

«Сейфуллин оқулары-14: Жастар, ғылым, инновациялар: цифрландыру – жаңа даму кезеңі» атты Республикалық ғылыми-теориялық = Материалы Республиканской научно-теоретической конференции «Сейфуллинские чтения-14: Молодежь, наука, инновации: цифровизация – новый этап развития». - 2018. –Т.І, Ч.2. - Б. 318-321.

### ***ECHINOCOCCUS GRANULOSUS*-ТІҢ ЭКСКРЕТОРЛЫ-СЕКРЕТОРЛЫ АНТИГЕНІНЕ ТЕЛІМДІ АНТИДЕНЕЛЕРДІ АЛУ**

*Г.С.Мұхитден., т.ғ.м., ассистент*

*Г.М.Отенова, аға оқытушы*

*Е.Максұтова, студент*

*Д.К.Жанахмет, магистрант*

Эхинококкоз – бұл гельминтозооноз, *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) оның қоздырғышы, *Taeniidae* туыстығы *Cestoda* классының өкілі. Бұл ауру адамға аса қауіпті және ауылшаруашылығына экономикалық тиімсіз. Сондықтан бұл ауру қоздырғыштарын зерттеу, тарату иелерін анықтау, таралу аймағын және әсер ету механизмін бойынша жұмыс істеген отандық және шет елдік авторлар жұмысын (Р.С. Шульц, 1961; П.П. Вибе, 1961, 1975; В.Ф. Никитин, 1968; В.М. Садыков, 1969; В.Т. Рамазанов, 1986,; В.М. Шамхалов, 1983,1986; А.С. Бессонов, 1997,1998; В.Б. Ястреб, 1990; О.Н. Андреев,2005; А.К. Журавец, 2005; Журавлев А.С, 2009 және т.б.) қарастырылады [1,2,5].

Ларвальды эхинококкозға 60 жуық сүтқоректілердің: қой, ірі қара мал, жылқы, есек, шошқа, зебу, қодас, буйвол, елік, сайғақ, бұғы және т.б. түрлері, сонымен бірге адам мен маймыл бейім. Цестоданың ересек сатысы дефинитивтік (ақтық) иесінің: ит, қасқыр, түлкі, шибөрі, қарсақ, динго (жабайы ит түрі), сілеусін, және т.б. етқоректілердің (барлығы 15-ке жуық) ащы ішегін жайлайды [3].

Бұл ауру барлық дерлік өңірге таралған, әсіресе Қазақстанда, Орталық Азияда, Ресей Федерациясының оңтүстігінде, Сібірде көптеп тіркеледі. Созылмалы түрі малдың өнімділігін азайтып, жас төлдің өсуі мен физиологиялық дамуын тежейді және басқа ауру қоздырғыштарына төтеп беруін төмендітеді. Ет комбинаттарда ветеринарлық қарау кезінде эхинококкозбен зақымданған малдардың мүшелерін, кей кезде тіпті сойылған малды толығымен жояды [4].

Ларвальды эхинококкоз айтарлықтай экономикалық зиян мен әлеуметтік қауіп төндіреді. Ауырған малдың сүт, ет, жүн өнімділігі, жұмысқа қабілеті төмендеп, малдың өсімі мен өсуі тежеліп, аналық малдан алынатын төл саны кемиді. Сонымен қатар, мал ағзасының ауруларға төзімділігі төмендейді. Ішкі ағзаларда көпіршік саны көп болғанда, малдың өлімі байқалады. Ет комбинаттары мен сойыс пункттерінде ауырған малдан жарамсыз болып танылған ет өнімі (ішкі ағзалар, кейде толығымен мал ұшасы) утильдеуге

жіберіледі. Біршама ғалымдардың айтуынша, еттің тағамдық құнарлығы мен тауарлық сапасы төмендейді (еттің, сүттің, жүннің). Адам ауырған жағдайда, тек қана хирургиялық жолмен ем жүргізілуі әрқашан нәтижелі бола бермейді [6].

Эхинококкоздың ерте клиникалық диагностикасы мүмкін болмағандықтан иммунологиялық әдістерді дамытудың қажеттілігіне алып келеді, себебі одан алынған мәліметтің көмегімен диагностикалық мән ғана емес, эпидемиялық және індеттің эпизоотикалық жағдайын бағалайды. Эхинококкозбен күресудің және алдын алудың үшін жаңа әдісі ретінде телімді антиген және иммунды дамытатын препараттардың негізінде жасалған иммунопрофилактикалық құралдардың шығарылуының мәні зор [7,8].

Инвазияның нақты иммунды диагностикасы телімді антигендерді қажет етеді. Диагностикалық тәсілдерді жетілдіру мақсатында арнайы бір антигеннің түрімен байланысып, басқа антигендермен әрекеттеспейтін антиденелердің жеткілікті мөлшері қажет. Аса қауіпті инфекциялық және инвазиялық ауруларды, соның ішінде ларвальды эхинококкозды анықтауға соңғы кезде ұсынылып жүрген сезімталдылығы жоғары иммунологиялық реакциялардың бірі - иммунды ферменттік талдау (ИФТ) [9,10].

Ғылыми зерттеу жұмыстарын жүргізу барысында: паразитологиялық, серологиялық, иммунологиялық, биохимиялық және биотехнологиялық зерттеу әдістері қолданылды.

Зерттеу жұмыстардың бірінші кезеңінде эхинококкозбен зақымдалған жануарлардың органдарын жинақтау. Эхинококк бершімектерінің телімді антигенін алу мақсатында «Әлем» және «Шапағат» мал сою орындарынан (ет сату пункттері) ірі қара және ұсақ қара малдардың паренхиматозды (өкпе мен бауыр) ағзаларына тексеру жұмыстары жүргізілді.

Ауылшаруашылық жануарлардың ішкі ағзаларын тексеру барысында, көбінесе өкпе мен бауырдан эхинококк көпіршіктері кездесті. Нәтижесінде қойдың ішкі ағзаларына тексеру жұмыстарын өткізу кезінде 29 эхинококк цистасының сынамасы алынды.

Экскреторлы - секреторлық антигенді (ЭС-АГ) дайындау мақсатында, жиналған инвазияланған материалдан антиген бөліп алу үшін көпіршік сұйықтықтары сорылып алынды. Алынған сұйықтықты 1000 айн/мин 15 минут бойы центрифугаладық. Центрифугалау барысында пайда болған үстіңгі сұйықтықты төгіп тастап, астыңғы протосколекстері бар тұнбаны антибиотик қосылған физиологиялық ерітіндімен бірнеше мәрте шайдық. Протосколекстердің өміршенділігін, яғни қозғалмалығын спирт шамының астында қыздыру арқылы тексердік.

Зерттеу жұмыстарын өткізу кезінде эксcretорлы-секреторлық антигенді алу үшін инвазияны *in vitro* жағдайында бейімдеп, протосколекстерді қоректік ортада өсіру арқылы бөліп алдық. Жуып-шайылған протосколекстерді антибиотик (1000 ӨБ/мл пенициллин және 1 мг/мл стрептомицин) қосылған 50 мл қоректік ортамен бірге 200 мл көлемдегі стерильді полистиролды матрацқа (NUNC, Дания) еңгіздік. Матрацқа

енгізілген орта өсіндісін 70% ылғалдылығы, температурасы (37°C) және газдың берілуі (CO<sub>2</sub>-5%) реттелген CO<sub>2</sub>-инкубаторға орналастырдық. 24 сағаттан соң тоғышар қанынан тазалап отыру үшін ортаны ауыстырып отырдық. 48-72 сағат өсіруден кейін жасуша метаболиттерін жинап отырдық.

Алынған ЭС-АГ белок мөлшерін М.Бредфорд әдісімен анықтадық. Нәтижесінде ЭС-АГ белок мөлшері концентрацияланбаған күйінде 2- 16 мкг/мл болса, концентрацияланған жағдайда 64-125 мкг/мл құрап отыр [11].

ЭС-АГ антигендік қасиетін тексеру және поликлоналды қан сарысуларын алу үшін қояндарға иммундеу жұмыстарын жүргіздік. *E. granulosus*-тің протосколектік ЭС-Аг 1:1 қатынасында, яғни 500 мкл конъюгатқа 500 мкл иммунды ынталандырғышты қосу арқылы стерильді піспекпен 1 мл мөлшерінде омыртқа жотасын бойлай отырып тері астына бес нүктеде, арасына 14 тәуілік салып төрт мәрте иммунделдік. Иммунды ынталандырғыш ретінде толымды және толымсыз Фрейд адьювантын пайдаландық. Соңғы антигенді енгізгеннен кейін 7 күн өткен соң серологиялық зерттеуге қан алынып, олардың қан сарысуындағы *E. granulosus*-тің протосколектік ЭС-Аг қарсы түзілген антиденелердің титрі иммунды ферменттік талдаудың жанама қойылмында анықталынды [12].

*E. granulosus*-тің протосколектік ЭС-Аг-імен иммунделген қоянның қан сарысуы жанама-ИФТ-да сыналды. Тестілеу нәтижесінде антиденелердің титрі 1:12800-1:25600 (жанама-ИФТ) аралығында болды. Яғни бізбен қолданылған зертханалық қояндарды гиппериммундеу сызбасы, гомологты антигенге қарсы сезімталдығы жоғары антиқан сарысуын алуға мүмкіндік берді.

ЭС-АГ белок фракцияларының молекулалық салмағын *J. Laemmli et al* әдісі бойынша құрамында додецилсульфат натрийі бар 12,5 %-тік полиакриламидтік гелінде вертикалді электрофорез арқылы айқындадық. Эхинококктың баланқұрт сатысындағы ЭС-Аг ақуыздары 23 жолақшаға мол.с. 13,9 кД ден 74,5 кД дейін сәйкесінше ажыратылды.

Ал иммуноблотинг нәтижесі экскреторлық-секреторлық антигенмен иммунделген жануарлардың организмінде түзілген телімді антиденелер молекулалық саламағы 65,5 кД шамасындағы антигендік детерминантамен байланысқа түсетіндігін көрсетті.

#### Әдебиеттер тізімі

1. Shaikenov B.Sh., Torgerson P.R. Changes in the epidemiology of echinococcosis in Kazakhstan // *Echinococcosis in Central Asia: Problems and Solutions/ Edited by P.Torgerson and B.Shaikenov.-Zurich-Almaty, Publishing house «Daur».-2004.-P.3-12.*

2. Rudolphi ,Kumaratilake L. M. & Thompson R. C. A review of the taxonomy and spociation of the genus *Echinococcus* 1801. 1982. *Zeitschriftfurparasitenkunde.* 68: 121-146.

3. Deplazes P., Van Knapen F., Schweiger A. et al. Role of pet dogs and cats in the transmission of helminthic zoonoses in Europe, with a focus on

echinococcosis and toxocarosis // *Veterinary Parasitology*.– 2011. – Vol.182. – P. 41-53.

4. Бессонов А.С. Эхинококкоз: распространение, клинические признаки, диагностика и лечение (по материалам симпозиума ВОЗ) /А.С. Бессонов //Ветеринария. М., 2001. - № 4. - С. 46-70.

5. Torgerson, P.R., Shaikenov B.S., Rysmukhambetova, et al. Modelling the transmission dynamics of *Echinococcus granulosus* in dogs in rural Kazakhstan // *Parasitology*.- 2003.-Vol. 126.- P.417–424.

6. Кадыров Н.Т., Егизбаев Х.И., Мустафин М.К. Паразитология и инвазионные болезни сельскохозяйственных животных. – Астана, 2000г.

7. Barnes T.S., Deplazes P., Gottstein B., et al. Health Challenges for diagnosis and control of cystic hydatid disease // *Acta Tropica*. – 2012. –Vol.123. – P. 1-7.

8. Garabedian J.A./Evaluation of the reactivity of hydatid whole-scolex antigen in hydatid disease serology.//*Ann. Trop. Med. Parasit.*-1971.-V.65.-N3.- P.385-391.

9. Бережко В.К. Иммуноферментная реакция в диагностике эхинококкоза животных и ее корреляция с элизоотической ситуацией. //Тезисы докл.научн.конф. Методы профилактики и борьбы с эхинококкозами и другими цестодозами человека и животных.-Москва: 16-17 июня, 1993. №7-9.

10. SchweigerA., GrimmF., TannerI. etal. Serological diagnosis of echinococcosis: the diagnostic potential of native antigens //*Infection*.-2012.- Vol.40.-P.139-152.

11. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein – dye binding // *Anal. Biochem*. - 1976. - Vol. 72, № 4. – P. 248-254.

12. Егоров А.М., Осипов А.П., Дзантиев Б.Б., Гаврилова Е.М. Теория и практика иммуноферментного анализа. М.: 1991.