

Қарабасова А.С., Мусоев А.М., Асанов Н.Ғ.

Қазақ ұлттық аграрлық университеті

ШОШҚАНЫҢ РЕПРОДУКТИВТІ-РЕСПИРАТОРЛЫ СИНДРОМЫН БАЛАУДЫҢ ИММУНОЛОГИЯЛЫҚ ӘДІСТЕРІ

Аңдатпа

Мақалада Алматы облысында орналасқан шошқа шаруашылығында байқалған жаңа аса қауіпті індетті ауру шошқаның репродуктивті-респираторлы синдромы жайлы деректер келтірілген. Ауруды анықтауда биологиялық нысандарға егу, иммунологиялық әдістер ТЕИФР, ИФТ арқылы ажырату, алынған нәтижелер туралы жазылған. Ауруды анықтау кезінде болатын қиындықтарға талдау жасалған.

Кілт сөздер: Репродуктивті-респираторлы, тауық эмбрионы, иммуно-флюоресценция, иммуноферменттік талдау.

Кіріспе

Ауылшаруашылық жануарларының арасында жұқпалы аурулар кең көлемде тараған жағдайда орасан экономикалық шығынға әкеліп соқтырады. Осындай аурулардың қатарынан шошқаның репродуктивті-респираторлы синдромы ауруын атауға болады. Біздің республикамызда бұл індет 2007 жылдардың басында алғаш рет байқала бастады. Бұл ауруға байланысты басты қиындықтардың бірі, ол індеттің ветеринар мамандарға таныс еместігі, ол туралы ғылыми-практикалық деректердің жоқтығынан мамандар тарапынан көптеген жағдайларда тиісті шараларды жүргізуде қателіктер кетеді.

Тарихи деректер бойынша, алғаш шошқаның репродуктивті-респираторлы синдромы (ШРРС) ауруы АҚШ-та 1987 жылы тіркелген. 1990 жылы Германия, Голландия мемлекеттерінде анықталған. Аурудың қоздырушысы жөнінде әртүрлі көзқарастар болды, тек қана 1991 жылы аурудың қоздырушысы вирус екені дәлелденді. Алғаш рет Голландияның Лелистад қаласының шошқа фермасында ауырған торайдан вирусты бөліп алған ғалымдар Wensvoort, D.Terpstra анықтаған болатын. Олар вирусты шошқа өкпесінің макрофагтар өсіндісінде бөліп алып, «Лелистад агенті» деп атады. Халықаралық эпизоотия бюросының (ХЭБ) 1991 жылы шешімімен ШРРС нозологиялық бірлік ретінде Б тобына тіркеліп, әлі толық зерттелмеген аурулар ретінде есепке алынды.

Қазіргі кезде ШРРС ТМД елдерінің көпшілігінде бар екені белгілі болып отыр. Алғаш Ресейдің Курск облысында 1991 жылы, Белоруссияда 1994 жылы, біздің елімізде 2007 жылы анықталған [1].

Бүгінгі таңда ШРРС дүние жүзінің 38 елінде тіркелген, әсіресе індеттік ахуал Европа елдерінде қатты шиеленіскен, ондағы 45 мемлекеттің 20-да осы індет тіркелген [2]. Аурудың соңғы жылдары ғана анықталғанын ескерсек, республикамызда бұл індетті жан-жақты тексеруді қажет ететіндегі қазіргі кезеңнің кезек күттірмейтін талабы деуімізге болады. Осыған байланысты шошқаның бұл індеті жайлы қысқаша деректерді келтіру орынды сияқты.

ШРРС-ның синонимдері: көкшіл құлақ, індетті кеш іштастау. Ауру мегежіндердің кеш іш тастауымен буаздықтың 90-100 күндерінде, ерте торайлаумен 110-112 тәулігінде, мегежіндердің бедеулігімен, өлі, мумияланған, әлсіз торайлардың өлімге ұшырауымен және енесінен ажыраған торайлардың тыныс мүшелерінің қабынуымен ерекшеленетін жұғымтал вирустық ауру.

Соңғы деректерге қарағанда құрамында РНҚ бар Nidovirales реттігіне, Arteriviridae тұқымдастығына, Arterivirus туыстығына жатады. Жылқының вирустық артеритінің, маймылдың геморрагиялық қызбасының, тышқанның лактодегидрогеназасының көбеюінің

қоздырушыларымен антигендік байланысы бар. Стаунның (1994 жылы) болжамынша, ШРРС вирусы негізінен тышқанның лактодегидрогеназасының вирусынан пайда болып, жаңа жануарда- шошқа организмінде өсіп, бейімделуінің нәтижесі деп түсіндіреді.

ШРРС вирусының негізінен екі генотипін ажыратады: американдық және еуропалық. Еуропалық штамдар бір типке топтасады, ал американдық бөлінділердің антигендік құрылымы өзгеріп отырады. Жалпы ШРРС вирусының штамдарының уыттылығы, антигендік және молекулярлық құрылымы жиі өзгерістерге ұшырайды.

Вирусты бөліп алу үшін, шошқаның альвеоларлы макрофагтарының өсіндісін және MARC-145 торша өсіндісін қолданады. Сонымен қатар вирусты өсіру үшін шошқаның кеңірегінің мүшелік өсіндісін, торайлардың альвеоларлық макрофагын, MARC-145, CL-2621, CRL-117 торша өсінділерін пайдаланады. Торшаларда өсу нәтижесінде оларда ЦПӨ байқалады, оған сәйкес торшалар шеңбер тәрізденіп пикнозға ұшырап, кейіннен жеке-жеке ажырап кетеді.

Вирионның көлемі 45-65 нм, құрамында нуклеокапсид 20-35 нм және липидті сыртқы қабықшадан тұрады. Вирустың геномы біртүзбекті +РНК-дан тұрады. Торшада өсу кезінде РНҚ 7 матрикті гендер бөлініп, ұлпа өз кезегінде жеті вирус белоктарының –N, M, E, GP4, GP3, GP2, РНҚ-полимеразасының түзілуін реттейді. Сыртқы орта жағдайына вирус төзімді: 56⁰С-та 9 сағатта күшін жояды, 4⁰С-та 1 айға дейін сақталады. Дезинфектанттардың әсерінен жылдам күшін жояды.

Ауру қоздырушысының бастауы ауру және вирус алып жүруші шошқалар. Аурудан жазылған шошқалар 3 айға дейін вирус алып жүруші болып қалады. Сау шошқаларға ауру жанау, азық арқылы, жыныстық жолмен, ауа арқылы беріледі. Денеге еніп тарағаннан кейін, көбінесе вирус плацента арқылы төлдің денесіне еніп, түрлі патологиялық өзгерістерге ұшыратады. Аурудың берілу факторлары ретінде басқа жануарлар, құстар, адамдар да қатысады. Индет көбінесе эпизоотия түрінде өтіп, жылдың кез келген мезгілінде байқалады, бірақ негізінен индеттің ушығуы мегежіндердің торайлайтын кезеңімен байланысты. Индеттік процесс екі фазадан тұрады. Алғашқы жіті байқалатын клиникалық фазасы орташа 4-10 аптаға созылып, бұл кезде мегежіндерде іш тастау, мезгілінен ерте торайлау 8% асып, өлі туу 20% артық, енесінен айырғанға дейінгі өлім көрсеткіші 25%-дан асады. Бұдан кейін индеттің екінші фазасы, аурудың созылмалы, жасырын түрлері байқалады.

Ауру байқалған шаруашылықта көп уақытқа дейін индет жөнінен сәтсіздік сақталады. Оған иммунитеттің қысқа уақытқа 6 айға түзілуі, әр топтағы малдарды бірге араластырып ұстау, жаңа малдарды әкелу, т.б. факторлар әсер етеді.

Аурудың жасырын кезеңі 4-35 күн. Бастапқы кезде мал азықтан бас тартады, кейбір шошқалардың құлақ, танау терісі қызғылт тартып, кейін көкшіл тартады. Аурудың алғашқы белгілері тыныс мүшелері немесе көбею мүшелерінің зақымдануымен сипатталады. Ауру әдетте жіті, созылмалы және клиникасы бәсеңдеу түрде байқалады.

Аурудың жіті түрінде ауырған мал азықтан бас тартып, дене қызуы 40,5°-41° С-қа көтеріледі, буаз мегежіндерде буаздықтың 90-110 күндерінде іш тастау, мезгілінен ерте туу, өлі, мумияланған түсіктер, өміршендігі нашар торайлардың тууы байқалады. Алғашқы екі аптада іш тастау 60-70%, үшінші аптада 50%, 4 айдан кейін 10%-ды құрайды. Жаңа туған торайларда өсу барысында әртүрлі жетіспеушіліктер жиі байқалады. Ауырып жазылған шошқалар қайталап ауырмайды, мегежіндер қайталап іш тастамайды, бірақ ауырып жазылған малдарда жиі бедеулік байқалады.

ШРРС зерттеудегі белгілі қиындықтар туғызатын мәселелердің негізгісі, ол ауру қоздырушысын өсіретін нысандарды анықтау. ШРРС вирусын өсіру үшін ғалымдар зор еңбек, ізденістер жүргізді. Нәтижесінде моноцитарлы-макрофагтар қатарындағы альвеолярлы макрофагтар, қан айналымының моноциттері, өкпе қан тамырларының ішіндегі макрофагтардың аса бейім екендігі анықталды [3]. Кейіннен жүргізілген зерттеулердің нәтижесінде вирустың ауысып егілетін торша өсінділерінде солардың ішінде африканың жасыл маймылының төлінің бүйрегінің торша өсіндісі MARC-145, ATCC CL2621, CRL117 өсін беретіні белгілі болды [4].

ШРРС балау қою үшін бірінші кезекте өкпе мен түсікті, төлдің ішкі ұлпаларының кесінділерін, ауырған мегежіннің, торайдың, қан сарысуын, т.б. патматериалдар пайдаланады.

Вирустың антигенін анықтау үшін тікелей иммунофлюоресценция реакциясын (ТИФР) және патматериалдың бекітілген немесе мұздатылған ұлпадан дайындалған кесіндіні иммуногистохимиялық әдіспен (ИГХР) бояйды. Вирусты тікелей бөліп алу үшін шошқаның альвеолярлы макрофагын (ШАМ) немесе сезімтал торша өсінділерін пайдаланады.

ШРРС балауда көбінесе ауру малдың қан сарысуындағы арнайы антиденелерді анықтау жақсы нәтиже береді. Ол үшін тікелей емес иммунофлюоресценция реакциясы (ТЕИФР), иммуноферментті талдау реакцияларын (ИФТ) пайдаланады. ИФТР екі вариантын қолданады: гистохимиялық және қатты фазалық түрлері.

Сонымен қатар классикалық бейтараптандыру (БР) реакциясын пайдаланады. Вирустың геномын анықтау үшін соңғы кезде полимеразды тізбек реакциясы (ПТР) кең қолданыла бастады.

Бұл мақалада ШРРС ауруы жөнінен сәтсіз шаруашылықта індетке балау үшін жүргізілген жұмыстардың нәтижесі келтірілген.

Материалдар мен әдістер

Жұмыс барысында ШРРС вакциндік «БД-ДЕП» штамы пайдаланылды. Патматериал ретінде Алматы облысының №1 шошқа өсіретін кешенінің әртүрлі өндірістік топтарынан алынған патматериал (түсікті торайлардың ішкі мүшелері: өкпе, кеңірдек, бауыр, бүйрек, сөл түйіндері және т.б.) қан сарысулары алынды.

Балау әдістері ретінде тікелей емес иммунофлюоресценция реакциясы (ТЕИФР) және иммуноферменттік талдау реакциясы (ИФТ) қолданылды.

ТЕИФР қажетті балаулық жиынтық ретінде Ресейдің ВНИИВиМ шығарған диагностикумдар, ИФТ қоюға Ресейдің НПО НАРВАК кәсіпорын дайындаған «РРС-Серотест» және АҚШ-тың IDEXX концерні шығарған «Herd Chek Test Kit» жиынтықтарын өндірушінің нұсқауларына сәйкес пайдаланылды.

Зерттеу нәтижелері және талдау

Алынған патматериалдан вирусты бөліп алу үшін ішкі мүшелерден езінді дайындап, антибиотиктер қосып өндегеннен кейін, центрифугада 10 минут 3000 айн/мин. тұндырып, 7 күндік тауық эмбрионының хорионалантоис қабықшасына ектік. Қалған материалды кейінгі торша өсінділерін дайындағаннан кейін қолдануға -35°C сақтауға қойдық. Егілген тауық эмбриондарын термостатта (37° C) 10 күнге дейін күнде тексеріп отырып ұстадық. Нәтижесі 1-кестеде келтірілген.

1-кесте - Тауық эмбрионына егудің нәтижесі

Пайдаланылған нысан	Тәжірибе қойылған эмбриондарсаны	Бақылау мерзімі (күндер)										Тірі қалған эмбриондар
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
7 күндік тауық эмбрионы	10		*	*								8

Ескерту: * - өлген эмбрион

Нәтижесінде тәжірибеге алынған 10 эмбрионның 2, 3-күндері екеуі өлді. Оларды тексергенде ішкі ұлпаларда аса қатты өзгерістер байқалмады. Қалған эмбриондар (8) толықтай тәжірибе аяғына дейін өзгерістерге ұшыраған жоқ. Алдын ала қорытындылауға әлі де тексерулер жүргізу қажет, жалпы әдебиеттегі шолуларға сүйенсек ШРРС вирусы тауық эмбрионына сезімтал еместігі жөнінде деректер бар. Алынған патматериалды және тәжірибеге пайдаланылған тауық эмбриондарын тікелей емес иммунофлюоресценция әдісімен тексердік. Ол үшін өлген торайлардың жүрегінен, бүйрек, өкпе, сөл түйіндерінен,

көкбауырдан, тимустан, қолқа миндалиндерінен жағынды дайындалып, содан кейін өндірушінің нұсқауларына сәйкес бояп, нәтижесін люминисцентті микроскоппен (МЛ-3) қарадық. Нәтижесі төмендегі 2-кестеде келтірілген.

2-кесте - Патматериалды ТЕИФ реакциясымен тексеру нәтижесі

№	Биоматериал түрі	ТЕИФ реакциясының нәтижесі			
		1	2	3	4
1	Өкпе	+++	++	-	+
2	Жүрек	-	-	-	-
3	Бүйрек	-	-	-	-
4	Бауыр	-	-	-	-
5	Сөл түйіндері	++	+	-	-
6	ТЭ 2 күнгі	-	-	-	-
7	ТЭ 3 күнгі	-	-	-	-

Ескерту: + оң нәтиже
- теріс нәтиже

Иммунофлюоресценция әдісімен тексергенде өкпеден, сөл түйіндерін дайындалған препараттарда оң нәтиже берді. Көкшіл-жасыл жарқырау әртүрлі деңгейде байқалды, бақылау препараттарында күнгірт бозғылт жарық берді. Биоматериалмен зардаптанған тауық эмбриондары теріс нәтиже берді. ТЕИФ әдісімен ШРПС ауырған шошқалардан алынған биоматериалдарды зерттеуге болатындығын және тез арада нәтижесін алуға болады. Бұл бағытта әлі қосымша зерттеулер жүргізіп, эксперимент жүзінде жан-жақты тексеріп көру қажет. ШРПС балауда серологиялық зерттеулер кеңінен қолданылады. Ол үшін көптеген биотехнологиясы жоғары деңгейде өркендеген мемлекеттер балаулық жиынтықтар шығарады. Біздің зерттеулерде ИФТ реакциясын қою үшін Ресейдің НАРВАК ҒӨБ шығарған «РРСС-Серотест» жиынтығын қолдандық. Өндірушінің жиынтықты пайдалану үшін ұсынған нұсқауына сәйкес қабылданған компьютерлік бағдарлама зерттеудің нәтижесін көрсетеді. Соған сәйкес тексерудің нәтижесі зерттеуге алынған қан сарысуымен оң нәтижелі бақылау көрсеткіштерінің оптикалық тығыздығын салыстырмалы түрде анықтауға негізделген. «РРСС Серотест» жиынтығында оң нәтиже деп есептелетін S/P ара қатынасы кем дегенде > 0,3 жоғары болуы керек. Серологиялық тексеру үшін шошқа шаруашылығынан ауру жөнінен күдікті деп есептелген 25 сынама қан сарысуын алдық. Алынған биоматериалды ИФТ әдісімен тексерудің нәтижесі 3-кестеде келтірілген.

3-кесте- ИФТ реакциясының нәтижесі

№	ИФТ РРСС-серотест		№	ИФТ РРСС-серотест	
	S/P	нәтижесі		S/P	нәтижесі
1	0,64	+	13	0,42	+
2	0,02	-	14	2,65	+
3	0,72	+	15	1,92	+
1	2	3	4	5	6
4	1,70	+	16	0,01	-
5	1,14	+	17	0,08	-
6	2,02	+	18	1,22	+
7	1,9	+	19	1,35	+
8	0,012	-	20	0,01	-
1	2	3	4	5	6

9	0,023	-	21	0,25	-
10	1,12	-	22	0,28	-
11	2,01	+	23	2,31	+
12	1,63	+	24	1,78	+
			25	0,56	+

ИФТ әдісімен зерттеудің нәтижесінде тексеруге алған 25 қан сарысуының 17 (68%) оң нәтиже берді.

Қорытынды

ШРРС анықтау үшін қазіргі кезде иммунологиялық реакциялар және молекулярлы-генетикалық әдістер кеңінен қолданыла бастады. Бастапқы кезде ШРРС серологиялық балау үшін ең алғашқы ұсынған ТЕИФР, ГХ-ИФТ болды [5]. Екі реакция тәнділігі, сезімталдығы жағынан жоғары деңгейде (92-95%) көрсеткіштер берді. Вирусты өсіретін жаңа ауыстырып өсіретін торша өсінділерін алғаннан кейін және тест-препараттардың көмегімен вирустың америкалық, еуропалық сероварианттарын ажырату мүмкін болды. Қазіргі уақытта ИФТ көптеген варианттары ұсынылды. Осыған қарамастан қазіргі кезде ШРРС дүние жүзінде кең тараған инфекциялардың бірі болып есептеледі. Оның себептері көп, ауру шошқалар ұзақ ауырып жазылғаннан кейін, вирус алып жүруші болып қалады. Ол кезде серологиялық әдістермен оларды анықтау көптеген жағдайда мүмкін болмайды. Тағы да қиындықтар туғызатын жағдай, қазіргі біздегі қолданыстағы вакциндік препараттардың иммуногендік деңгейі төмен, сол себептен кей жағдайда індеттік ахуалдың шиеленесуіне әкеліп соқтырады. Осы жағдайды жеңілдету мақсатында шошқа қан сарысуындағы вирусқа қарсы антиденелерді кластарына, яғни IgM және IgG антиденелерін ажыратып анықтауға бағытталған серологиялық әдістер пайдаланыла бастады. Біз биоматериал алған шошқа фермасында ШРРС ауруы бар екені, біздің ТЕИФР, ИФТ әдістерін пайдаланып жүргізген зерттеулеріміз дәлел бола алады. Олай деуімізге біз биоматериал алған фермадағы шошқалар ШРРС қарсы вакцинамен егілмегендігі қосымша біздің болжамымызды растай түседі.

Әдебиеттер

1. Асанов Н.Г., Карабасова А.С., Мусоев А.М., Серологическая диагностика репродуктивно-респираторного синдрома свиней Материалы Межд.научно-практ.конф. Алматы. КазНУ. Вестник. Серия экологическая. №1/2 (40) 2014г.- стр.9.
2. Соколов М.А. Биологические свойства штаммов вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней: автореф. дис. канд. биол. наук:16.00.03/Соколов Михаил Александрович.-М., 2004.-25 с.
3. Yoon K.-J.Virology/ K.-J. Yoon//2003 PRRS Compendium: second edition.- National Pork Board, Des Moines, Iowa, 2003.-P.163-184.
4. Collins J.E. Isolation of swine infertility and respiratory syndrome virus (isolate ATCC VR-2332) in North-America and experimental reproduction of the disease in gnotobiotic pigs / J.E. Collins[et al.] // J. Vet. Diagn. Invest.-1992.-Vol.4.-P.117-126.
5. Wensvoort G. Mystery swine disease in the Netherlands: The isolation of Lelystad virus /G. Wensvoort [et al.] //Vet. Q.-1991.-Vol.13.-P.121-130.

Карабасова А.С., Мусоев А.М., Асанов Н.Г.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ РЕПРОДУКТИВНО-РЕСПИРАТОРНОГО СИНДРОМА У СВИНЕЙ

В работе дана оценка по чувствительности и специфичности различных методов иммунологической диагностики репродуктивно-респираторного синдрома у свиней. В

качестве биологического объекта куриные эмбрионы оказались малочувствительными к данному вирусу.

Ключевые слова: Репродуктивно-респираторный, куриные эмбрионы, иммунофлюоресценция, иммуноферментный анализ.

Karabasova A.S., Musoev A.M., Asanov N.G.

IMMUNOLOGICAL METHODS DIAGNOSTICS REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROME IN PIGS

In this paper the estimation of the specificity and sensitivity of various diagnostic methods immunological reproductive and respiratory syndrome in pigs. As a biological object chick embryos were insensitive to this virus.

Keywords: reproductive and respiratory, chicken embryos, immunofluorescence, enzyme immunoassay.

ӘОЖ 619:615.92

Мазаржанов Б.М., Нұрғазы Б.Ө.

Қазақ ұлттық аграрлық университеті, Алматы

ҚОЙ ДИКТИОКАУЛЕЗІ КЕЗІНДЕГІ ПАТОГИСТОЛОГИЯЛЫҚ ӨЗГЕРІСТЕР

Аңдатпа

Диктиокаулезбен ауырған қозылар организмінде патологиялық гистологиялық өзгерістер тіршілікке маңызды барлық дерлік мүшелерде байқалды. Олар дистрофиялық, аллергиялық өзгерістермен, қабынумен, қан айналымының және микроциркуляцияның бұзылуымен сипатталды.

Кілт сөздер: диктиокаулез, патогистологиялық, периваскулярлы домбығу, түйірлі дистрофия, пневмония, эмфизема, ателектаз, микрогеморрагиялар, катарлы қабыну.

Кіріспе

Қазақстанда қой шаруашылығы мал шаруашылығының негізгі саласы болып табылады. Алайда оның қарқынды дамуына қойдың көптеген аурулары кедергі тудырады. Сондай аурулардың бірі кең таралған, жиі кездесетін, келтіретін экономикалық шығыны зор гельминтоз – диктиокаулез. Еліміздегі жарияланған мақалалар арасынан біз қой диктиокаулезінің патологиясы жөнінде деректер кездестірмедік.

Диктиокаулез – жануарлардың жүдеуімен, жөтелімен, тыныс алу қызметінің нашарлауымен сипатталатын маусымдық инвазиялық ауруы.

Қазақстанда ветеринария мен денсаулық сақтау үшін гельминтофаунаны және гельминтоздарды зерттеудің ғылыми ғана емес, тікелей тәжірибелік маңызы да бар [1]. Ғылыми әдебиеттерге сүйенетін болсақ, Ресейдің кейбір жеке шаруашылықтарында күйіс қайыратындардың 38-40 % гельминтоздарға шалдығады екен. Мысалы Саратов облысында қой мен ірі қара мал төлдерінің диктиокаулюстармен инвазияланғаны 9,9 % құрайды [2]. Ауру әсіресе жайылымға бірінші жылы шыққан жас малда өте зілді өтеді. Кейбір зерттеушілердің мәліметтері бойынша Қазақстанда диктиокаулезден өлген қозылардың саны ауырған малдың 12,0% құраған [3]. Диктиокаулез жануарлардың өнімділігінің төмендеуіне және өліміне әкелетін ауыр патологиялық анатомиялық өзгерістер тудырады.

Осы мақалада диктиокаулезбен ауырып, лажсыздан өлтірілген қозылар организміндегі патологиялық гистологиялық өзгерістерді келтіріп отырмыз.