың бөлшектері гомогенизатормен минутына 5 мың айналым жылдамдықпен 3-5 минут аралығында біркелкі затқа айналдырылғаннан кейін 0,9 % стерильді физиологиялық ерітіндімен 1:5 қатынасында сұйылтылды.

Герминативті қабықшалардан дайындалған суспензияның әрбір литріне 25-30 мл химиялық таза тұз қышқылының 1-қалыпты ерітіндісін, 3-5 г пепсин және 10 мл толуолды қосып рН-н 3,0-ге жеткіздік (тұз қышқылының 1-қалыпты ерітіндісімен).

Дайын болған қоспаны шуттель-аппаратқа құйып 38-39°C температуралы термостатта 48-72 сағат бойы араластырамыз. 1, 3, 6, 12, 18 және 24 сағат сайын ортаның рН-ы тексеріліп 3,0 көрсеткішіне тұз қышқылының 1-қалыпты ерітіндісімен жеткізіліп отырылады.

48-72 сағаттан кейін гидролизат сұйықтығының үстіңгі қабатынан толуол қабықшасы тампонмен мұқият сұйықтықты шайқалтпай алынып тасталынады. Содан кейін гидролизатты 15-20 КГц жиілікпен 25-30 минут ультрадыбыспен өндеуден өткіземіз де минутына 3-5 мың жылдамдықпен 5-10 минут бойы центрифугалаймыз. Пайда болған тұнбаны 200 мл дистилденген сумен сұйылтамыз да, қайтадан ультрадыбыспен сондай жиілікпен өңдейміз (15-20 КГц жиілікпен 25-30 минут бойы). Кейіннен ультрадыбысталған лизатты мақта-мата сүзгісінен өткіземіз. Осылайша алынған сколексі бар сұйықтық суспензия түрінде болады. Суспензияның әрбір литріне 25-30 мл тұз қышқылының 1-қалыпты ерітіндісі, 3-5 г пепсинді және 10 мл толуолды қосамыз да қоспаны мұқият араластырып тұз қышқылының 1-қалыпты ерітіндісімен рН-н 3,0-ге жеткіземіз.

Көпіршік сұйықтығында сондай параметрлі жағдайда ультрадыбыспен өндеуден өткіземіз де, пайда болған лизатты мақта-мата сүзгісінен өткіземіз (тұнба алынып тасталынады).

Осылайша алынған герминативті қабықша, сколексті және көпіршік сұйықтығынан алынған үш суспензияны 1:1:1 ара қатынасында араластырамыз. Пайда болған сұйықтыққа бөлме температурасында 96° спирттің (ректификат) 4 көлемін қосып ценуроздық антигенді отырғызамыз да, ондағы орта рН-ын химиялық таза күйдіргіш натрийдің 1-қалыпты ерітіндісін қосу арқылы (басында 1 мл, содан кейін тамшылатып) 7-7,2 шамасына жеткіземіз. 20-24 сағат 4-6°C теспературада тұнбаға жиналған антигенді центрифугамен минутына 3-5 мың айналымдық жылдамдықпен 10-15 минут бойы айналдырымыз.

Тұнба үстіндігі спирт алынып тасталынады, тұнбаға (антигенге) азғантай (50 мл) дистилденген су құйылып қаймақ тәріздес біртекті затқа айналдырып араластырамыз. Содан кейін цилиндрге бөлек құйылып алынған массаға 950 мл дистилделінген су қосылады.

Осылайша алынған қоспа түріндегі антиген құтылар немесе ампулаларға құйылып, ауыздарын стерильді мақта тампондарымен жауып лиофильді жолмен кептіріледі. Ампулалар отпен шарпылып жабылады, ал құтылардың ауызы стерильді тығындармен жабылып сыртынан алюминий қалпақшалармен қапталады.

Зерттеу нәтижелері және оларды талдау. Сонымен, зерттеу нәтижелеріне талдау жасасақ, ценуроздық антигенді алу бойынша қол жеткізілген техникалық нәтиже белсенді даму кезеңіндегі ценура цисталарын жинап алып, бөлініп алынған сколекстерді шуттель-аппаратының көмегімен пепсинмен ыдырату, гидролизатты ультрадыбыспен өңдеу, центрифугатты ультрадыбыспен өңделген көпіршік сұйықтығы мен герминативтік қабықшалар гомогенатымен 1:1:1 қатынасында алып араластыру және пайда болған қосындыны спиртпен отырғызу, содан кейін тұнбаны дистилденген сумен суспензияға айналдыру және лиофильді кептіру жолымен жүзеге асырылды.

Бұл тәсілдің жаңалығы және бұрынғы прототибінен айырмашылығы диагностикалық антигенді әзірлеу кезінде қосымша ценур цисталарын қолданылуы деп түсінуге болады.

Қорытынды

Шуттель-аппаратымен араластыру, пепсинмен ыдырату, гидролизатты ультрадыбыспен өңдеу арқылы алынған және өңделген герминативті қабықша, сколекстер және көпіршік сұйықтығының 1:1:1 қатынасындағы қосындысын спиртпен отырғызу, содан кейін тұнбаны дистилденген суда суспензияға айналдыру арқылы ценуроздық антигенді алудың жетілдірілген жаңа технологиясына қол жеткізілді.

ӘДЕБИЕТ

[1] Усманғалиева С.С., Хусаинов Д.М., Сабаншиев М.С. Способ получения эритроцитарного антигена для реакции непрямой гемагглютинации при ценурозе// Предварительный патент на изобретение № 19188.- Промышленная собственность. Официальный бюллетень. Изобретения. Полезные модели. Опубликовано № 3. 14.03. 2008.

[2] Шабдарбаева Г.С., Ахметсадықов Н.Н., Балгимбаева А.И., Хусаинов Д.М., Амиргалиева С.С., Турганбаева Г.Е., Ахметова Г.Д., Усманғалиева С.С., Асылханов Д.У.Способ получения ценурозного антигена//Патент на изобретение № 28380.- Промышленная собственность. Официальный бюллетень. Изобретения. Полезные модели. Опубликовано № 7. 15.06. 2015.

[3] Skerritt G. C Diagonosis and treatment of coenuriasis (gid) in sheep / Skerritt G., Stillbaumer M. E. // Vet. Rec. 1984 - V. 114. - 1 16. - P. 399 - 403.

[4] Richard M.D., Brumley J. L., Anderson G.A. Field trial to evaluate the use of antigens from Taenia hydatigena oncospheres to prevent infection with Taenia saginata in cattle grazing in sewage-irrigated pasture. Res. Veter. Sc.-1982. V. 32, N2, 189-193.

[5] С.С.Усманғалиева, Г.С.Шабдарбаева, Д.М., Хусаинов. Получение препарата для диагностики ценуроza и его компонентов //Материалы V Межрегиональный конференции «Паразитологические исследования в Сибири и на Дальнем Востоке» Новосибирск, 2015 г. С 121-122.

REFERENCES

[1] Usmangaliyeva S.S., Khussainov D.M., Sabanchiev M.S. Way of receiving erythrocytic antigen for IHA on coenurosis // Patent on construction

№ 19188.- Factoring owner. Official bulletin. Constrution. Model for investigation. Printed № 3. 14.03. 2008.

[2] Shabdarbayeva G.S., Akhmetadykov N.N., Balgimbaeva A.I., Khussainov D.M., Amyrgaliyeva S.S., Turganbaeva G.E., Usmangaliyeva S.S., Asylkhanov D.U. Way of getting coenurus antigen //Patent of investigation № 28380.- Factoring owner. Official bulletin. Investigation. Supporting model. Printed № 7. 15.06. 2015.

[3] Skerritt G. C Diagonosis and treatment of coenuriasis (gid) in sheep / Skerritt G., Stillbaumer M. E. // Vet. Rec. 1984 - V. 114. - 1 16. - P. 399 - 403.

[4] Richard M.D., Brumley J. L., Anderson G.A. Field trial to evaluate the use of antigens from Taenia hydatigena oncospheres to prevent infection with Taenia saginata in cattle grazing in sewage-irrigated pasture. Res. Veter. Sc.-1982. V. 32, N2, 189-193.

[5] S.S. Usmangaliyeva, G.S. Shabdarbayeva, D.M. Khussainov. Way of getting preparation of diagnosis coenurosis and his components //Materials V International conference «Parasitologic scientific work in Syberia and Far East» Novosybyrsk, 2015. P. 121-122.

УСОВЕРШЕНСТВЕННЫЙ МЕТОД ПОЛУЧЕНИЯ ЦЕНУРОЗНОГО АНТИГЕНА

С.С. Усманғалиева, Д.М. Хусаинов, Х.Б. Абеуов, Г.С. Шабдарбаева, Г.Д. Ахметова

Казахский национальный аграрный университет, г. Алматы

Ключевые слова: ценуроз, цестода *Multiceps multiceps*, циста, диагностика, антиген, ультразвуковая обработка.

Аннотация. В статье описаны результаты исследований по усовершенствованию технологии изготовления ценурозного диагностического антигена из мозга овец, больных ценурозом.

Поступила 15.07.2016 г.