

АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН  
ИНСТИТУТ ЗООЛОГИИ

На правах рукописи

АЛПАЕВ Нурлан Сейлбекович  
ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ  
ЛИЧИНОК ВЕРБЛЮЖЬЕГО ОВОДА И  
ПАЗАРИТО-ХОЗЯИНЫЕ ОТНОШЕНИЯ  
ПРИ ЦЕФАЛОПИНОЗЕ

03. 00. 19-паразитология

А в т о р е ф е р а т  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

г. Алма-Ата, 1992

Работа выполнена в Алма-Атинском ордена Трудового Красного Знамени ветеринарном институте, лаборатории паразитологии при кафедре паразитологии.

Научный руководитель - заслуженный деятель науки  
Казахской ССР, доктор биологических  
наук, профессор ХВАН М.В.

Официальные оппоненты: доктор биологических наук  
КУСОВ В.Н.  
кандидат биологических наук  
КАЦОВА Л.Б.

Ведущая организация: Киргизский ордена "Знак Почета" сельско-  
хозяйственный институт имени К.И.Скрябина

Защита диссертации состоится " 28 " февраль 1992 г.  
в 10 часов на заседании специализированного совета К.008.17.01  
в Институте зоологии АН Республики Казахстан по адресу: 480032,  
г. Алма-Ата, Институт зоологии.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института  
зоологии АН Республики Казахстан.

Автореферат разослан " \_\_\_\_\_ " \_\_\_\_\_ 1992 г.

Ученый секретарь  
Специализированного совета,  
кандидат биологических наук



Р.Т.Ахметбекова

## ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Верблюдоводство в Казахстане является одной из важнейших отраслей животноводства. Более половины всего поголовья верблюдов страны концентрируется на территории республики.

Развитие отрасли сдерживается различными болезнями инвазионного и инфекционного характера. Одной из таких болезней является цефалопиноз. В связи с высокой интенсивностью и экстенсивностью инвазии верблюдоводству причиняется значительный экономический ущерб. По данным Ш.Чарыева (1984), только от потери мясной продуктивности в расчете на одно животное ущерб составляет 44 рубля. Д.И.Благовещенский с соавт. (1937), А.А.Абиджанов (1950), Г.И.Куничкин (1975), И.Н.Ашетьова (1987) отмечают, что при тяжелой форме болезни может наступить даже гибель животного.

Главной причиной широкого распространения болезни является недостаточная изученность вопросов биологии, ранней прижизненной иммунодиагностики и мер борьбы с носоглоточным оводом верблюдов.

Изучение этих вопросов дополнит некоторые аспекты иммунобиологических особенностей данной инвазии и позволит ускорить разработку научно обоснованных мер борьбы с ней.

Цель и задачи исследований. Целью исследований являлось изучение иммунобиологических особенностей личинок верблюжьего овода и паразито-хозяйинных отношений при цефалопинозе.

Для достижения поставленной цели требовалось решить следующие задачи:

1. Разработать способ получения экскреторно-секреторного антигена от личинок цефалопин с последующим испытанием его в различных иммунодиагностических исследованиях.

2. Изучить диагностическую ценность реакции непрямой гем-агглютинации и иммуноферментного анализа (ИФА) при цефалопинозе верблюдов.

3. Изучить вопросы наработки гипериммунных сывороток к экскреторно-секреторному антигену и использовать их в антиген-выявляющих вариантах ИФА.

4. Изучить некоторые особенности динамики антителогенеза и антигемии при спонтанном цефалопинозе верблюдов и определить примерные сроки заражения верблюжат в одном из хозяйств юга Казахстана.

5. Определить чувствительность личинок носоглоточного овода верблюдов к инсектицидам и их сочетаниям *in vitro*, а также эффективность диаксофоса в сочетании с диметилсульфоксидом при спонтанном цефалопинозе верблюдов.

6. Определить пригодность антигенвыявляющего варианта ИФА для контроля эффективности химиотерапевтических мероприятий.

Научная новизна. Разработан способ получения экскреторно-секреторного цефалопинозного антигена от личинок цефалопин и изучена возможность использования его в иммунодиагностических исследованиях; предложены антитело- и антигенвыявляющие варианты ИФА для выявления в сыворотке крови верблюдов экскреторно-секреторных антигенов личинок носоглоточного овода и их специфических антител, что позволяет прикизненно диагностировать цефалопиноз верблюдов, а также проследить паразито-хозяйинные отношения. Доказана высокая ларвицидная эффективность дисалара-0 и ивомека и перспективность применения сочетаний инсектицидов с диметилсульфоксидом в борьбе с цефалопинозом верблюдов.

**Практическая ценность.** Согласована с Всесоюзным государственным научно-контрольным институтом ветпрепаратов (ВГНКИ) и утверждена Главным управлением ветеринарии при Государственной комиссии Совета Министров СССР по продовольствию и закупкам нормативно-техническая документация на следующие препараты:

1. Антиген цефалоспориновый лиофилизированный
2. Сухая гамма-глобулиновая фракция к цефалоспориновому антигену.

Согласована с ВГНКИ ветпрепаратов нормативно-техническая документация на "Антитела к цефалоспориновому антигену, меченные пероксидазой для иммуноферментного анализа".

Препараты ивомек и дисалар-0, а также диаксофос в сочетании с диметилсульфоксидом могут быть использованы в борьбе с цефалоспоринозом верблюдов.

**Апробация работы.** Материалы диссертации доложены на республиканской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов "Вклад молодых ученых и специалистов в интенсификацию агропромышленного комплекса", Алма-Ата, 1989, 1990 гг.; Координационном совете по НИР и ОКР в верблюдоводстве, Москва, 1989 г.; Рабочем совещании при заместителе директора по госконтролю ВГНКИ ветпрепаратов, Москва, 1990 г.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано три статьи и получено авторское свидетельство № 1522491.

Подано две заявки на предполагаемые изобретения, на которые получены положительные решения и приоритетные справки.

**Структура и объем работы.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения результатов исследований, выводов, практических предложений, списка ис-

пользованной литературы (отечественных и зарубежных авторов), приложений.

Работа изложена на 112 страницах машинописного текста, иллюстрирована 9 рисунками и 10 таблицами.

### ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзоре литературы освещены вопросы биологии, распространения, патогенеза, иммунодиагностики оводных болезней и мер борьбы с цефалопинозом верблюдов.

### СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### Материалы и методы исследований

Работа выполнялась с 1986 по 1990 гг. в проблемной лаборатории паразитоценологии при кафедре паразитологии АЗВИ, а также в хозяйствах и мясокомбинатах Алма-Атинской, Кзыл-Ординской и Чимкентской областей. Вскрытие голов павших и убитых верблюдов производили по методике Н.Ф.Щербаня (1976). Стадии развития личинок носоглоточного овода определяли по К.Я.Грунину (1953). Всего обследовано 286 голов верблюдов и собрано 6229 личинок цефалопин разных стадий развития.

Исходным материалом для получения экскреторно-секреторного антигена служили живые личинки носоглоточного овода верблюдов, извлеченные при послеубойном осмотре.

Личинок тщательно промывали водопроводной водой комнатной температуры, ополаскивали дистиллированной водой и подсушивали фильтровальной бумагой.

Затем личинок помещали в различные культуральные жидкости: среду Игла, 199, солевой раствор Хенкса и забуференный физиологический раствор (рН 7,2-7,4).

В качестве антисептиков к средам добавляли натриевую соль бензилпенициллина и стрептомицина в дозе 100 ЕД на 1 мл раствора.

В культуральных жидкостях после удаления личинок содержание белка определяли на спектрофотометре СФ-26 при длине волны 280 нм. Затем жидкость центрифугировали при 15 тыс. об/мин в течение 30 минут. Полученный супернатант диализировали против дистиллированной воды 24 часа при 4°C. Диализат концентрировали в 30%-ном растворе полиэтиленгликоля (ПЭГ-600).

Полученный экскреторно-секреторный цефалопинозный антиген хранили при -20°C или лиофилизировали.

Хроматографическое разделение антигена проводили методом гель-фильтрации, используя для этого сефадекс G-200 и хроматографическую колонку размером 25x70 см. Элюирование вели 0,5M Трис-буферным раствором (рН 8,6).

Содержание белка во фракциях определяли на спектрофотометре СФ-26 при длине волны 280 нм.

Реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА) ставили с эритроцитами барана, обработанными формалином по методу K. Walsbach (1958). Сенсибином служили экскреторно-секреторные антигены личинок цефалопин. Конъюгацию проводили танином (S. Boyden, 1951) и риванолом (В.А.Шамардин, Б.В.Каральник, 1978). Постановку РНГА проводили в микроварианте, используя полиметилметакрилатные планшеты многократного пользования с U-образным дном.

Неспецифические агглютинирующие факторы сорбировали на фиксированных эритроцитах. Для этого к осадку от 3 мл 10%-ной взвеси эритроцитов добавляли 1 мл исследуемых сывороток крови, астриктив-

ли и выдерживали при 37°C один час.

При постановке РНГА с исследуемыми сыворотками крови использовали эритроцитарный диалектикум.

Имуноферментный анализ проводили по методике A. Voller et al. (1976).

Для получения специфических гипериммунных сывороток к экскреторно-секреторным антигенам личинок цефалопин проводили иммунизацию кроликов методами Fey et al. (1976), Г.Фримеля (1987) и Fey et al. в нашей модификации. Всего в опытах использовано 72 кролика. При иммунизации использовали приготовленный нами полный адъювант Фрейнда (ПАФ). Эмульгирование адъюванта с цефалопинозным антигеном, введение его, взятие крови у кроликов проводили по методу М.Горвица и М.Шарффа (1972).

Содержание антител в сыворотке крови иммунизированных кроликов определяли реакцией количественной преципитации (M. Heidelberger, 1938) и имуноферментным анализом (A. Voller et al., 1976). Из полученных антисывороток методом высаливания сульфатом аммония выделяли гамма-глобулиновую фракцию, а затем путем ионообменной хроматографии на диэтиламинометан (ДЭАЭ)-целлюлозе выделили иммуноглобулин G (IgG).

Для получения анти IgG к Ig верблюда использовали вышеуказанные методики. Конъюгацию анти IgG кролика к экскреторно-секреторным антигенам личинок цефалопин, а также анти IgG кролика к верблюжьим иммуноглобулинам с пероксидазой хрена (Олайнинского производства, с показателем чистоты R<sub>z</sub> - 2,7-3,2) проводили периодатным методом по P.K. Nakane et al. (1974). Титр конъюгатов определяли ИФА. Полученный конъюгат концентрировали с помощью ПЭГ-600 и концентрацию белка доводили до 1 мг/мл, после чего к нему добавляли бычий сывороточный альбумин до концентрации 10 мг/мл



и хранили при  $-20^{\circ}\text{C}$  или лиофилизировали.

Иммуноферментное определение экскреторно-секреторного антигена личинок цефалопин в сыворотке крови верблюдов проводили в трех вариантах. Во всех случаях постановки реакции в качестве субстратно-индикаторной смеси применяли субстрат, предложенный D. J. Milena et al. (1980). Субстрат готовили из смеси 5-аминосалициловой кислоты и перекиси водорода (конечная концентрация - 0,005%). В качестве комплексирующего буфера использовали 0,1 М фосфатно-солевой буферный раствор (рН 7,2-7,4), содержащий 0,05% Тритон X-100.

Учет результатов реакции проводили визуально по разнице окраски контроля и опыта. Для контроля использовали сыворотки крови верблюжат текущего года рождения, свободных от личинок носоглоточного овода.

Изучение некоторых особенностей динамики антителогенеза и антигенемии проводили на 19 верблюдах 2-3-летнего возраста, спонтанно инвазированных цефалопинозом (использовали антителный и антигенный варианты ИФА).

Определение примерных сроков заражения верблюжат личинками носоглоточного овода проводили на 15 верблюжатах 1,5-2,5-месячного возраста, используя для этого антигенвыявляющий вариант ИФА.

Чувствительность личинок носоглоточного овода верблюдов *in vitro* к диметилсульфоксиду (ДМСО), сульфидофоса-20, диаксофосу, дисалару-0 и ивомеку изучали в условиях лаборатории. ДМСО использовали в качестве синергиста и пролонгатора. Личинок III стадии развития носоглоточного овода верблюдов, извлеченных из организма хозяина, подвергали обработке путем топикального нанесения препарата на поверхность тела личинок в чистом виде и в сочетании. Инсектициды применяли в дозе 0,4-0,6 мкл на одну личинку. ДМСО ис-

пользовали в 100-50-25%-ной концентрации в соотношении с инсектицидами 1:1, 1:3. Чувствительность личинок к применяемым препаратам определяли по проценту их гибели в течение 3-5-7-10-15 часов после обработки.

Эффективность диакофоса в сочетании с ДМСО при спонтанном цефалопинозе верблюдов определяли на 16 верблюдах разнополовозрастных групп. Результаты учитывали послеубойным осмотром животных на мясокомбинате.

Исследования по контролю эффективности химиотерапии при спонтанном цефалопинозе верблюдов провели на 16 верблюдах, используя для этого антигенвыявляющий вариант иммуноферментного анализа. Полученные результаты контролировали послеубойным осмотром животных на мясокомбинате.

Расчет эффективности препаратов проводили согласно методическим указаниям по испытанию пестицидов, предназначенным для борьбы с эктопаразитами животных, разработанным А.А.Непоклоновым и Г.А.Талановым (1973).

#### Получение экскреторно-секреторного цефалопинозного антигена

В настоящее время в прижизненной диагностике оводовых инвазий сельскохозяйственных животных используются различные иммунобиологические методы исследования. Использование этих методов позволяет проводить диагностику на ранних стадиях развития болезни и выявлять только инвазированных животных.

Однако в исследуемых диагностических тестах применяются соматические антигены, недостатком которых, по мнению ряда авторов, является наличие помимо соматических белков, антигенно не активных, стромальных белков.

В связи с этим одной из основных задач исследований являлось получение от личинок носоглоточного овода верблюдов экскреторно-секреторного антигена и испытание его в различных иммунодиагностических тестах. В целях разработки методов получения экскреторно-секреторных антигенов нами были проведены исследования с использованием различных культуральных жидкостей (среда Игла, I99, солевой раствор Хенкса и забуференный физиологический раствор (рН 7,2-7,4) Личинок цефалопин разных стадий развития помещали в культуральные жидкости при различных температурных режимах (22°C, 27°C, 32°C, 37°C, 40°C).

Установлено, что интенсивность экскреторно-секреторной фракции личинок носоглоточного овода верблюдов зависит от температурного режима и используемой культуральной жидкости. Максимальная активность секреции-эксcreции личинок цефалопин отмечается при температурном режиме 37°C. Наибольшее количество секреторно-экскреторного антигена получили, используя питательную среду I99 и забуференный физиологический раствор (рН 7,2-7,4).

В процессе исследований по получению экскреторно-секреторного цефалопинозного антигена определена длительность выживания личинок цефалопин в зависимости от используемых культуральных жидкостей. Так, в солевом растворе Хенкса, среде Игла и забуференном физиологическом растворе (рН 7,2-7,4) длительность выживания составила для личинок I стадии одни сутки и II и III стадий - двое суток. Наиболее длительное выживание личинок обеспечивала среда № I99: для личинок II стадии развития - до 4 суток, а для I и III стадий - до 3 суток.

Отсюда следует, что используемые культуральные жидкости обеспечивают выживание личинок цефалопин в течение 4 суток и позволяют наработать достаточное количество экскреторно-секреторного

антигена.

Нами проведено определение хроматографического профиля полученного антигена гель-фильтрацией. На колонке с сефадексом G-200 провели хроматографическое разделение экскреторно-секреторного антигена. В процессе хроматографического разделения антиген элюировался несколькими фракциями, что указывает на его гетерогенность.

При иммунологическом анализе фракций было установлено, что иммунологически активными были первая и вторая фракции, которые представлены белками высокой молекулярной массы, превышающей 200000 дальтон, поскольку они выходили в исключительном объеме элюента, рассчитанном для этой колонки и этого типа геля.

В связи с тем, что иммунологическая активность была связана с белковыми фракциями, содержащими большую часть белка метаболитов, нужды в дальнейшей очистке антигена хроматографическими методами не было, и мы в последующей работе использовали нефракционированный экскреторно-секреторный цефалопинозный антиген.

Изучение диагностической ценности реакции  
непрямой гемагглютинации и иммуноферментного  
анализа при цефалопинозе верблюдов

Для получения цефалопинозного эритроцитарного диагностикума использовали формализированные эритроциты барана (Вайнбах, 1958), экскреторно-секреторный цефалопинозный антиген и конъюгирующие агенты (риванол и танин).

Проведенные нами опыты показали, что используемые конъюгирующие агенты обеспечивают различную чувствительность эритроцитарных диагностикумов в реакции с одними и теми же сыворотками крови верблюдов, больных цефалопинозом. Максимальную чувствительность обеспе-

чивал сенситин в концентрации белка 100 мкг/мл при конъюгации риванолом, где титр антител в сыворотке крови составлял 1:640. При использовании танина увеличивался расход сенситина до 250 мкг/мл со снижением чувствительности реакции в два раза.

Помимо РНГА нами изучена диагностическая ценность иммуноферментного анализа. При постановке ИФА основная задача состояла в определении зависимости чувствительности реакции от количества сорбированного антигена на полистироловых планшетах (мкг/мл). Максимальная чувствительность реакции проявилась при сорбировании цефалопинозного антигена в количестве от 14 до 20 мкг/мл. При этом титр антител варьировал от 1:1280 до 5120, а при сорбировании 2-4 мкг/мл и 20-30 мкг/мл происходило снижение чувствительности реакции в несколько раз.

После определения оптимальных параметров постановки РНГА и ИФА провели сравнительное изучение чувствительности этих реакций, используя сыворотки крови верблюдов, спонтанно больных цефалопинозом. Полученные результаты показали, что иммуноферментный анализ в 2-3 раза чувствительнее реакции непрямой гемагглютинации.

РНГА и ИФА вполне приемлемы для массовых диагностических исследований верблюдов на цефалопиноз.

Получение гипериммунных сывороток к цефалопинозному антигену и использование их в антигенвыявляющем варианте иммуноферментного анализа

В связи с отсутствием коммерческого цефалопинозного диагностикума необходимо было наработать в достаточном количестве гипериммунные сыворотки с высоким содержанием антител к цефалопинозному антигену.

Иммунизацию кроликов цефалопинозным антигеном проводили тремя методами: по методу Roy et al. (1976), Г.Фримеля (1987) и по методу Roy et al. (1976) в нашей модификации.

Сущность третьего метода состоит в том, что для повышения титра антител проводят циклы внутривенных инъекций цефалопинозным антигеном без полного адъюванта Фрейнда.

Из испытанных трех методов наиболее эффективным оказался метод Roy et al. (1976) в нашей модификации. Иммунизируя кроликов по этой схеме, мы получили антисыворотки с более высоким титром антител. Максимальные титры антител при этом составили в ИФА и реакции количественной преципитации 1:20480 и 1900 мкг соответственно.

Постановку антигенвыявляющего варианта ИФА проводили по трем схемам:

1. Первым компонентом, сорбируемым на полистироловые планшеты, является исследуемая сыворотка крови, на которую затем сорбировали антицефалопинозный иммуноферментный конъюгат, а затем субстратно-индикаторную смесь.

2. В качестве первого компонента, вносимого на полистироловые планшеты для сорбции, является исследуемая сыворотка крови верблюдов, на которую затем сорбировали гамма-глобулиновую фракцию гипериммунной сыворотки крови кроликов к цефалопинозному антигену. Затем последовательно вносили антивидовой кроличий конъюгат и субстратно-индикаторную смесь.

3. Первым сорбирующим компонентом является гамма-глобулиновая фракция, выделенная из гипериммунной сыворотки крови кроликов к цефалопинозному антигену, на которую сорбировали исследуемую сыворотку крови верблюдов и антицефалопинозный иммуноферментный конъюгат.

юрат с последующим внесением субстратно-индикаторной смеси.

Во всех схемах постановки использовали одни и те же сыворотки крови, полученные от инвазированных животных. Контролем служили сыворотки крови верблюжат текущего года рождения, свободных от личинок носоглоточного овода.

Сравнительный анализ трех схем постановки реакции показывает, что во втором случае достигается высокая чувствительность и титр антигена равен 1:320. В первом и третьем случаях максимальный титр антигена составил 1:160 и 1:80 соответственно.

Результаты исследований показали, что оптимальными параметрами сорбирования вносимых биополимеров на полистироловые плашки являются температурный режим 4°C в течение 16-18 часов, использование 0,1 М фосфатно-солевого буферного раствора с pH 6,5-8,5.

Изучение некоторых особенностей динамики  
антителогенеза и антигенемии при спонтанном  
цефалопинозе верблюдов и определение  
примерных сроков заражения верблюжат

Положительные результаты, полученные при использовании иммуноферментного анализа в диагностике цефалопиноза верблюдов, позволили изучить некоторые особенности реакции организма хозяина на паразитирование личинок цефалопин.

Результаты исследований показали, что с октября по декабрь титр экскреторно-секреторных антигенов в сыворотке крови животных составлял от 1:20 до 1:80, а с января по март увеличивался в 3-4 раза. Уровень специфических антител к экскреторно-секреторному антигену личинок цефалопин в течение исследуемого периода возрастал в несколько раз (от 1:640 до 1:5120).

При проведении опытов установлено, что после химиотерапии дисаларом-0 на 8-12 дни титр секреторных антигенов в сыворотке крови снижался от 1:80 до 1:20 и 1:10, а после 20 дня антигены не регистрировали, тогда как специфические антитела к экскреторно-секреторным антигенам выявлялись в течение всего периода исследований (7 месяцев).

Результаты послеубойного осмотра полностью коррелируют с предварительно полученными данными серологических исследований.

Использование антигенвыявляющего варианта ИФА позволило нам определить примерные сроки заражения верблюжат текущего года рождения в совхозе "30 лет Казахстана" Чилийского района Кызыл-Ординской области.

Результаты исследований показали, что на территории хозяйства в 1989г. примерный срок заражения верблюжат приходился на вторую декаду июня (период исследования - с мая до второй декады августа). В сыворотках крови верблюжат в первую очередь регистрировали свободноциркулирующие и неполные иммунные комплексы экскреторно-секреторных антигенов в титре 1:10, который увеличивался, а затем до конца опытов сохранялся на уровне 1:20. Специфические антитела к экскреторно-секреторным антигенам личинок цефалопин выявляли через 10 дней после регистрации антигена в титре 1:10. В конце третьей декады июля титр увеличивался до 1:40, а к концу опыта - до 1:320.

Таким образом, данные проведенных исследований показали, что антигенвыявляющим вариантом ИФА можно не только диагностировать цефалопиноз верблюдов, но и установить примерные сроки заражения верблюжат текущего года рождения носоглоточным оводом.



Определение чувствительности личинок носоглоточного овода верблюдов in vitro к инсектицидам и их сочетаниям с диметилсульфоксидом

Нами было проведено изучение чувствительности личинок носоглоточного овода верблюдов к инсектицидам и их сочетаниям с диметилсульфоксидом. ДМСО использовали в качестве высокопроницающего осмотически активного носителя лекарственных средств.

Проведенные исследования показали, что личинки очень чувствительны к фосфорорганическим инсектицидам. При обработке личинок сульфидофосом-20 и диаксофосом наблюдали их гибель от 94,2% до 100% в течение 10 часов после нанесения препарата, а при использовании ивомека и дисалара-0 за это же время наблюдали гибель от 77,5% до 94,7% личинок.

Сравнительный анализ свидетельствует о том, что гибель личинок от применения инсектицидов без сочетания с ДМСО в течение трех часов после обработки составил II,4%-43,8%, в то же время при применении инсектицида с ДМСО - I3,4%-48,4%.

Кроме того, одной из задач исследования явилось определение оптимальной концентрации диметилсульфоксида, применяемого в сочетании с инсектицидами.

Как показали опыты, при обработке личинок инсектицидами в сочетании с ДМСО 50%-ной концентрации наблюдался наибольший процент гибели. Так, если при нанесении диаксофоса в сочетании с ДМСО 25%-ной концентрации в соотношении I:I, 3:I в течение 5 часов после обработки наблюдали гибель 65,4%-70% личинок соответственно, то при использовании ДМСО 50%-ной концентрации - 67,9% и 90,2% соответственно.

Эффективность действия диаксофоса в сочетании  
с диметилсульфоксидом при спонтанном цефало-  
пинозе верблюдов

Были проведены опыты по определению эффективности действия диаксофоса (15 мг/кг) и его сочетаний (12 мг/кг) с диметилсульфоксидом 50%-ной концентрации в соотношении 1:1 на спонтанно инвазированных верблюдах.

Для выяснения эффективности препаратов через 21 день после обработки животных подвергали убою и обследовали наличие личинок носоглоточного овца верблюдов.

Так, интенсивность (ИЭ) диаксофоса против личинок верблюжьего овца составила 72,2%, а в сочетании с ДМСО - 77,7%. При этом диаксофос как в сочетании с ДМСО, так и без него оказывает 100%-ную эффективность действия на личинок I стадии развития.

Кроме того, применение диаксофоса в сочетании с ДМСО снижает действие токсических соединений на организм животных и окружающую среду.

Использование в таких сочетаниях препаратов открывает большие возможности для борьбы с цефалопинозом верблюдов.

Контроль эффективности химиотерапии  
при цефалопинозе верблюдов антигенвыявляющим  
вариантом ИФА

Использование антигенвыявляющего варианта ИФА позволило провести нам не только прижизненную диагностику цефалопиноза верблюдов, но и осуществить контроль эффективности химиотерапии против данной инвазии. В связи с этим были проведены испытания противопаразитарных препаратов - ивомека и дисалара-0. Об эффективности

препаратов судили по динамике экскреторно-секреторных антигенов личинок овода, регистрируемых антигенвыявляющим вариантом ИФА до и после обработки.

Если до обработки животных титр регистрируемых экскреторно-секреторных антигенов личинок оводов в сыворотке крови составлял 1:160, 1:180, то после обработки дисаларом-0 и ивомеком титр постепенно снижался и к окончанию опыта составлял 1:20, 1:10 соответственно. В контрольной группе титр экскреторно-секреторных антигенов личинок цефалопин в сыворотке крови увеличивался и варьировал в пределах 1:160-1:320.

В целях достижения достоверности полученных данных животных опытных и контрольной групп к концу опытов подвергали убою. Послеубойные исследования подтвердили высокую ларвицидную эффективность препаратов. Интенсивность составляла 93% и 89,2% соответственно.

Снижение титров экскреторно-секреторных антигенов личинок цефалопин в сыворотке крови хозяина до 1:10, 1:20 свидетельствует о низкой паразитемии, а следовательно, и об эффективности примененных препаратов.

## ВЫВОДЫ

1. Используемые культуральные жидкости (среда I99, среда Игла, раствор Хенкса и забуференный физиологический раствор (рН 7,2-7,4) обеспечивают выживание личинок цефалопин до 4 суток, что позволяет получить экскреторно-секреторный цефалопинозный антиген.

2. Полученные экскреторно-секреторные антигены личинок цефалопин пригодны для реакции непрямой гемагглютинации, иммуноферментного анализа и позволяют выявить специфические антитела в этих

реакциях в титре I:80-I:640 и I:640-I:10240 соответственно.

3. Антигенвыявляющий вариант ИФА пригоден для прижизненной диагностики цефалопиноза верблюдов и выявляет свободноциркулирующие и неполные иммунореактивные комплексы, а также позволяет определять примерные сроки заражения верблюжат цефалопинозом и осуществлять контроль за эффективностью проведения лечебно-профилактических мероприятий.

4. После заражения верблюжат личинками носоглоточного овода в сыворотке крови экскреторно-секреторный антиген регистрируется в титре I:10 до I:20, а специфические антитела выявляются через 10 дней после регистрации антигена и титр их составляет от I:10 до I:320.

5. Установлено, что экскреторно-секреторные антигены личинок цефалопина в сыворотке крови сохраняются до 20 дней после лечения, тогда как сывороточные антитела сохраняются в течение 7 месяцев в титре I:20-I:2560.

6. Доказана высокая ларвицидная эффективность препаратов дисалара-0 и ивомека при цефалопинозе верблюдов (ИЭ - 89,2% и 93% соответственно).

7. Сочетание фосфорорганических инсектицидов с высокопроницающим носителем - диметилсульфоксидом позволяет повысить эффективность их действия на личинок носоглоточного овода верблюдов и снизить дозу основного действующего вещества.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Предложен способ получения экскреторно-секреторных антигенов от личинок цефалопин для использования их в различных иммунодиагностических исследованиях.

2. Для прижизненной диагностики цефалопиноза верблюдов и контроля эффективности проводимых лечебно-профилактических обработок рекомендуем антигенвыявляющий вариант иммуноферментного анализа.

3. Для борьбы с цефалопинозом верблюдов рекомендуется изомек и дисалар-0, а в целях повышения эффективности действия инсектицидов с одновременным снижением дозы предлагается применять их в сочетании с диметилсульфоксидом.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Алпаев Н.С., Зуев В.В. Прижизненная диагностика цефалопиноза верблюдов. // Республиканская научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов: "Вклад молодых ученых и специалистов в интенсификацию агропромышленного комплекса". - Тезисы докладов. Алма-Ата, 1989, с.9.

2. Хван М.В., Зуев В.В., Капанов А.А., Алабаев Д.М., Алпаев Н.С., Пушкарев А.С. Новое в экскреторно-секреторной функции личинок носоглоточных, подкожных и желудочных оводов и меры борьбы с энтомозами сельскохозяйственных животных. // Диагностика, лечение и профилактика паразитарных и ассоциативных болезней животных в Казахстане. Межвузовский сборник. Алма-Ата, 1989, с.5-36.

3. Алпаев Н.С., Зуев В.В. Получение гипериммунной сыворотки к метаболитам верблюжьего овода. // Республиканская научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов "Вклад молодых ученых и специалистов в интенсификацию агропромышленного комплекса". Тезисы докладов. Алма-Ата, 1990, с.4.

4. Способ получения антигена от личинок овода (Авт.свидетельство № I52249I. Заявка № 4370735).

5. Способ борьбы с болезнями сельскохозяйственных животных, вызываемыми подкожными и носоглоточными оводами (Решение государственной научно-технической экспертизы изобретений № 4372478/I5/0I8836).

6. Способ иммуноферментного определения наличия метаболитов личинок оводов в сыворотке крови животных. (Приоритет № 4755100/I5/I33402 от I ноября 1989г.