ЗАСГИЙН ГАЗРЫН ХЭРЭГЖҮҮЛЭГЧ АГЕНТЛАГ

МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ЕРӨНХИЙ ГАЗАР

УЛСЫН МАЛ ЭМНЭЛЭГ, АРИУН ЦЭВРИЙН ТӨВ ЛАБОРАТОРИ

МОНГОЛ УЛСЫН МАЛ ЭМНЭЛГИЙН АЛБА

МАЛ, АМЬТНЫ ЗАРИМ ӨВЧНИЙ ОНОШИЛГОО, ВАКЦИНЫ ГАРЫН АВЛАГА

ХОЁРДУГААР БОТЬ

АЛБАН ХЭРЭГЦЭЭНД

Улаанбаатар хот – 2025 он

.

© Мал эмнэлгийн ерөнхий газар, Улсын мал эмнэлэг, ариун цэврийн төв лаборатори. 2025 он

Орчуулсан: Содномдаржаагийн ДЭЛГЭРЦЭЦЭГ *(MSc.)*
Рүүрагчийн СОДНОМДАРЖАА, *Профессор (Ph.D)*

Орчуулгын редактор: Өлзийбатын ГЭРЭЛМАА *(MSc.)*
Рүүрагчийн СОДНОМДАРЖАА, *Профессор (Ph.D.)*

Дизайнер:
Цаасны хэмжээ:
Хэвлэлийн хуудас:
Хэвлэсэн газар: ХХК-д хэвлэв.

ӨМНӨХ ҮГ

Монголын мал эмнэлгийн албa Дэлхийн мал, амьтны эрүүл мэндийн байгууллага (ДМАЭМБ)-д гишүүнээр элссэнээс хойш тус байгууллагын бодлого чиглэлтэй уялдсан, өөрийн орны онцлогийг харгалзсан олон улсын стандартад нийцсэн үйл ажиллагаа явуулах чиг баримжааг баримталсаар ирэв. Үүний нэг илрэл бол ДМАЭМБ-ын жил бүрийн ерөнхий чуулганаар батлан гишүүн улсдаа зөвлөмж болгодог Газрын амьтны эрүүл мэндийн кодекс (ГАЭМК)-ыг 2022 онд монгол хэлнээ орчуулан хэвлэж мал эмнэлгийн албаны бүтцийн болон малын эрүүл мэндтэй холбогдсон бүхий л байгууллагуудын удирдах болон гүйцэтгэх ажилтан, малын их, бага эмч нар мал, амьтны гаралтай бүтээгдэхүүн, тэжээл үйлдвэрлэгч, экспортлогч, импортлогч, борлуулагч, хэрэглэгч нартаа өргөн барьсан үйл явц билээ. Нэг мянган А4 нүүр бүхий хоёр боть номын цахим эхийг ДМАЭМБ-ын веб хуудсанд байршуулсныг уншигч Та татан авч аль сонирхсон сэдвээ сонгон ашиглах боломжтой юм.

Энэ удаад мал эмнэлгийн лабораторид ажиллагсад болон вакцин, биобэлдмэлийн үйлдвэрлэл эрхлэгч, чанар шалгагч нарын өдөр тутмын албан хэрэгцээнд зориулан Монгол улсын мал сүрэгт өргөн тохиолдож нийтийн эрүүл мэнд, олон улсын худалдаа, хүнсний бүтээгдэхүүний аюулгүй байдал, улс орны эдийн засагт сөргөөр нөлөөлдөг ДМАЭМБ-ын тусгай ангиллын 40 нэрийн халдварт, шимэгчтэх өвчнийг сонгон тэдгээрийн оношилгоо, тандалтын арга, вакцин, оношлох биобэлдмэл болон мал эмнэлгийн лабораторийн менежмент, биохамгааллын талаарх аргазүйн 10-н лавлах мэдээллийг ГАЭМК-ын нэгэн хэсэг болох “Газрын амьтны өвчний оношилгоо, вакцины гарын авлага’-ын 2023-2025 оны хэвлэлтээс орчуулан албан хэрэгцээнд зориулан ашгийн бус зорилгоор хэвлүүлэн түгээж байна.

ДМАЭМБ-ын 183 гишүүн улсын төлөөлөгчид, нарийн мэргэжлийн экспертүүдийн боловсруулж харилцан хүлээн зөвшөөрсөн мал, амьтны өвчний оношилгооны эдгээр олон улсын стандарт аргыг Монгол улс гишүүн орны хувьд мал эмнэлгийн албаныхаа бүхий л үйл ажиллагаанд нэвтрүүлэх үүргийг хүлээдэг билээ. Ийнхүү мал, амьтны өвчний оношилгоо, тэмцэх арга хэмжээний (вакцины) олон улсын эдгээр стандартыг Монголын Мал эмнэлгийн албa өөрийн үйл ажиллагаандаа байнга мөрдөн ажиллаж, үр дүнтэй хэрэгжүүлснээр манай орны мал, амьтан, тэдгээрийн гаралтай бүтээгдэхүүний олон улсын худалдааны чөлөөт байдал, хүнсний аюулгүй байдал болон хил дамжин халдварладаг мал, амьтны халдварт өвчинтэй тэмцэх шуурхай, баталгаат байдал зүй ёсоор хангагдана.

Сайн үйлс дэлгэрэх болтугай!

Мал эмнэлгийн ерөнхий газрын даргын үүргийг түр орлон гүйцэтгэгч
ДМАЭМБ-ын Монгол Улс дахь төлөөлөгч
Монгол Улсын Ерөнхий малын эмч Х.Алтангэрэл

ӨМНӨХ ҮГ

Монгол улсад нэгэн зууны тэртээ үүсэн байгуулагдаж тасралтгүй бэхжин хөгжсөөр үйл ажиллагаа нь нэгэнт жигдэрсэн Монголын мал эмнэлгийн албаны бүтцийн тулгуур нэг салбар нь Улсын мал эмнэлэг ариун цэврийн төв лаборатори (УМЭАЦТЛ) толгойлсон мал эмнэлгийн үйлчилгээний сүлжээ лабораториуд юм. 1947 оноос эхлээд 1960 он хүртэл нийслэл хот, бүх аймгийн төвд байгуулагдсан мал эмнэлгийн лабораториудын нэг үндсэн чиг үүрэг нь мал, амьтны халдварт өвчнийг шуурхай зөв оношлох, үр нөлөөтэй тандах, түүний үр дүнд суурилсан тэмцэх арга хэмжээг зааварчлах, зөвлөхөд оршино.

Монгол улс Дэлхийн мал, амьтны эрүүл мэндийн байгууллага (ДМАЭМБ)-д 1989 онд гишүүнээр элссэн цагаас хойш түүний гаргасан журам, зөвлөмж, стандартыг үйл ажиллагаандаа мөрдөхийг эрхэмлэж ирэв. Манай лабораторийн ажилтнууд мэргэжлийнхээ мэдээллийг өдгөө англи хэл дээр авч ашиглах чадвартай болж байгаа хэдий ч оношилгоо, тандалтын ажилдаа олон улсын хэмжээний эдгээр стандартыг бүх ажилтан нэгдсэн нэг зөв ойлголтоор, алхам алхмаар нэвтрүүлэх шаардлага тулгарч байна.

ДМАЭМБ-аас гишүүн улс орнуудын мал эмнэлгийн албадын чанарыг сайжруулахад онцгой анхааран кодексын болон гарын авлагын хэлбэрээр гаргасан олон улсын стандартыг ялангуяа мал, амьтны өвчний оношилгоо тандалтын ажилд нэвтрүүлэх шаардлагын талаар ДМАЭМБ- ын төлөөлөгч, Монгол улсын Ерөнхий малын эмчтэй зөвлөлдсөний үндсэн дээр мал эмнэлгийн лабораторийн ажилтан нарын өдөр тутмын албан ажлын хэрэгцээнд зориулан ДМАЭМБ-ын тусгай ангиллын 50 нэрийн халдварт өвчний оношилгоо, тандалтын арга, вакцин, оношлох биобэлдмэл болон мал эмнэлгийн лабораторийн менежмент, биохамгааллын тухай ДМАЭМБ-ын “Газрын амьтны өвчний оношилгоо, вакцины гарын авлага (ГАӨОВГА)-ын 2023, 2024, 2025 оны хэвлэлт”-ээс орчуулан хэвлэх ажлыг зохион байгуулж байна.

Шинжлэх ухаан, технологийн хурдацтай хөгжлийн үр дүнд мал, амьтны өвчний оношилгоо, вакцин, биобэлдмэлийн үйлдвэрлэл, хэрэглээтэй холбоотой арга, стандартууд тогтмол шинэчлэгдэж байна. Үүнтэй уялдуулан ДМАЭМБ-аас жил бүр шинэчлэн эрхлэн гаргадаг ГАӨОВГА-д орсон өөрчлөлт, шинэчлэлийг жил бүрийн долдугаар сард орчуулж, Мал, амьтны өвчний оношилгоо, вакцины гарын авлага (МАӨОВГА)-ын холбогдох сэдвүүдэд тусган шинэчилж байх зорилт тавьж байна. Мөн гарын авлагын цахим хувилбарыг УМЭАЦТЛ-ын цахим хуудсанд байршуулж, хүртээмжийг нэмэгдүүлэхийн зэрэгцээ эхний ээлжид сонгосон 50 сэдвээр хязгаарлахгүйгээр тусгай ангиллын бусад өвчний оношилгоо, тандалт болон холбогдох чиглэлийн сэдвээр үе шаттайгаар баяжуулан шинэчилж байхаар төлөвлөж байна.

Энэхүү гарын авлагыг бэлтгэх ажлыг дэмжиж, англи хэлнээс орчуулан, хянан тохиолдуулахад үнэтэй хувь нэмэр оруулсан малын эмч нарын баг болон орчуулга, хэвлэлийн ажлыг санхүүжүүлсэн “Мал аж ахуйн эдийн засгийн эргэлтийг нэмэгдүүлэх” төслийн хамт олонд гүн талархал илэрхийлье.

“Газрын амьтны өвчний оношилгоо, вакцины гарын авлага” нь мал эмнэлгийн лабораторийн мэргэжилтнүүдийн мэдлэг, ур чадварыг дээшлүүлэх, оношилгоо, тандалтын чанар, найдвартай байдлыг сайжруулах, олон улсын стандартыг үндэсний хэмжээнд нэвтрүүлэхэд бодитой хувь нэмэр оруулна гэдэгт итгэлтэй байна.

Мал эмнэлгийн онош зүйчдийн оношлох эрдэм төгс, бүтээл туурвил арвин байх болтугай!

Улсын мал эмнэлэг ариун цэврийн
төв лабораторийн захирал Ө.Гэрэлмаа

ЭРХЭМ УНШИГЧ ТАНАА

Дэлхийн мал, амьтны эрүүл мэндийн байгууллага (ДМАЭМБ)-ын нарийн мэргэжлийн экспертүүдийн боловсруулж шаардлагатай үед нь засвар оруулан жил бүр шинэчилж гаргадаг мал, амьтны өвчний оношилгоо, вакцин үйлдвэрлэл, түүний чанарын шалгалтын олон улсын стандарт аргуудаас орчуулан дээрх чиглэлээр ажиллаж байгаа манай мал эмнэлгийн албаны оношилгоо, судалгаа, үйлдвэрлэл, чанарын хяналтын мэргэжилтнүүддээ толилуулж байгаадаа бид туйлын баяртай байна.

ДМАЭМБ-ын Газрын амьтны эрүүл мэндийн кодекс - I ба II боть – 2022 (2026) зэрэг мал эмнэлгийн хууль эрх зүй, менежмент, малын өвчнийг оношлох, тэмцэх, устгах, эрүүл мэндийн статусыг тогтоох, баталгаажуулах, олон улсын худалдааг хөнгөвчлөхөд чиглэсэн арав гаруй бүтээлийг орчуулсан болон боловсруулсан туршлагадаа дулдуйдан бид мал эмнэлгийн шинжлэх ухааны ихэнх нарийн мэргэжлийн чиглэлийн онол, арга зүйн орчин үеийн мэдлэг, ойлголтыг багтаасан баялаг утга агуулга, практик ач холбогдол бүхий ДМАЭМБ-ын Мал, амьтны өвчний оношилгоо, вакцины энэхүү гарын авлагаас сонгож өгсөн сэдвийг аль болохоор үг гээлгүй, агуулгыг алдагдуулалгүй орчуулан хүргэхийг зорин хичээсний дүнд дэлхийн мал эмнэлгийн мэргэшсэн шилдгүүдийн харилцан зөвлөлдөж боловсруулсан 50 сэдэв бүхий 1000 гаруй нүүр хуудас нарийн мэргэжлийн тулгуур бүтээлийг өнөөдөр уншигч Танаа хүргэж байна.

Шинжлэх ухаан технологийн ирмүүн хөгжлийн үр дүнд мал, амьтны өвчнийг оношлох, тандах шинжилгээ, вакцины үйлдвэрлэл, чанар шалгалтад шинээр нэвтэрсэн арга технологийн, ихэвчлэн өмнө нь тодийлөн орчуулж хэрэглээгүй зарчим, механизм, ойлголт, нэр томьёоны агуулгыг чадан ядан орчуулснаа тайлбарлах ялдамд уншигч Та бүхний мэргэн оюун ухаан, нарийн мэргэжлийн зөвлөгөө, санал, шүүмжийг хүлээн авч жил бүр шинэчлэх цахим хувилбарт шингээснээр энэхүү гарын авлагын орчуулгын агуулга, нэр томьёо улам төгөлдөржинө гэж найдаж байна. Нөгөөтээгүүр энэхүү бүтээл дэх тодорхой нэрийн өвчин тус бүрд хамаарах арга технологийг эхлэн суралцагсдад бус харин тэр чиглэлийн мэдлэг ойлголтыг нэлээд өөриймшүүлсэн мэргэжилтэнд зориулан тухайн халдвар, өвчний оношилгоо, вакцин үйлдвэрлэл, чанарын шалгалт шинжилгээг биечлэн гүйцэтгэдэг, мэргэшсэн судлагч шинжлэгчид тайлбарласан бүтээл болох тул тухайн арга технологийг элдэв тодотголгүйгээр оноосон нэрээр нь, жишээ нь “олшруулалт”, “дараалал” гэх мэтээр шууд илэрхийлсэн зарим үгийн утгыг өмнөх бичвэрээс нь ухаж ойлгох хэрэгтэй байж магадгүйг уншигчиддаа учирлаж байна.

Шинжлэх ухааны нарийн мэргэжлийн утга төгөлдөр, гүн агуулга бүхий үг хэллэг, нэр томьёог аль болохоор зөв ойлгон орчуулахад чин сэтгэлээсээ тусалж зөвлөсөн профессор Д.Оргил, халдварт өвчин, бактери судлагч, малын зөвлөх эмч Ц.Сугир, математикч, магистр А.Эрдэнэсувд, биологич, доктор (Ph.D) Р.Сүнжидмаа, генетикч, магистр Ж.Тэмүүжин нартаа талархал дахин дэвшүүлье.

ДМАЭМБ-ын Мал, амьтны өвчний оношилгоо, вакцины гарын авлагаас бидний орчуулсан сэдэвтэй холбоотой санал, шүүмж, зөвлөгөө, хүсэлтээ УМЭАЦТЛ-ын захирлын цахим шуудангаар ирүүлнэ үү.

Номын цагаан буян дэлгэрэх болтугай.

Орчуулгын баг

ГАРЧИГ

ӨМНӨХ ҮГ		3-6
НЭР ТОМЬЁОНЫ ТОДОРХОЙЛОЛТ		7-12
БҮЛЭГ 24 (3.4.5)	ҮХРИЙН ТАРХИ САРХИАТАХ ӨВЧИН……	13-25
БҮЛЭГ 25 (3.4.7)	ҮХРИЙН ВИРУСТ ДИАРЕЙ……	26-61
БҮЛЭГ 26 (3.4.8)	ҮХРИЙН ЦЭЭЖ ӨВЧИН (*Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*)……	62-78
БҮЛЭГ 27 (3.4.9)	ҮХРИЙН ЭНЗООТ ЛЕЙКОЗ ӨВЧИН……..	79-92
БҮЛЭГ 28 (3.4.10)	ЦУСАН ХАЛДВАР (*Pasteurella multocida* 6:B 6:ба E ийлдсэн хэвшил)….	93-109
БҮЛЭГ 29 (3.4.11)	ҮХРИЙН ХАЛДВАРТ РИНОТРАХЕЙТ……..	110-128
БҮЛЭГ 30 (3.4.12)	АРЬС ТОВРУУТАХ ӨВЧИН……	129-146
БҮЛЭГ 31 (3.6.1)	АДУУНЫ АФРИК МЯЛЗАН……..	147-179
БҮЛЭГ 32 (3.6.2)	ГҮҮНИЙ САВНЫ ХАВЬТАЛ ХАЛДВАРТ ҮРЭВСЭЛ……	180-188
БҮЛЭГ 33 (3.6.3)	АДУУНЫ НИЙЛҮҮЛГИЙН ӨВЧИН……..	189-200
БҮЛЭГ 34 (3.6.5)	АДУУНЫ ЦУС БАГАСАХ ХАЛДВАРТ ӨВЧИН……	201-217
БҮЛЭГ 35 (3.6.6)	АДУУНЫ ТОМУУ ӨВЧИН……	218-236
БҮЛЭГ 36 (3.6.7)	АДУУНЫ ХАЧГИЙН ХАЛУУН ӨВЧИН.....	237-246
БҮЛЭГ 37 (3.6.8)	АДУУНЫ РИНОПНЕВМОНИ (Варицелловирус эквидальфа-1)……	247-265
БҮЛЭГ 38 (3.6.9)	АДУУНЫ ТАРААГУУР СУДАСНЫ ВИРУСТ ҮРЭВСЭЛ……	266-283
БҮЛЭГ 39 (3.6.10)	ЯМ ӨВЧИН БА ХУУРАМЧ ЯМ ӨВЧИН……..	284-296
БҮЛЭГ 40 (3.8.2)	ЯМААНЫ ҮЕ /ТАРХИНЫ ҮРЭВСЭЛ, МАЕДИ-ВИСНА/……	297-313
БҮЛЭГ 41 (3.8.3)	ХАВЬТАЛ ХАЛДВАРТ СОХОР ДОГОЛ ӨВЧИН……..	314-323
БҮЛЭГ 42 (3.8.4)	ГОДРОН ӨВЧИН.....	324-338
БҮЛЭГ 43 (3.8.7)	ХОНИНЫ ТӨМСГИЙН ХЭТНИЙ ҮРЭВСЭЛ.....	339-351
БҮЛЭГ 44 (3.8.8)	БОГ МАЛЫН МЯЛЗАН ӨВЧИН……..	352-368
БҮЛЭГ 45 (3.8.11)	ХОНИНЫ ЦЭЦЭГ БА ЯМААНЫ ЦЭЦЭГ ӨВЧИН……	369-382
БҮЛЭГ 46 (3.9.1)	ГАХАЙН АФРИК МЯЛЗАН.....	383-400
БҮЛЭГ 47 (3.9.2)	ГАХАЙН СОНГОМОЛ МЯЛЗАН ӨВЧИН……..	401-435
БҮЛЭГ 48 (3.9.6)	ГАХАЙН ҮРЖИЛ, АМЬСГАЛЫН ЗАМЫН ХАМ ШИНЖИТ ӨВЧИН…….	436-460
БҮЛЭГ 49 (3.10.2)	ЦИСТИЦЕРКТЭХ ӨВЧИН……	461-473
БҮЛЭГ 50 (3.10.3)	САЛМОНЕЛЛЁЗ……..	474-492

ДМАЭМБ-ын Газрын амьтны өвчний оношилгоо, вакцины гарын авлагын хэрэглэгчдэд хэрэгтэй байх магадлалтай нэр томьёог хязгаартайгаар сонгож тодорхойлолтыг дор оруулав.

- **Ажлын эх омог**

Зорчуулсан түвшнээрээ үндсэн эх омог болон үйлдвэрлэлийн омгийн хооронд байгаа бичил биет.

- **Антропоноз буюу хүнээс амьтанд халдвар дамжих**

Антропоноз гэж байгалийн жамаар хүнээс амьтанд дамжин халдварладаг халдвар эсхүл өвчнийг хэлнэ.

- **Анхдагч эс**

Хэвийн эдээс гарган авсан, дээд тал нь арван удаа сэлгэн өсгөвөрлөсөн, нийлүүлсэн эх эс.

- **Ариун чанар**

Амьдрах чадвартай бохирдуулагч бичил биетэн агуулаагүй болохыг батлагдсан, шаардлага хангах шинжилгээгээр нотлон харуулах

- **Аюулгүй чанар**

Үйлдвэрлэгчийн зөвлөсөн эсхүл санал болгосны дагуу хэрэглэхэд хэсэг газрын болон тогтолцооны гаж урвал үүсгэх шинж чанаргүй мал амьтан, хүн, хүрээлэн буй орчинд хавьцах ойртоход аюул учруулсан мэдээлэлгүй байх.

- **Баталгаажуулалт**

Зөв боловсруулж, ончийг нь тааруулж стандартчилсан шинжилгээний аргыг зориулалтаар нь хэрэглэхэд зорилгоо хангах эсэхийг тодорхойлох үйл явц.

- **Биоаюулгүй ажиллагаа**

Биологийн материалд санамсаргүй өртөх эсхүл тэдгээрийг тохиолдлоор алдахаас хамгаалах зарчим, бодит үйл ажиллагааг лабораторийн биоаюулгүй ажиллагаа гэж тодорхойлно.

- **Биологийн аюул (биоаюул) (CWA 15793:2011)**

Биологийн эмгэг төрүүлэгч эсхүл хороос үүсэх аюулын болзошгүй эх үүсвэр.

- **Биологийн эмгэг төрүүлэгч (CWA 15793:2011)**

Хүн, амьтан, ургамалд элдэв халдвар, харшил, хордлого үүсгэх боломжтой аливаа бичил биетэн, түүний дотор генетикийн аргаар өөрчилсөн, эсийн өсгөвөр, шимэгч орно. Жич: био эрсдэлийн дүн шинжилгээний хүрээнд прионыг биологийн үүсгэгч гэж үзнэ.

- **Биологийн эрсдэл (био эрсдэл) (CWA 15793:2011)**

Биологийн эмгэг төрүүлэгч эсхүл тэдгээрийн хор нь хор хохирлын эх үүсвэр байх тохиолдолд хор хохирол учрах магадлал ба хор хохирлын хэмжээний хослолыг хэлнэ. Жич: хор хохирлын эх үүсвэр нь санамсаргүй өртөх, тохиолдлоор гадагш гаргах эсхүл алдах, хулгайлагдах, буруугаар ашиглах, зориулалтыг нь өөрчлөх, зөвшөөрөлгүй авах, санаатайгаар зөвшөөрөлгүй гадагш гаргах зэрэг байж болно.

- **Биохамгаалал**

Лабораторийн доторх биологийн материал алдагдах, хулгайлагдах, буруугаар ашиглах, зөвшөөрөлгүй авах, санаатайгаар зөвшөөрөлгүй гадагш гаргахтай тэмцэхийг лабораторийн биохамгаалал гэж тодорхойлно.

- **Био эрсдэлийн удирдлага (ДМАЭМБ-ын Газрын амьтны эрүүл мэндийн кодекс)**

Био эрсдэлийн түвшинг бууруулахын тулд хэрэглэж болох арга хэмжээг олж тодорхойлох, сонгох, хэрэгжүүлэх үйл явцыг хэлнэ.

- **Био эрсдэлийн удирдлага хариуцсан зөвлөх (CWA 15793:2011)**

Байгууллагад учирч буй биоаюулын талаар мэргэшсэн, дээд удирдлага, ажилтнуудад биоэрсдэлийн удирдлагын асуудлаар зөвлөгөө өгөх мэдлэг, ур чадвартай хувь хүнийг хэлнэ.

- **Био эрсдэлийн удирдлагын тогтолцоо (CWA 15793:2011)**

Био эрсдэлийн бодлогыг боловсруулж хэрэгжүүлэх, био эрсдэлийг удирдахад ашиглах байгууллагын удирдлагын тогтолцооны нэг хэсгийг хэлнэ.

- **Био эрсдэлийн үнэлгээ (CWA 15793:2011)**

Биоаюулаас үчрах био эрсдэлийг үнэлэх үйл явц бөгөөд үүгээр аливаа хэрэгжүүлж байгаа хяналтын арга хэмжээг харгалзан үзэж био эрсдэл(үүд) нь зөвшөөрөгдөх эсэхийг шийдвэрлэнэ.

- **Био эрсдэлийн шинжилгээ (ДМАЭМБ-ын Газрын амьтны эрүүл мэндийн кодекс)**

Биологийн аюулыг таньж тогтоох, эрсдэлийг үнэлэх, био эрсдэлийг удирдах, био эрсдэлийн мэдээлэл харилцаа зэргээс бүрдэх үйл явцыг хэлнэ.

- **Босго мөчлөгийн утга (Ct утга)**

Бодит цагийн полимеразагийн гинжин урвалын гэрэлт дохио суурь хэмжээнээс давж гэрэлтэхэд шаардагдах олшруулалтын мөчлөгийн тоо

- **Вакцин**

Бичил биетэн, тэдгээрийн бүрэлдэхүүн хэсэг, хорын төрлөөс үл хамааран тэдгээрээс гаралтай эсхүл тэдгээрийг агуулж амьтанд өвчний эсрэг идэвхтэй дархлаа төрүүлэх зориулалттай бүх бүтээгдэхүүн орно.

- **Вирус саармагжуулах урвалд хэрэглэх шингэлэлт**

Вирус саармагжуулах урвалд хэрэглэдэг шингэлэлтийг илэрхийлэх хоёр өөр арга бий. Европт урвалд эсрэгтөрөгч нэмэхээс өмнө шингэлэлтийг тооцож ирсэн бол Америкийн Нэгдсэн Улс болон бусад улсад ихэвчлэн эсрэгтөрөгч нэмсний дараа шингэлэлтийг илэрхийлнэ. Газрын амьтны өвчний оношилгоо, вакцины гарын авлагад дээрх хоёр өөр хувилбарын эхнийхийг “эхний шингэлэлт”, харин хоёрдохыг “эцсийн шингэлэлт” гэж нэрлэсэн болно.

- **Гүйцэтгэлийн үзүүлэлт**

Анализийн мэдрэх болон өвөрмөц чанар, тохирол, нарийвчлал, оношилгооны мэдрэх болон өвөрмөц чанар,таарц, тохирцыг хамарсан шинжилгээний аргын шинж чанар.

- **Гэрлийн нягт**

Гэрэл шингээлтийг үзэх.

- **Дамжмал эс**

in vitro нөхцөлд үржих өндөр чадавхтай, түүнийгээ тогтвортой дамжуулдаг эсийн шугам

- **Дулаан тэсвэрлэх**

Вакцины тухайд дулаан тэсвэрлэх гэдэг нэр томьёог үйлдвэрлэгчийн зөвлөснөөс дээш температурт түр хадгалсны дараа хамгаалах дархлаа төрүүлэх чанараа хадгалах чадварыг тодорхойлоход хэрэглэнэ. Дулаан тэсвэрлэх чанарыг баримтаар нотолно.

- **Дүйцэх чанар**

Шинжилгээний шинэ аргад жижиг өөрчлөлт ороход түүний гүйцэтгэлийн шинж чанар баталгаажсан шинжилгээний адилаар статистикийн тогтоосон хязгаарт байгаа нөхцөлд энэ нэр томёог хэрэглэнэ.

- **Дээж**

Шинжилгээнд хэрэглэх зорилгоор сорьцоос дээжлэн авсан материал.

- **Зааг/Босго**

Дархлаа судлалд шинжилгээний сөрөг болон эерэг үр дүнг хооронд нь ялгаварлахаар сонгож тогтоодог зааг эсхүл босго утга бөгөөд үүнд тодорхойгүй эсхүл эргэлзээтэйд тооцох утгын хязгаарыг оруулж болно.

- **Идэвх**

Биологийн бүтээгдэхүүний идэвх нь дархлаа төрүүлэх идэвхтэй бүрэлдэхүүн хэсгийн төвшрүүлэг юм. Вакцины тухайд энэ нь дархлаа төрүүлэх өвөрмөц бодисын төвшрүүлэг ба эсрэг ийлдсийн тухайд өвөрмөц эсрэгбиеийн төвшрүүлэг юм.

- **Ийлдэсний урвал өөрчлөгдөх**

i) Тодорхой эсрэгтөрөгчид өвөрмөц ийлдэс судлалын шинжилгээ хийх нөхцөлд ийлдсийн сөрөг урвал эерэг урвалтай болж өөрчлөгдсөнийг нотлон харуулахыг

ЭСХҮЛ

ii) Цочмог өвчтэй болон өвчлөөд эдгэрсэн амьтны ийлдсэнд тодорхой эсрэгтөрөгчид өвөрмөц дараалсан шинжилгээ хийхэд эсрэгбиеийн агууламж дөрөв дахин эсхүл түүнээс илүү нэмэгдсэнийг нотлон харуулахыг хэлнэ.

- **Илрүүлэх хязгаар (ИлХ)**

ИлХ гэдэг нь заасан дээжид, наад зах нь цаг хугацааны тодорхой тогтоосон хувьд нь эерэг үр дүн гаргах шинжлэгдэхүүний тооцоолсон хэмжээ бөгөөд анализийн мэдрэх чанарын хэмжүүр юм

- **Лабораторийн хоорондын харьцуулалт (ур чадварын сорил)**

Нэг лаборатори лавлагаа болох шинжилгээний дээжийн шинж чанарыг тодорхойлоод түүнийг шинжлэхэд оролцсон хоёр болон түүнээс олон лабораторийн шинжилгээний аргын гүйцэтгэл болон эсхүл лабораторийн чадамжийн аливаа үнэлгээ.

- **Лабораторийн аюулгүй ажиллагаа**

Биоаюулгүй ажиллагааг үзэх.

- **Лабораторийн биохамгаалал**

Биохамгааллыг үзэх.

- **Лабораторийн дотоод шалгалт**

Шинжилгээний гүйцэтгэл болон техник ур чадварт хяналт шинжилгээ, баталгаажуулалт, тохируулга хийхэд шууд хамаарах лаборатори доторх чанарын үнэлгээний бүх үйл ажиллагаа.

- **Лавлах лаборатори**

Амьтны тухайн заасан өвчнийг эсхүл түүнийг шинжлэх арга зүйн талаар шинжлэх ухааны болон оношилгооны хүлээн зөвшөөрөгдсөн туршлагатай, тэр дундаа лавлагааны урвалж бодис болон дээжийн шинж чанар, хэрэглэх зориулалтыг тогтоох чадвартай лабораторийг хэлнэ.

- **Мэдрэх чанар (анализийн)**

”Илрүүлэх хязгаар”-тай ижил утгатай ба тогтоосон үнэмшилтэйгээр хэмжиж болох шинжлэгдэхүүний хамгийн бага илрэх хэмжээг хэлэх ба шинжлэгдэхүүнд эсрэгбие, эсрэгтөрөгч, нуклеин хүчил, амьд биетэн орно.

- **Мэдрэх чанар (оношилгооны)**

Халдвартай нь тогтоогдсон лавлагааны амьтан шинжилгээгээр эерэг дүн үзүүлсэн хувь хэмжээ. Халдвартай амьтныг шинжлэхэд сөрөг дүн үзүүлбэл хуурамч сөрөг үр дүн гэж үзнэ.

- **Мэдрэх чанар (харьцангуй)**

Нэг эсхүл хавсарсан шинжилгээний аргаар эерэг болохыг нь тогтоосон лавлагааны амьтныг харьцуулах шинжилгээний аргаар шинжлэхэд эерэг дүн үзүүлсэн хувь хэмжээ.

- **Нарийвчлал**

Тодорхой нөхцөлд ижил дээж шинжилгээний олон дахин хэмжилтийн доторх сарнилын (хувьсамж, стандарт алдаа, хувьслын коэффициент) зэрэглэл

- **Өвөрмөц чанар (анализийн)**

Үндсэн дээж доторх илрүүлэх гэж байгаа шинжлэгдэхүүн болон бусад бүрэлдэхүүн хэсгийг хооронд нь шинжилгээгээр ялгаварлаж чадах зэрэглэл ба анализийн өвөрмөц чанар өндөр байвал хуурамч эерэг үр дүн гарах түвшин доогуур байна.

- **Өвөрмөц чанар (оношилгооны)**

Халдваргүй нь тогтоогдсон лавлагааны амьтан шинжилгээгээр сөрөг дүн үзүүлсэн хувь хэмжээ. Халдваргүй амьтныг шинжлэхэд эерэг дүн үзүүлбэл хуурамч эерэг үр дүн гэж үзнэ.

- **Өвөрмөц чанар (харьцангуй)**

Нэг эсхүл хавсарсан шинжилгээний аргаар сөрөг болохыг нь тогтоосон лавлагааны амьтныг харьцуулах шинжилгээний аргаар шинжлэхэд сөрөг дүн үзүүлсэн хувь хэмжээ.

- **Өвөрмөц эсрэгбие сөрөг (ӨЭС)**

Тусгайлан заасан эмгэг төрүүлэгч бичил биетний эсрэгбие агуулаагүй нь шаардлага хангасан шинжилгээгээр тогтоогдсон амьтан мөн түүнчлэн ӨЭС сөрөг шувууны өндөгт хамааруулан хэрэглэнэ.

- **Солбицох урвал**

Хуурамч эерэг урвал хэсгийг үзэх

- **Сорьц**

Шинжилгээнд илгээх материал.

- **Стандарт урвалж**
  - Олон улсын стандарт урвалж

    Аливаа бусад урвалж, шинжилгээний аргад засвар тохируулга хийхэд ашиглах Олон улсын лавлах лабораторид бэлтгэж түгээдэг стандарт урвалж бодис
  - Үндэсний стандарт урвалж

Үндэсний лавлах лабораторид бэлтгэж түгээдэг, олон улсын стандарт урвалж бодистой харьцуулж засвар тохируулга хийсэн стандарт урвалж бодис

- Ажлын стандарт (урвалж)

  Үндэсний стандарт урвалж бодистой харьцуулж, үндэсний стандарт урвалж бодис байхгүй нөхцөлд өөрийн лабораторид шинж чанарыг нь маш сайн тодорхойлсон стандарт урвалж бодис ашиглан засвар тохируулга хийсэн, тогтмолжсон шинжилгээнд хяналт болон/эсхүл шинжилгээний үр дүнг залруулахад ашигладаг стандарт урвалж бодис

- **Таамагласан утга (сөрөг)**

Шинжилгээгээр сөрөг дүн үзүүлсэн учраас тухайн амьтан халдваргүй байх магадлал: таамагласан утга нь тухайн шинжилгээний оношилгооны мэдрэх чанар, оношилгооны өвөрмөц чанар, халдварын тархалтын функц юм.

- **Таамагласан утга (эерэг)**

Шинжилгээгээр эерэг дүн үзүүлсэн учраас тухайн амьтан халдвартай байх магадлал: таамагласан утга нь тухайн шинжилгээний оношилгооны мэдрэх чанар, оношилгооны өвөрмөц чанар, халдварын тархалтын функц юм.

- **Таарц**

Тодорхой нэг лабораторид шинжилгээний ижил аргаар нэг дор эсхүл өөр өөр цаг хугацаанд зэрэгцүүлэн шинжилсэн дээж хоорондын үр дүн таарах түвшин

- **Тархалт**

Тодорхой цаг хугацаанд популяци дахь халдвартай амьтны эзлэх хувийн үнэлэлт бөгөөд тохиолдолтой андуурч болохгүй

- **Тасалгааны температур**

Тасалгааны температур гэсэн нэр томьёогоор ажлын тохиромжтой орчны температурыг илэрхийлэх зорилготой. Үүнд нарийн хязгаар тогтоож болохгүй ч 18–25°C байлгахыг зөвлөдөг. Тухайн шинжилгээ явуулах температурыг тусгайлан зааж өгсөн тохиолдолд шаардлагатай бол агаар сэлгэгч ашиглан заасан температурыг бүрдүүлнэ; эс бөгөөс шинжилгээний үзүүлэлтэд нөлөөлж болзошгүй.

- **Тогтвортой байдал**

Тогтвортой байдал гэж шинжилгээ хийх нөхцөл байдалд гарч болох бага зэргийн хэлбэлзэлд үл автагдах шинжилгээний чадавхыг хэлнэ

- **Тохиолдол**

Тогтоосон тодорхой хугацаанд мэдрэмтгий популяцид тохиолдсон шинэ халдварын түвшний үнэлэлт, үүнийг тархалттай андуурч болохгүй

- **Тохирол**

Үйлчлэл эсхүл таньц нь мэдэгдэж байгаа лавлагаа стандарт урвалжийн үзүүлэх утгатай шинжилгээний утга ойролцоо байхыг хэлнэ.

- **Тохирц**

Нэг ижил дээжийг таслан хувааж өөр өөр лабораторид ижил аргаар шинжлэхэд тогтвортой үр дүн үзүүлэх шинжилгээний аргын чадвар.

- **Тусгайлан заасан эмгэг төрүүлэгч (ТЗЭТ) үгүй**

Тусгайлан заасан эмгэг төрүүлэгч бичил биетэн агуулаагүй нь шаардлага хангасан шинжилгээгээр тогтоогдсон амьтан, түүнчлэн ТЗЭТ-гүй шувууны өндөг.

- **Ур чадварын сорил**

Адилхан арга, урвалж, хяналт хэрэглэн шинжилгээ хийсэн лабораториудын чанараар илэрхийлсэн үр дүнг хооронд харьцуулж гаргасан лабораторийн чадамжийн нэг үнэлгээ.

- **Уялдуулал**

Ижил төстэй шинжилгээний аргад тохируулга хийх, шинжилгээнд эерэг сөргийг зааглах болон шинжилгээний үр дүнг илэрхийлэх утгыг харилцан тохирох зэргээр лабораториуд шинжилгээний дүнг нэгдсэн нэг аргаар боловсруулж үнэлдэг байх лаборатори дундын тохиролцооны үр дүн.

- **Үйлдвэрлэлийн эх омог**

Цааш өсгөвөрлөхгүйгээр бэлдмэлийн бөөний үйлдвэрлэлийг эхлүүлэхэд хэрэглэх зорчуулалтын тодорхой түвшинд байгаа бичил биетэн.

- **Үндсэн эх омог (үүсгэгч, омог)**

Зорчуулах бусад бүх эх омгийн эх үүсвэр болсон, зорчуулалтын тогтоосон түвшинд байгаа, нэг цувралаас олж бэлтгээд нэг үйл ажиллагаагаар хуваарилан савлаж хамтад нь боловсруулж хадгалсан бичил биетний нэгэн жигд байдал, тогтвортой чанарыг хангах, бохирдохоос хамгаалах үүднээс жижиглэн тасалж авсан бичил биетний цуглуулга

- **Үндсэн эх эс (шугам, эх, нөөц)**

Биологийн бүтээгдэхүүн үйлдвэрлэх эсхүл шинжлэхэд хэрэглэхээр тогтоосон түвшинд зорчуулж, нэг үйл ажиллагаагаар хуваарилан савлаж хамтад нь боловсруулж хадгалсан эсийг нэгэн жигд байдал, тогтвортой чанарыг нь хангах, бохирдохоос хамгаалах үүднээс жижиглэн тасалж авсан эсийн цуглуулга

- **Үр нөлөө**

Зөвлөсөн нөхцөлд хэрэглэхэд үйлдвэрлэгчийн санал болгосон үр дүнд хүргэх биологийн бүтээгдэхүүний онцгой чанар.

- **Филогеограф**

Популяци болон амьтны зүйлийн генетик болон газар зүйн бүтцийг судлах ухаан

- **Харьцуулах арга (эн тэнцүү шинжилгээ)**

Шинэ эсхүл шинжилгээний өөр аргын гүйцэтгэлийн зарим үзүүлэлтийг стандарт шинжилгээний арга хэрэглэсэн лабораторийн хоорондын дүнтэй харьцуулж тодорхойлох ба ингэхдээ оролцогч лабораторийн өөрийн шинжилгээний арга, урвалж, хяналтыг ашиглан шинжилгээ хийж үр дүнг тоон үзүүлэлтээр илэрхийлнэ.

- **Хурилдуурдах**

Энэхүү гарын авлагад хурилдуурдах хурдыг хурилдуурдах харьцангуй хүчээр илэрхийлэн түүнийг дараах томьёогоор илтгэх ‘g’ үсээр тэмдэглэсэн.

$$\frac{(\text{RPM} \times 0.10472)^2 \times \text{Radius (cm)}}{980} = g$$

RMP нь роторын нэг минутад эргэх тоо (МЭТ) бөгөөд радиус (см) нь роторын гараас хуруу шилний ёроол хүртэлх сантиметрээр илэрхийлэгдэх радиус юм.

Өгөгдсөн g утгад нийцэх МЭТ-г тухайн роторт тохируулан тооцохдоо дараах томьёог ашиглана.

$$\frac{\text{RPM} = \sqrt{g \times 980}\,/\text{Radius (cm)}}{0.10472}$$

- **Хуурамч-сөрөг урвал**

Тодорхой бичил биетний халдварт өртсөн эсхүл халдвар авсан амьтны дээж шинжлэхэд сөрөг урвал үзүүлэх нь анализийн мэдрэх чанар муу, анализийн өвөрмөц чанар хязгаарлагдмал, шинжлэгдэхүүн муудсанаас шалтгаалж болох ба энэ нь оношилгооны мэдрэх чанарыг бууруулна.

- **Хуурамч-эерэг урвал**

Тодорхой бичил биетний халдварт өртөх эсхүл халдвар авах үндэслэлгүй амьтныг шинжлэхэд эерэг урвал үзүүлэх нь дархлааны солбицох урвал, шинжилсэн дээжийн хөндлөнгийн бохирдол, өвөрмөц бус урвалаас шалтгаалж болох ба энэ нь оношилгооны өвөрмөц чанарыг бууруулна.

- **Хэмжих урвал**

Шинжилгээ эсхүл шинжилгээний арга, жишээ нь энзим холбоост дархлааны урвал, хавсарга холбох урвал, полимеразагийн гинжин урвалын шинжилгээтэй ижил утга агуулна

- **Цуврал**

Нэг ижил, үл давтагдах кодолсон дугаараар ялган тогтоох бүх вакцин эсхүл эсрэгтөрөгч, эсрэгбие гэх мэт бусад урвалж.

- **Цэвэршилт**

Эцсийн бүтээгдэхүүн болгон бэлтгэсэн биологийн бүтээгдэхүүний чанар бөгөөд:

а) тухайн бүтээгдэхүүнд шаардагдах шинжилгээний аргад тодорхойлсон хөндлөнгийн аливаа бичил биет болон материал (органик эсхүл органик бус) агуулаагүй (харьцангуй),

б) бүтээгдэхүүний аюулгүй чанар, идэвх, үр нөлөөнд харшлах хөндлөнгийн бичил биетэн эсхүл материал агуулаагүй байна.

- **Шингэлэлт**

Урвалжийг шингэрүүлэхийн тулд хийх шингэлэлтийг жишээ нь 4 дотор 1 эсхүл ¼ гэж заасан бол энэ нь нэг хэсгийг гурван хэсэг дээр нэмнэ гэсэн утгатай, өөрөөр хэлбэл Б-д хийсэн А -гийн 25% уусмал болно.

а) э/э – энэ нь эзлэхүүнд эзлэхүүнийг (хоёр шингэний тухайд).

б) ж/э – энэ нь жинг эзлэхүүнд (шингэнд хатуу бодис нэмэх).

- **Шингээлт эсхүл гэрлийн нягт**

Шингээлтийг гэрлийн нягт (ГН) гэж бас нэрлэх ба тодорхой орчныг нэвтэлсэн гэрлийн хэмжээ юм. Гэрэл шингээлт нь шинжлэгдэхүүний хэмжээтэй хувь тэнцүү болохыг нь тогтоосон олон шинжилгээний арга бий. ГН-ыг тодорхой долгионы уртад спектрофотометргээр хэмжинэ. Түүнийг ГН = log10 (шууд туссан гэрэл/нэвтэлсэн гэрэл) гэж тооцоолно.

- **Шинжилгээ**
  - Илрүүлэх

    Өргөн хүрээнд хэрэглэхэд зохимжтой оношилгооны өвөрмөц чанар өндөр шинжилгээний арга
  - Баталгаажуулах

    Ихэвчлэн шинжилгээний бусад аргаар илэрсэн эерэг үр дүнг баталгаажуулахад хэрэглэдэг оношилгооны өвөрмөц чанар өндөр шинжилгээний арга

- **Шинжилгээний арга**

Аливаа шинжлэгдэхүүнийг илрүүлэх техникийн тусгай аргачлал (хэмжих урвал гэсэнтэй ижил утгатай)

- **Шинжилгээний ач холбогдлыг үнэлэх ROC шинжилгээ**

ROC шинжилгээ нь: хэмжлийн үр дүнг нь дараалсан эсхүл үргэлжилсэн тоон утгаар илэрхийлдэг шинжилгээний аргын ерөнхий тохирлыг босго утгаас хамааралгүйгээр үнэлдэг аргачлал юм. ROC муруйн доорх талбай нь шинжилгээний аргын нийт тохирлыг 0.5-аас (ач холбогдолгүй шинжилгээ) 1-ийн (төгс шинжилгээ) хооронд хэлбэлзэх ганц тоон утгаар тооцоолж илэрхийлнэ.

- **Эрсдэл (Газрын амьтны эрүүл мэндийн кодекс)**

Мал, амьтан, хүн амын эрүүл мэндэд хор хөнөөл учруулах үйл явдал эсхүл сөрөг нөлөө үзүүлэх тохиолдол гарах магадлал, биологийн болон эдийн засгийн болзошгүй үр дагаврын цар хүрээг хэлнэ.

- **Эрсдэлийн мэдээлэл харилцаа (Газрын амьтны эрүүл мэндийн кодекс)**

Эрсдэлийн шинжилгээ хийх бүхий л явцад эрсдэл, эрсдэлд холбогдох хүчин зүйл, эрсдэлийг танин мэдэхүйн талаарх мэдээлэл, үзэл бодлыг эрсдэлийг үнэлэгч, эрсдэлийн менежер, эрсдэлийн мэдээлэл харилцаа хариуцагч, олон нийт, бусад сонирхогч талын хооронд харилцан дамжуулах, солилцохыг хэлнэ.

- **Эрсдэлийн тоон үнэлгээ (Газрын амьтны эрүүл мэндийн кодекс)**

Эрсдэлийн үнэлгээний үр дүнг тоон утгаар илэрхийлэх үнэлгээг хэлнэ.

- **Эрсдэлийн чанарын үнэлгээ (Газрын амьтны эрүүл мэндийн кодекс)**

Эрсдэл учрах магадлалыг эсхүл түүнээс үүдэх үр дагаврын цар хүрээг “их”, “дунд зэрэг”, “бага”, “маш бага” гэх мэт чанарын үзүүлэлтийн нэр томьёогоор илэрхийлэх үнэлгээг хэлнэ

- **Эцсийн бүтээгдэхүүн (цуврал)**

Ажлын нэг ээлжид бэлтгэж нэгэн жигд болгосон нэг цуврал вакцин хийж битүүмжилсэн, хэрэв хэрэглэдэг бол үргэлжилсэн нэг ажиллагаагаар хамтад нь хөлдөөж хатаагаад ажлын нэг ээлжид битүүмжилсэн, үл давтагдах ялгах дугаар бүхий нийлүүлэхэд бэлэн бүх савтай бүтээгдэхүүн

- **Явцын хяналт**

Биологийн бүтээгдэхүүнийг чанарын тогтоосон стандартад нийцүүлэхийн тулд түүнийг үйлдвэрлэх явцад хэрэгжүүлдэг шинжилгээний аргачлал

ЖИЧ: 1996 ОНД АНХ, **2023** ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

БҮЛЭГ 24 (3.4.5)

ҮХРИЙН ТАРХИ САРХИАТАХ ӨВЧИН

А. УДИРТГАЛ

Энэ өвчний тархалтын талаарх хамгийн сүүлийн үеийн мэдээллийг ДМАЭМБ-ын Дэлхийн амьтны эрүүл мэндийн мэдээллийн сангаас авна уу[1].

1. Өвчний тодорхойлолт

Үхрийн тархи сархиатах өвчин (ҮТСӨ) нь үхэрт (*Bos taurus* болон *B. indicus*) прион уургаар үүсэх үхэлд хүргэдэг өвчин бөгөөд өвчилсөн амьтан айх, хэт мэдрэгжих, хөдөлгөөний тэнцвэрээ алдах зэрэг төв мэдрэлийн тогтолцооны өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлж болзошгүй. Задлан шинжилгээгээр авсан тархинд иммунгистохими (ИГХ), иммунхимийн аргаар гурван хэмжээст хэлбэрт буруу шилжсэн буюу буруу нугарсан прион уургийг илрүүлж оношийг баталгаажуулна.

Үхрийн тархи сархиатах өвчин үүсгэгч прионоор бохирдсон махны болон ясны гурил, тэдгээрийг агуулсан тэжээлээр үхэр тэжээхэд сонгомол ҮТСӨ (ҮТСӨ-ий С хэлбэр) дамжин халдварлах нь тохиолдоно (Wells & Wilesmith, 1995). Хэвтээ чиглэлээр энэ халдвар дамжсан нотолгоо байхгүй бөгөөд босоо чиглэлээр халдвар дамжсан баримт ч бас цөөн юм (Prince нар, 2003). Эпидемиологийн судалгааны баримт, зориудын халдвар хийсэн судалгааны дүнгээр энэ өвчний нууц үе хамгийн багадаа хоёр жил үргэлжилдэг бөгөөд арван жилээс ч илүү хугацаанд үргэлжилж болох нь харагджээ. Өвчин ихэнхдээ цочмогдуу болон архаг явцтай, халдварт өртсөн амьтан мэдрэлийн үйл ажиллагааны давшингуй явцтай хямралын шинж тэмдэг үзүүлнэ. Үр дүнтэй эмчилгээний арга байхгүй, өвчин жамаараа үргэлжилбэл өвчилсөн амьтан зайлшгүй үхнэ.

Үхрийн тархи сархиатах өвчний С хэлбэр бие гүйцсэн үхэрт (Их Британид 20 сартайгаас 22 настай үхэрт тохиолдож байжээ) эмнэл зүйн шинжээр тохиолдоно. Өвчин эпизоот хэлбэрээр ид гарч байсан үед ихэнхдээ 4-6 насны саалийн үнээ өвчилж байжээ. Үүнээс үүдэн өвчнөөс урьдчилан сэргийлэх, тэмцэх үр дүнтэй арга хэмжээг хэрэгжүүлсний үр дүнд өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрч эхлэх нас аажмаар нэмэгдэх хандлагатай болсон байна. ҮТСӨ аажмаар илэрч ихэвчлэн алгуурхан удаан явцтайгаар үргэлжилнэ (Konold нар, 2004; Wilesmith нар, 1992). Өвчний эхний эмнэл зүйн шинж тэмдгийг тогтооход түүнийг ажиглах давтамж чухал хэдий ч заримдаа цочмог шинж тэмдэг үзүүлж эхлээд дараа нь түргэн муудах тохиолдол бий. Илэрч байгаа шинж тэмдэг янз бүр боловч голдуу зан авир, араншин өөрчлөгдөн хэт мэдрэмтгий болж тэнцвэрээ алдана. Саалийн үнээ саах тасалгаанд орохдоо хойргоших, сааж байхад хүчтэй тийрэх зэрэг нь ихэнхдээ өвчилсний эхний ил шинж тэмдэг байдаг. Ялангуяа ширгэсэн үнээний хойд мөчид гуйвах, сульдах нь анзаарч байвал зохистой эмнэл зүйн эхний шинж тэмдэг юм. Мэдрэлийн хямралын хамгийн нийтлэг шинж тэмдэг нь айх, хойд мөчид тэнцвэрээ алдах, хүрэлцэхэд болон дуу чимээнд хэт мэдрэмтгий болно. Гаднын цочролд байнга айж цочих шинж тэмдгийг ҮТСӨ-ий сэжигтэй тохиолдлын эмнэл зүйн оношийг лавшруулан тавихад ашигладаг (Konold нар, 2004). Өвчилсөн үхэр толгойгоо унжуулан хүзүүгээ гүлдийлгэж биеэ нумлан хойд хөлөө хол алцайн зогсоно. Толгой салганах нь ажиглагдаж магадгүй. Ихэвчлэн хойд мөчдийн тэнцвэр алдагдах, гишгэлт холдох зэргээр алхаа гишгээ нь өөрчлөгдөх ба энэ нь үхэр бэлчээрлэх үед илүү тодорхой харагдана. Биеийн хөдөлгөөний хэвийн бус шинж үргэлжлэн хүндрэхийн хэрээр ерөнхийдөө сульдаж хэвтэх, өөдөх нь эмнэл зүйн давамгайлах шинж тэмдэг болно. Ерөнхийдөө эмнэл зүйн хувьд биеийн ерөнхий байдал дордож сүүний гарц бууран мэдрэлийн хямралын шинж тэмдэг дагалдан өвчин лавширна. Их Британид гарсан ҮТСӨ-ий С хэлбэрийн эпизоотын туршид өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдэг өөрчлөгдөхгүй байжээ (Konold нар, 2004; Wilesmith нар, 1992). ҮТСӨ-ий С хэлбэр тохиолдсон бусад улс оронд ч эмнэл зүйн шинж тэмдэг үндсэндээ адилхан байсан аж. Эмнэл зүйн шинж тэмдэг голдуу хэдэн долоо хоног, сараар сунжирдаг учраас эцсийн эцэст амьтныг зовоохгүй үүднээс нядлах хэрэгтэй болно. Гэвч тухайн улсын ҮТСӨ-ий статусыг тогтоох хууль ёсны бодлогоор эмнэл зүйн сэжигтэй тохиолдлыг заавал мэдэгдэх, оношлох шинжилгээ хийх, тэдгээр амьтдыг нядлах, задлан шинжилгээ хийхдээ тархийг заавал авч шинжлэх ажлыг гүйцэтгэх шаардлага гарна. Өвчний

[1] http://www.woah.org/en/animal-health-in-the-world/the-world-animal-health-information-system/the-world-animal- health-information-system/

эхэн үед илрэх эмнэл зүйн шинж тэмдэг балархай, хувьсамхай, өвөрмөц бус байдгаас анхны үзлэг шинжилгээгээр эмнэл зүйн онош тогтоох боломжгүй юм. Тодорхойгүй ийм тохиолдолд шинж тэмдгийн ажиглалтыг үргэлжлүүлэн эмнэл зүйн эмгэг судлалын тохирох аргачлалаар ялангуяа бодисын солилцооны хямралаас ялгаварлан үгүйсгэж эмнэл зүйн онцлох шинж тэмдгүүд хэрхэн илрэхийг тогтооно. Эмнэл зүйн бүдэг шинж тэмдэг тээвэрлэлтийн үеийн гэх мэт стрессийн нөлөөгөөр заримдаа тодорч болзошгүй.

УТСӨ-өөр өвчилсөн үхрийн дүрс бичлэгийг Их Британи дахь ДМАЭМБ-ын УТСӨ-ий лавлах лабораторийн[2] цахим хуудаснаас татан авч болох ба тус лабораторид хүсэлтээ илгээж электрон бичлэгийг бүрэн эхээр нь авах бас боломжтой.

Ихэнх тохиолдол нь үхсэн эсхүл илт эрүүл үхэрт хийсэн идэвхтэй тандалтаар илэрдэг учраас ердийн нөхцөлд тохиолдсон хэв шинжит бус УТСӨ-ий эмнэл зүйн илрэлийн талаар хуримтлагдсан мэдлэг бага бөгөөд уг өвчний эмнэл зүйн тохиолдлууд болон тэдгээрийн лабораторийн оношилгооны баримт мэдээллийн хоорондын шүтэлцээг тогтоогоогүй байна. Нийтлэг тохиолддог сонирхолтой нэг баримт нь хэв шинжит бус УТСӨ бараг бүх тохиолдолд 8-аас дээш насны үхэрт илэрдэг байна. Үхрийн гавал ясны хөндийд зориудын халдвар хийсэн туршилтын дүнгээс үзвэл УТСӨ-ий Н- болон L-хэлбэрийн үед илрэх эмнэл зүйн шинж тэмдэг УТСӨ-ий С хэлбэрийн үед ажиглагдддаг шинж тэмдэг шиг байж болох ба харин номойрох, босохдоо зүдрэх нь эдгээр амьтанд илрэх эмнэл зүйн илэрхий шинж тэмдэг байсан байна (Konold нар, 2012).

2. Эмгэг төрүүлэгч

Үүсгэгчийг ялган авах боломжгүй нөхцөлд өвчний тохиолдлыг зөвхөн задлан шинжилгээ хийж төв мэдрэлийн тогтолцоонд хэвийн бус прион уураг (PrP^{Sc}, PrP^{d}, PrP^{res}) буюу зарим хэсэг нь эзэн амьтны кодолдог, адилхан үйлчлэлтэй мөртөө бүтцээрээ ялгаатай протеазад тодорхой хэсэг нь тэсвэртэй прион уураг (PrP^{C}) хуримтлагдсан эсэхээр эцэслэн баталгаажуулна. Өвчин прионоор үүсдэг гэх таамаглалаар бол өвчний үүсгэгч нь бүхэлдээ PrP^{C} прион уургийн хувиралтыг өдөөх чадвартай PrP^{Sc}-ээс бүрдэнэ. УТСӨ-ий эпизоот тархалт нэг омгийн үүсгэгчтэй холбоотой байсныг эмгэг судлалын болон амь сорилын дүн харуулсан бөгөөд С хэлбэрийн УТСӨ-ий тохиолдол гэж тогтоохдоо эмнэл зүйн шинжээр өвчилсөн амьтанд байнга илэрдэг мэдрэлийн өвөрмөц эмгэг болон PrP^{Sc} уургийн молекулын хэв шинжийг үндэслэнэ. Бие гүйцсэн үхэрт илрэх эмгэг зүйн шинжийн хувьд эсхүл молекул шинж чанарын хувьд хувилбартай байгааг 2003 оноос эхлэн олон улс орноос мэдээлэх болсон нь энэ өвчнийг үүсгэгч нь хувилбартай байж болохыг харуулж байна (Biacabe нар, 2004; Casalone нар, 2004).

Өдий хүртэл 100 гаруй удаа тохиолдсон хэв шинжит бус УТСӨ нь молекул хэв шинжийн хувьд С хэлбэрийн УТСӨ-өөс ялгаатай болохыг Вестерн иммунблотын аргаар тогтоогоод байна. Эдгээр үүсгэгч нь биологийн хувьд ч С хэлбэрийн УТСӨ-өөс ялгаатай гэсэн таамаглалыг амь сорилын дүнгээр ч бататгажээ (Beringue нар, 2006; Lombardi нар, 2008; Okada нар, 2011). Хэв шинжит бус хоёр хэлбэрийг үхрийн тархи сархиатах амилоид өвчин (УТСАӨ) эсхүл Вестерн иммунблот аргаар илрүүлсэн PrP^{Sc}-ийн гликолизжээгүй хэрчмийн массыг УТСӨ-ий С хэлбэртэй харьцуулан масс бага L-хэлбэр, масс ихтэй Н-хэлбэр гэж ойлгомжтой тодорхойлсон байна (Casalone нар, 2004; Jacob нар, 2007).

3. Хүнд халдварлах эрсдэл, биоаюулгүй ажиллагааны шаардлага

С хэлбэрийн УТСӨ-ий үүсгэгч самшуу замаар орсноос шалтгаалан хүн Кройцфелд-Якобын хувилбарт өвчнөөр (КЯХӨ) өвчилнө (Bruce нар, 1997). Прионоор хүн өвчлөх хэлбэр нь УТСӨ-ий хэв шинжит бус тохиолдлоос шалтгаалдаг эсэхийг тогтоогоогүй байна. Бүх хэлбэрийн УТСӨ хүнд халдварлана гэж таамагладаг учраас үүсгэгчтэй харьцан ажиллахдаа аюулгүй ажиллагааг баримтлахыг зөвлөдөг. Задлан шинжилгээ хийх, эд эрхтэнтэй харьцах үед хэрэгжүүлэх биотусгаарлалтын арга хэмжээ нь эрсдэлд суурилсан, тухайн улсын холбогдох дүрэм журамд нийцсэн байх ёстой. Агаар дуслын бохирдол үүсгэх аливаа ажиллагааг биологийн эрсдэлийн дүн шинжилгээгээр тогтоосон биоаюулгүй ажиллагааны болон тусгаарлалтын тохирох түвшинд (энэ гарын авлагын 1.1.4. *Биоаюулгүй ажиллагаа ба биохамгаалал: Мал эмнэлгийн лаборатори, туршилтын амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандарт* бүлгийг үзэх) гүйцэтгэх ёстой ба лаборатори нь ажиллагсдаа эмгэг төрүүлэгчийн нөлөөнөөс хамгаалах тухайн улсын биохамгаалал, тусгаарлалтын дүрэм журмыг дагаж мөрдөнө.

Хөвсгөр, нүх сүвтэй материал автоклавдах горимоор 134°C–138°C-д 18 минут, 30 фунт/2 инч (208 kPa буюу 2.2 баар) даралтаар автоклавдаж үүсгэгчийг физик аргаар идэвхгүйжүүлнэ. Гэвч өндөр таньцтай үүсгэгч бүхий шинжилгээний материал удаан хадгалагдсан, хатсан органик зүйлд үүсгэгч нь

[2] https://science.vla.gov.uk/ТСДХӨglobalnet/

хамгаалагдаж үлдсэн зэрэг зарим нөхцөлд бүрэн идэвхжээгүй байж болзошгүй. Бохирдсон байж болзошгүй эд зүйлийг 2%-ийн идэвхт хлортой хлорын шохойгоор, эсхүл 2 N натрийн шүлтээр гадаргууг 1 цаг, тоног төхөөрөмжийг хонуут үйлчлүүлэн халдваргүйтгэнэ.

4. Ялгаварлах оношилгоо

Ялгаварлан оношлохдоо үхрийн мэдрэлийн аливаа өвчнийг, үүний дотор тархины халдварт үрэвсэл, бодисын солилцооны хямрал (кетоз, магнийн дутагдал), хордлого, хавдар, бэртэлтийг анхааран авч үзнэ.

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Үхрийн тархи сархиатах өвчнийг оношлох шинжилгээний арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүйг тогтоох	Шилжилт хөдөлгөөний өмнө халдваргүйг тогтоох	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах	Халдварын тархалт тогтоох - тандалт	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгчийг илрүүлэх[(a)]						
Иммун гистохими	–	–	++	+++	++	–
Вестерн иммунблот	–	–	++	+++	++	–
Илрүүлэх түргэн арга	–	–	+++	+	+++	–

Түлхүүр үг:
+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
++ энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй;
ЕЛИЗА = Энзим холбоост дархлааны урвал;
АГНТУ = агарын гельд нэвчин тунадасжих урвал;
[(a)]Үүсгэгчийг ялган таних төрөл бүрийн шинжилгээг эмнэл зүйн нэг ижил сорьцод хийхийг зөвлөдөг.

1. Үүсгэгчийг илрүүлэх

ҮТСӨ-ий оношийг амьд амьтанд баталгаажуулах арга байхгүй. Эмнэл зүйн хувьд сэжиглэснээр уг өвчний “үүсгэгч”-ийг ялган тогтоох ажил эхлэх ба сэжигтэй байсан амьтанд үхсэний дараах задлан шинжилгээгээр илэрсэн эмгэг бичил бүтцийн хувирлаар эсхүл PrP^{Sc} уургийн хуримтлалаар, эсхүл өвчний сэжиггүй байсан амьтанд задлан шинжилгээний үеийн идэвхтэй тандалтаар нотлон харуулна. “Үүсгэгч”-ийн мөн чанар нь өөрөө таамаглал хэвээр байгаа учраас түүнийг оношилгооны зорилгоор ялган авах боломжгүй юм. Гэсэн хэдий ч PrP^{Sc}-ийг уг өвчний тогтвортой маркер гэж өргөнөөр хүлээн зөвшөөрдөг бөгөөд эмнэл зүйн шинж тэмдэг, бие бүтцийн бичил эмгэг хувирлаас бусад оношилгооны бүх арга нь энэ уургийг илрүүлэн нотлоход чиглэдэг.

Өвчин үүсгэгчийг *in-vitro* нөхцөлд ялган авах арга байхгүй учраас тархи сархиатах дамжин халдварладаг өвчний (ТСДХӨ) үед л өвөрмөц илэрдэг хоосовчыг бие бүтцийн бичил эмгэг судлалын аргаар тархины янз бүрийн хэд хэдэн түвшинд илрүүлэн нотлох замаар уг өвчнийг баталгаажуулна. Шинжилгээгээр бие бүтцийн бичил эмгэг хувирал илрэхгүй байх нь тухайн амьтанд PrP^{Sc} уургийн хуримтлал байхгүй болохын баталгаа биш юм. Уртавтар тархины нэг зүсмэгийг (обексын түвшинд) шинжлэх замаар тогтоох бичил бие бүтцийн эмгэг хувирлаар оношлох аргыг тархины баганыг нэлээд өргөн хүрээнд шинжилж судалсны үр дүнд тулгуурлан баталгаажуулжээ. Хялбаршуулсан энэхүү аргын дагуу тархийг бүтнээр нь гарган авч шинжлэхийн оронд зориулалтын хэрэгслээр тархины баганыг дагзны том нүхээр гарган авч шинжилнэ. Гэвч ИГХ болон Вестерн иммунблот зэрэг энэ өвчинд-өвөрмөц PrP уураг илрүүлэх иммунхимийн аргыг өвчний онош баталгаажуулах болон өвчний бүр эхний шатад эсхүл тархины эд өөрөө задарсан нөхцөлд хэрэглэх шаардлагатай байдаг оношилгооны мэдрэх чанар өндөр аргаар сонгон ашиглахыг зөвлөдөг. PrP^{Sc} уураг илрүүлэх энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА) зэрэг илүү хурдан хийж болох шинжилгээний арга гарсан нь эдүгээ идэвхтэй тандалтад ашиглаж байгаа илрүүлэлтийн үндсэн арга хэрэгсэл болсон төрөл бүрийн “хурдавчилсан”

шинжилгээний аргыг боловсруулан гаргахад хүргэсэн юм. Ийм аргаар урьдчилсан оношт тогтоож болох ба тэдгээрээс эерэг болон эргэлзээтэй дүн үзүүлсэн дээжийг ИГХ болон Вестерн иммунблот зэрэг баталгаажуулах аргаар шалгаж үзнэ. Хурдавчилсан шинжилгээний арга нь өдгөө өвчний тохиолдлыг илрүүлэх үндсэн арга болсон бөгөөд хэрэв баталгаажуулалтад хэрэглэх хоёр аргын нэг нь Вестерн иммунблот[3] арга бол түүнийг баталгаажуулалтын ажлын нэг хэсэг болгон өргөн хүрээнд хэрэглэхийг зөвшөөрчээ. Хэдийгээр өвчний хэв шинжит бус хэлбэрийг (H- болон L-хэлбэр) мэдрэх болон өвөрмөцөөр илрүүлэх чанарыг бүрэн тогтоогоогүй ч эдгээр аргаар ҮТСӨ-ий одоогоор оношлогдоод байгаа бүх хэлбэрийг илрүүлж чадна.

Аливаа тодорхой нэг аргын сонголт нь түүнийг ямар зорилгоор хэрэглэхээс хамаарна. Хэрэглэх зорилго нь эмнэл зүйн сэжигтэй тохиолдлыг батлахаас эхлээд өвчнийг нууц эсхүл эмнэл зүйн шинж илрэхээс өмнөх шатад байгааг нотлох зорилгоор эрүүл популяцид хийх илрүүлэх шинжилгээ хүртэл янз бүр байна. Оношилгооны аргыг оношт баталгаажуулахад аль эсхүл илрүүлэх шинжилгээнд хэрэглэхээс хамааран өвчний тохиолдлын талаар тогтчихсон тодорхойлолт ч бас өөр болно. Оношт баталгаажуулах шинжилгээний энд тодорхойлсон стандарттай сайтар харьцуулах боломжгүй арга зүйгээр хийсэн оношлох шинжилгээний үр дүнг боловсруулахдаа болгоомжтой хандах хэрэгтэй. ҮТСӨ-ий фенотипийг тодорхойлоход ашигласан өмнө нийтлэгдсэн шалгуур үзүүлэлттэй зохих ёсоор харьцуулахгүйгээр, түүнчлэн үүсгэгч дамжин тархах талаар судлаагүй нөхцөлд шинэ омгийг ялган тогтоосон гэсэн оношилгооны үр дүн дутуу дулимагт тооцогдоно. Чанарын хяналт (ЧХ), чанарын үнэлгээ (ЧҮ) бол шинжилгээний ажлын маш чухал хэсэг бөгөөд энэ талаар ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори зөвлөгөө өгөх боломжтой. Идэвхгүй аль эсхүл идэвхтэй аль ч тандалтад наад зах нь хоёр шинжилгээний аргыг хослуулан хэрэглэж ҮТСӨ-ий халдвартай амьтныг илрүүлэх болон баталгаажуулах замаар ялган тогтоох нь энэ ажлын зохистой дадал юм. Эхний шинжилгээ нь дор дурдсан баталгаажуулах шинжилгээний аль нэг эсхүл хурдавчилсан шинжилгээ байж болох ба харин анхан шатны шинжилгээгээр гарсан эерэг болон эргэлзээтэй үр дүнг хоёрдох шинжилгээгээр баталгаажуулна. Эхний болон хоёрдох шинжилгээний дүн зөрвөл иммунгистохими эсхүл вестерн блотын аргаар дахин шинжлэх эсхүл ДМАЭМБ-ын лавлах лабораторид шийдвэрлүүлэхээр сорьц илгээнэ.

1.1. Дээж бэлтгэх

Улс орны ҮТСӨ-ий статус, идэвхгүй болон идэвхтэй тандалтын хөтөлбөрийн хэрэгжилт, хэрэглэж байгаа оношилгооны арга бүгдээрээ түүвэрлэлтийн стратегид нөлөөлнө.

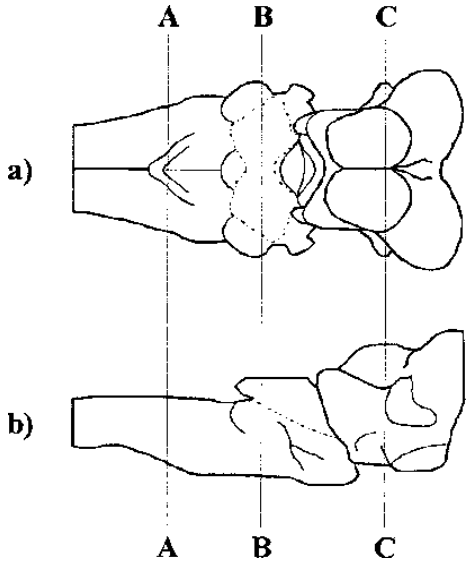
Тухайн улс эсхүл муж улсад ҮТСӨ-ий тохиолдол гараагүй эсхүл цөөн тохиолдсон нөхцөлд бие гүйцсэн үхрийн мэдрэлийн өвчний идэвхгүй тандалт хэрэгжүүлэх бүрдээ эмнэл зүйн хувьд сэжигтэй тохиолдлоос бүтэн тархи авч түүнээсээ шинжилбэл зохих хэсгүүдийг сонгоод мэдрэлийн эмгэг судлалын стандарт аргаар шинжилнэ. Өвчний сэжигтэй үхрийг хэрэв шаардлагатай бол өмнө нь тайвшруулах арга хэрэглэсний дараа хураагуур судсаар барбитуратын өтгөн уусмал тарьж унтуулна. Үхсэнээс хойш аль болохоор удаалгүй тархийг стандарт аргаар гаргаж авна. ҮТСӨ-ий үед ил харагдах өөрчлөлт илэрдэггүй ба хэрэв тархийг гаргах үед аливаа өөрчлөлт илэрвэл ялгаварлах оношилгоонд зориулан түүнээс тусгайлан сорьц авна.

ИГХ болон иммунхимийн шинжилгээгээр PrP^{Sc} уураг илрүүлэхэд зориулан тархины тохирох шинэ болон бэхжүүлсэн сорьцыг авч хадгалахад онцгойлон анхаарна. Тархийг бүхлээр нь авах, хамгаалж байлгах аргачлалыг мөрдөхгүй бол тухайн сэжигтэй тохиолдол хэв шинжит ҮТСӨ мөн байсан эсэхийг баталгаажуулахад шаардагдах шинж чанарыг тодорхойлоход саад учруулж болох юм.

Бие бүтцийн эмгэг судлал болон ИГХ-ийн шинжилгээг эхлээд уртавтар тархины обексийн түвшнээс бэлтгэсэн дан цутгамаг (0.5–1.0 см өргөн) ашиглан (Зураг 1а болон б, А–А түвшин нь шалгаж үзэх цутгамгийн төв хэсгийг төлөөлнө) хийх ба цутгамгийг хамгийн багадаа 3-5 өдөр (цутгамгийн зузаанаас хамаарна) 4%-ийн формалины уусмалд (ө.х. 10% формалин давсны уусмал эсхүл 10% буфержүүлсэн хэвийн формалинд [БХФ]) бэхжүүлнэ. Бэхжүүлсэн эдийн халдварлах чанарыг бууруулахын тулд түүнийг 98%-ийн формины хүчилд нэг цаг дүрж прионы халдварлах чанарыг бууруулах ба дараа нь гоожуурын усаар 30 минут угаана. Эдгээр ажиллагааны улмаас өвчний ангилал тогтооход шаардагдах зарим нэмэлт шинжилгээ хийх боломжгүй гэдгийг анхаарах хэрэгтэй ба харин хөлдөөсөн шинэ материал давхар авч хадгалсан тохиолдолд ийм асуудал гарахгүй. Дараа нь бичил бүтцийн эмгэг

[3] https://science.vla.gov.uk/tseglobalnet/documents/OIE%20rules%20for%20BSE%20using%20a%20second%20rapid%20test_Rev_Jan2*019 №-,%?pdf

судлалд зориулан мэдрэлийн эдийг ердийн парафинд цутгах (боловсруулах тохиромжтой аргын жишээг TSEglobalNet[4] цахимаар хуудаснаас авах боломжтой) аргаар боловсруулна.



Зураг 1. Бага тархийг авсны дараах тархины багана хэсэг
а) ар талаас, б) хажуу талаас харагдах байдал.

Зүсмэг бэлтгэхийг зөвлөсөн хэсэг:
А–А = уртавтар тархины обексын түвшинд;
В–В = бага тархины доод хөл буюу бага тархи уртавтар тархитай холбогдох хэсгээр уртавтар тархины түвшинд;
С–С = харарны төв байрлах дээд хоёр товгорын хэсгээр дунд тархины түвшинд.

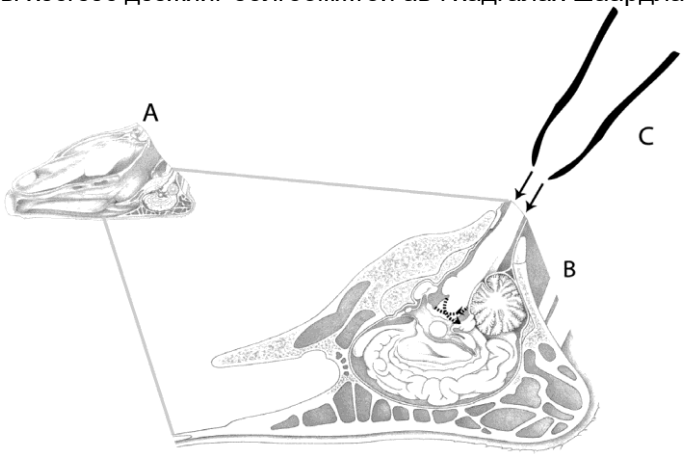
Иммун илрүүлэлтийн аргаар PrP^{Sc} илрүүлэхэд зориулж шинэ материалыг эхлээд уртавтар тархины обексын түвшнээс хагас зүсмэг эсхүл обексын үзүүр эсхүл сүүл хэсгээр дээрээс доош чиглэлээр эгц босоо (коронал) зүсэн бүтэн зүсмэг (2–4 г) авч цутгамаг бэлтгэн бэхжүүлнэ. Тархины бусад хэсгийг түүний урдаас хойш чиглэлээр (сагиттал) голын хэсгээс 3-5 мм зайтай зүсэж хоёр хэсэгт хуваана. Жижиг хэсгийг нь иммунхимийн аргаар (жишээ нь иммунблот) PrP^{Sc} уураг илрүүлэхэд зориулан аваад шинжилгээ хийх хүртэл (сорьц аваад шууд шинжлэхгүй бол) хөлдөөж хадгална. Бэхжүүлэлт хийхээр обекс орчмоос сорьц авах болон шинэ эдээс сорьц авсны дараа тархины эдийн үлдсэн том хэсгийг бүтнээр нь формалины 10%-ийн 4-6 литр орчим бэхжүүлэгч уусмалд хийж уусмалыг долоо хоногт 2 удаа солино. 2 долоо хоног бэхжүүлсний дараа цааш лавшруулан судлан шинжлэхэд зориулан тархийг дээрээс доош чиглэлээр эгц босоо (коронал) зүсэж болно. Бэхжүүлэх хугацааг багасгахын тулд тархины баганыг шинэ байхад нь анх обексын орчмоос авч байсны адилаар эгц босоо чиглэлээр жижиглэн хувааж болох ба харин оношилгооны ач холбогдол бүхий бага тархи уртавтар тархитай холбогдох хэсэг болон дунд тархины дээд хоёр товгорын түвшинд (зураг 1а болон б, В–В болон С–С түвшин) хөндлөн огтлолын хэсгийг бүтнээр нь үлдээнэ. Бусад зарим хүчин зүйлээс (температур, зайлалт, эдийн цутгамгийн зузаан, бичил долгионы төхөөрөмж ашигласан эсэх) шалтгаалан бэхжүүлэлтийн хугацааг богиносгож болно. Гэвч бэхжүүлэлтийг хурдасгадаг эдгээр үйлдэл дараагийн шатны ИГХ-ийн шинжилгээнд үзүүлэх нөлөөг ур чадварын шинжилгээний стандартад нийцэж байгаа эсэхээр үнэлнэ. Формалинаар бэхжүүлсэн тархины бусад хэсгийг бэхжүүлэлтийн 2 долоо хоногийн стандарт хугацаа өнгөрсний дараа өвчнийг ялгаварлах оношилгоонд хэрэглэж болно.

Тухайн улсын үхрийн уугуул популяцид ҮТСӨ тохиолдсон нөхцөлд өвчтэй амьтны гэмтэл өөрчлөлтийн байршил болон өвчний гадаад илрэл нь сонгомол ҮТСӨ-ий үед илэрдэгтэй нийцэж байгаа нь нотлогдсон нөхцөлд өвчнийг баталгаажуулах болон хяналт-шинжилгээ хийхэд зөвхөн тархины багана хэсгийг авч шинжлэх нь хэдийгээр хамгийн оновчтой бус ч гэсэн зохистой шийдэл юм.

Үүний тулд гавлын ясны хүнхрийг авалгүйгээр тархинаас дагзны том нүхээр сорьцыг гарган авч болно (Зураг 2). Ингэснээр бэхжүүлэгч уусмал, багаж хэрэгслийн хэрэгцээ багасаж хугацаа богиносон улмаар зардал буурч аюулгүй байдал ч сайжирна. Бие бүтцийн эмгэг

[4] https://science.vla.gov.uk/TSEglobalnet/confirmatory-diagnosis.html

хувирлыг тогтоодог гол хэсэг нь хөндөгдөлгүй үлдэнэ. Энэ арга идэвхгүй тандалтад зориулан эсхүл мал төхөөрөх газар эсхүл үхсэн амьтанд хийдэг идэвхтэй тандалтын хөтөлбөрийн хүрээнд олон тооны сорьц цуглуулж шинжлэх боломж олгоно. Ирмэг нь хурц гүехэн хотгор бүхий үзүүртэй халбага маягийн тусгай хийцийн хэрэгслийг дагзны том нүхээр оруулан тархины багана хэсгийг тасалж гавлын ясыг нээлгүйгээр гаргаж авна. Ийм багаж худалдаанд гарсан байгаа. Янз бүрийн хэлбэртэй багажийг ямар чиглэлээр гавлын ясанд оруулахаас эхлээд өөр өөр хувилбар байж болох ба ямар багаж хэрэглэхээ тогтсоны дараа түүнийг ашиглах ажилтныг сурган дадлагажуулах нь чухал ач холбогдолтой. Энэ сургалтад тархины суурийн хөндлөн огтлол дахь PrPSc уургийн байршил, оношилгооны ач холбогдол бүхий тархины хэсгээс дээжийг болгоомжтой авч хадгалах шаардлагын талаар оруулна.



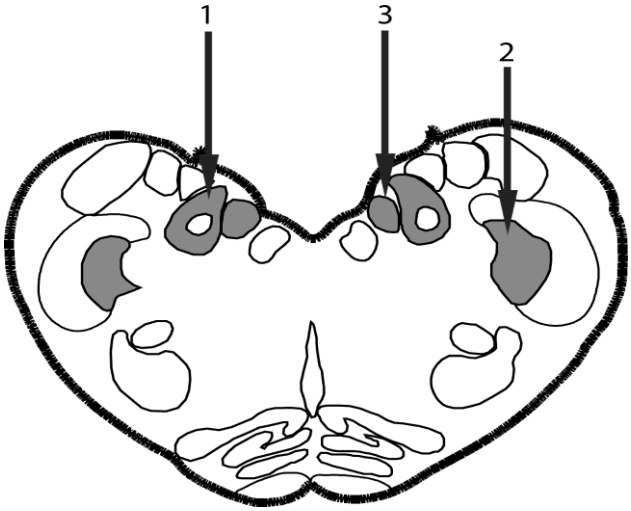
Зураг 2. Гавал ясны дагзны булуунаас аман хүзүүг тасалж толгойг их биеэс салгаад тавиур дээр толгойн доод талыг нь дээш харуулж (А) тархины баганын (уртавтар тархи) сүүл хэсэг нь дагзны том нүхээр харагдаж байхаар тавина (гавлын ясны томруулсан зураг В-г үзэх). Багажийг (С) дагзны том нүхээр тархи нугасны хатуу бүрхүүл уртавтар тархины доод/дээд талын (хэрхэн хүрэхээс шалтгаална) хоорондуур оруулж урагш түлхэн багажийн үзүүрийн хэсгийг гавлын ясанд шүргүүлээд хоёр тийш холхиулан эргүүлэн хөдөлгөнө. Ингэснээр гавлын мэдрэлийн ёзоорыг тархины эдийг гэмтээлгүйгээр тасална. Багажийг ойролцоогоор 7 см урагшлуулаад огцом эргүүлж (ө.х. хэрэглэсэн аргаас хамааран тархины баганын доод эсхүл дээд хэсгийг чиглэнэ) тархины баганыг (бага тархины зарим хэсэг орно) огтолж тархины бусад *хэсгээс салгана. Багажийг байсан тэр чигээр нь дагзны том нүхээр гавлын яснаас гаргаж эдийн сорьцыг авна.*

Хэрэв ихдэвхтэй тандалтын явцад өвчний анхны тохиолдлыг илрүүлсэн бол тухайн тохиолдлын фенотипийн шинж чанарыг бүрэн тогтооход шаардагдах тархины хэсгүүдийг авсан байх магадлал бага байдаг. Ихэнх улс оронд ҮТСӨ-ий анхны тохиолдол батлагдахаас өмнө ч тархины баганыг дангаар нь цуглуулж шинжилдэг. Иймд идэвхтэй тандалтын явцад цуглуулсан амьтны толгойг эхний шатны шинжилгээний хариу гартал хадгалж байхаар зохицуулах шаардлагатай. Ингэснээр эерэг урвал үзүүлсэн амьтны тархинаас өвчний тухайн тохиолдлын шинж чанарыг эргэн мөшгөж судлахад шаардлагатай цогц дээж бэлтгэх боломж бүрдэнэ. Энэ нь ялангуяа тухайн байгууллагадаа хийж бэлтгээд хараахан хөндлөнгийн чанарын хяналтад оруулаагүй байгаа шинжилгээний арга хэрэглэсэн, энэ бүлэгт тодорхойлсон аргатай шууд харьцуулах боломжгүй, мөн шинэ өвчний фенотипийг ялган тогтоосныг мэдэгдсэн нөхцөлд чухал ач холбогдолтой. Эхний тандалтад зөвхөн дархлааны хурдавчилсан арга хэрэглэсэн бол ҮТСӨ-ийг оношилгоог хийж байгаагүй улс орны тухайд өвчний фенотипийг ялган тогтоох цаашдын иммунгистохимийн (үүний дотор хэлбэр зүйн) болон молекулын шинжилгээнд хэрэглэх материалыг бэлэн байлгах шаардлагатай.

1.1.1. Хурдавчилсан шинжилгээний арга хэрэглэх идэвхтэй тандалтад зориулан тархины баганаас сорьц авах

Хурдавчилсан шинжилгээний ямар ч аргад хэрэглэх тархины эдийн сорьцыг авах, боловсруулахдаа тухайн шинжилгээний арга эсхүл цомог нийлүүлэгч эсхүл үйлдвэрлэгчийн нарийвчилсан зааврыг ягштал баримтална. Шинжилгээний арга бүрийн нарийвчилсан аргачлал өөр өөр байх ба тэдгээрийн өөрчилсөн арга зүйг үйлдвэрлэгч баталгаажуулаагүй нөхцөлд өөрчилж болохгүй. PrP^{Sc} уургийн хуримтлалыг харуулах, хурдавчилсан шинжилгээний сорьц авах аргад үнэлгээ өгөх зорилгоор дархлаа судлалын шинжилгээнд зориулан сорьцыг обексийн түвшинд эсхүл түүнээс хойш эсхүл урагш 1.0 см-ийн дотор (гол онилсон хэсгийн хойноос урагш тогтсон хэр хэмжээнээс хамаарна) авахыг чухалчилна (Зураг 3). Сорьцоос шинжлэх хэсгийг сонгохдоо дараагийн баталгаажуулах шинжилгээнд ямар арга хэрэглэхийг харгалзана. Гарсан эерэг үр дүнг баталгаажуулахын тулд уртавтар

тархины обексийн түвшинд наад зах нь хагас зүсмэг авч иммунгистохимийн/бичил бүтцийн шинжилгээнд (дээр дурдсанаар) зориулсан бэхжүүлэлтэд оруулахаар бүтнээр нь авч үлдэх хэрэгтэй. Хурдавчилсан шинжилгээнд зориулан уртавтар тархины обексийн урд эсхүл хойд хэсгээс авсан сорьцыг бичил бие бүтцийн болон ИГХ-ийн аргаар шинжлэх боломжтой. Гэхдээ хурдавчилсан болон баталгаажуулах шинжилгээнд хэрэглэх сорьц болгон уртавтар тархины обексийн түвшинд хагас зүсэлтээр сорьц авах нь илүү тохиромжтой. Бичил бие бүтцийн эмгэг хувирлын (ялангуяа хоосовч үүсэх) тэгш хэмт байдлыг үнэлэх боломж алдагддаг ч энэ арга нь ИГХ-ийн илүү чухалчлах шинжилгээнд сөрөг нөлөөлөх магадлал бага юм. Жишээ нь мэдрэхүйн бөөм, тэнэмэл мэдрэлийг хөдөлгөх хойд бөөм (ҮТСӨ-тэй үхэрт эмгэг өөрчлөлт илрүүлэхийг зорьж байгаа хэсэг) жижгэрч голын заагт харьцангуй ойрхон байршина (Зураг 3). Хэрэв авсан дээж өөрөө задарснаас бие бүтцийн хувьд ялгарахааргүй болчихвол жижиглэн хуваж хэсэг хэсэг болгосны дараа шинжилнэ. Энэ нөхцөлд хэрэв эерэг дүн үзүүлбэл түүнийг хүчинтэйд тооцох ба харин сөрөг дүн үзүүлсэн амьтныг сөрөгт тооцолгүйгээр шинжилгээний үр дүнг үнэлэхдээ болгоомжтой хандаж оновчтой дүгнэлт гаргана.



Зураг 3. ҮТСӨ-ийг бичил бие бүтэц, иммунгистохимийн шинжилгээгээр оношлоход онцгойлон авч үзэж шалгадаг хэсгийг харуулсан үхрийн тархины баганыг обексийн түвшингээр хөндлөн зүссэн байдал. Эдгээр нь үндсэндээ мэдрэхүйн бөөм [1], гуравласан мэдрэлийн нугасны замын төв [2]; тэнэмэл мэдрэлийн хөдөлгөх хойд бөөм [3] байна. Хурдавчилсан аргад хэрэглэх материалд дээрх хэсгийг төлөөлөх материал оруулсан байх ёстой.

Хагас зүсэлтийг зөв хийхгүй бол баталгаажуулах шинжилгээгээр илрүүлж болох өөрчлөлт бүхий хэсэг нь бүрмөсөн эвдэрч тандалтын хөтөлбөрийн хэрэгжилтэд саад учруулна. Сорьц авах тусгай хэрэгслээ зөв оруулж байрлуулахгүй бол тархинаас авахаар зорьсон хэсгийг буруу авахад хүрнэ. Ийм учраас сорьц авах аргачлал, үүний дотор авах сорьцын зөвхөн жин төдийгүй харин тэдгээрийн бие бүтцийн байршил зүйг мэддэг болгох, чанарыг үнэлэхэд маш тодорхой бодлого, хяналт шинжилгээний хөтөлбөр хэрэгжүүлэх хэрэгтэй. PrP^{Sc} уураг өвөрмөц байршилд тархдаг учраас оношилгооны цомогт тодорхойлсон байршлаас тогтоосон хэмжээгээр сорьц авах, хэрэв энэ талаар тусгайлан заагаагүй бол 3-р зурагт дэлгэрэнгүй өгүүлсэн баталгаажуулах бүх шинжилгээнд тархины оношилгооны зорилтот хэсгээс 0.5 г-аас багагүй хэмжээтэй сорьц авна. Дээж өөрөө задарсан, ялангуяа онцлог өөрчлөлт гардаг зорилтот хэсэг нь шинжилж байгаа дээж дотор ороогүй орхигдсон нөхцөлд шинжилгээний үр дүн буруу гарна.

1.2. Оношлох шинжилгээ

1.2.1. Бичил бие бүтцийг шалгах шинжилгээ

Бичил бие бүтцийн эмгэг судлал нь ТСДХӨ-ийг оношлоход хэрэглэсэн анхны арга бөгөөд өдий хүртэл ТСДХӨ-ий үеийн эмгэг өөрчлөлтийг тухайлбал хоосовч, биенцэр үүсэлтийг таньж тогтооход хэрэглэгдэж байгаа түүхэн ач холбогдолтой учраас түүний талаар энэ бүлэгт өгүүлэв. Гэвч эдгээр эмгэг өөрчлөлт нь өвчний явцад PrP уургийн уг өвчинд өвөрмөц хэлбэр бүрэлдсэний дараа илэрнэ. Үүний улмаас бичил

бие бүтцийн эмгэг судлалын мэдрэх чанар үүсгэгчийг таньж тогтоох аргатай харьцуулахад доогуурт тооцогдож түүний оронд үүсгэгчийг таньж тогтоох аргыг эрхэмлэх болов. Үүнээс гадна бичил бие бүтцийн эмгэг судлалд сайн чанарын дээж бэлтгэх шаардлагатай байдаг бол харин өвчин-өвөрмөц PrP уургийг илрүүлэн оношлох шинжилгээнд дээж өөрөө задарсан байсан ч нөлөөлөх нь бага юм.

Бичил бие бүтцийн эмгэг судлал өвчний сэжигтэй амьтныг судлан шинжлэх эсхүл илрүүлэх шинжилгээг эрүүл популяцид хийхэд дангаараа хэрэглэгдэх оношилгооны арга байхаа больжээ. Гэхдээ бичил бие бүтцийн эмгэг хувирлыг ойлгож мэддэг байх нь ҮТСӨ-өөс бусад шалтгаанаар үхрийн тархины сорьц авч бичил бие бүтцийн оношилгоо тогтмол хийх явцдаа ҮТСӨ-ий тохиолдлыг хялбархан илрүүлэх ач холбогдолтой. Ялгаварлан оношлохын тулд уртавтар тархины обекс хэсгээс 5 мкм нимгэн зүсмэг бэлтгээд гематоксилин эозиноор будаж харна. Хэрэв эдийн дээжийн чанар шаардлага хангасан бол гемотоксилин эозиноор будсан дээжийн бичил бие бүтцийг харж шалгахад энэ өвчнийг анх тархи сархиатах өвчин гэж тогтоосон ҮТСӨ-ий үеийн мэдрэлийн хэв шинжит эмгэг өөрчлөлт (Simmons нар, 1996; Wells & Wilesmith, 1995) илэрч батлагдана. Эдгээр өөрчлөлт нь голдуу сархиатах өөрчлөлт, мэдрэлийн эсийн хоосовчоос бүрдэх ба энэ нь бусад бүх амьтдын ТСДХӨ-д тохиолддогтой их адилхан боловч ҮТСӨ-ий үед уртавтар тархины обексийн түвшний зарим эсийн бөөмд мэдрэлийн паренхимийн хоосовч элбэг тохиолддог нь уртавтар тархинаас бэлтгэсэн нэг зүсмэг дэх бичил бие бүтцийн эмгэг өөрчлөлтөөр оношогтооход хангалттай арга хэрэгсэл болж өгнө. Бусад зүйл амьтанд гардаг шиг үхрийн тархинд хоосовч үүсэх өөрчлөлт, ялангуяа дунд тархины улаан болон нүд хөдөлгөх бөөм бүхий мэдрэлийн эсийн их биед хоосовч үүсэх нь санамсаргүй тохиолдож болох өөрчлөлт юм (Gavier-Widen нар, 2001). Ийм учраас ҮТСӨ-ийг бие бүтцийн бичил эмгэг өөрчлөлтөөр оношлохдоо зөвхөн мэдрэлийн эсэд, ялангуяа дээрх анатомийн байршилд үүссэн хоосовчид найдаж болохгүй.

Обексоос бэлтгэж гематоксилин эозиноор будсан зүсмэгт хоосовч илрүүлэх шинжилгээгээр сөрөг дүн үзүүлсэн, өвчний эмнэл зүйн сэжигтэй амьтны 5 хүртэлх хувьд ИГХ-ийн шинжилгээгээр оношлох боломжтойг одоогоор нийтлэгдээгүй байгаа судалгааны дүн нотлон харуулсныг үндэслэн бие бүтцийн бичил эмгэг өөрчлөлтөөр оношлохоос гадна иммунгистохимийн аргаар нэмж шинжилгээ хийхийг зөвлөдөг. Уртавтар тархины обекс хэсгийг ашиглаад мэдрэлийн эмгэгийг ялгаварлан оношлох бүрэн шинжилгээ хийх боломжгүй, нөгөө талаар ТСДХӨ-ий фенотипийн цогц шинж чанарыг тодорхойлох боломжгүй нь тодорхой байна. Ийм учраас эмнэл зүйн шинж тэмдгийн хувьд сэжиглэм бүх тохиолдолд тархийг бүтнээр гарган авч шинжлэхийг зөвлөдөг. H- эсхүл L-хэлбэрийн ҮТСӨ-ий үеийн бие бүтцийн бичил эмгэг өвөрмөц хувиралтыг тодорхойлсон баримт мэдээлэл хангалтгүй хэвээр байна. ҮТСАӨ (ҮТСӨ-ий L-хэлбэр)-ий бичил бие бүтцийн эмгэг өөрчлөлтийн талаар Италийн судлагчдын гаргасан зарим баримт мэдээлэл бий (Casalone нар, 2004). Идэвхгүй тандалтаар хэв шинжит бус ҮТСӨ-ий цөөн тохиолдлыг илрүүлсэн бөгөөд энэ талаар илүү мэдлэг ойлголттой болох зорилгоор цуглуулах бүтэн тархийг идэвхтэй тандалтын хөтөлбөр хэрэгжүүлэх явцад олж авах боломжгүй юм. Ихэнх нь хэв шинжит бус ҮТСӨ-өөр хорогдсон малын тархи өөрөө задарч муудсанаас бичил бие бүтцийн иж бүрэн шинжилгээ хийх боломжгүй болно. Цөөн тооны амьтны тархинд зориудын халдвар хийж үүсгэсэн H- эсхүл L-хэлбэрийн ҮТСӨ-ий сүүлийн үе шатны эмгэг хувирлыг тодорхойлсон байна (Konold нар, 2014; Okada нар, 2011).

Хэдийгээр бичил бие бүтцийн шинжилгээг оношилгооны анхан шатны эсхүл баталгаажуулах бусад арга орлох болсон ч судалгаа шинжилгээний зорилгоор хэрэглэсэн хэвээр байна.

1.2.2. PrP уургийн өвчинд-өвөрмөц хэлбэрийг илрүүлэх

PrP уургийг илрүүлэх арга нь бие бүтцийн эмгэг хувирлыг үндэслэн тогтоодог хэлбэр зүйн өөрчлөлтөөс тусдаа энэ өвчинд өвөрмөц оношилгооны нийтлэг хэрэглэгдэдэг арга хэрэгсэл болжээ. PrP^{Sc} уургийн хуримтлалыг илрүүлэх нь тандалтын хөтөлбөр хэрэгжүүлэх, онош баталгаажуулахад чухалчлан хэрэглэдэг арга юм. Бэхжүүлэлт хийхийн өмнө хөлдөөсөн материалд иммунгистохимийн арга хэрэглэх (гэхдээ заавал биш) боломжтой (Debeer нар, 2002). Бэхжүүлэлт хийхийн өмнө хөлдөөх нь дархлааны урвалд орох дээжийн чанарыг бууруулахгүй, харин илрүүлэхээр зорьсон хэсгийг нарийн ялган тогтооход саад учруулж болзошгүй юм. Эерэг тохиолдолд дээж дэх оношилгооны бай болдог наад зах нь нэг хэсэгт энэ өвчинд өвөрмөц

дархлааны тэмдэглэгээт урвал явагдана (Casalone нар, 2006). Харин сөрөг гэж онош тогтоохын тулд илрүүлэхээр зорьсон хэсэг уг дээжид багтаж орсон байсан эсэхийг ялган тогтоох боломжтой байсан эсэх, ИГХ-ийн шинжилгээг шаардлага хангах хяналт ашиглан техникийн хувьд амжилттай хийснээ нотлон харуулах ёстой. Хэрэв энэ өвчинд өвөрмөц эсрэгтөрөгчийг илрүүлэх, байршлыг тогтоох дархлааны тэмдэглэгээт урвал явагдаагүй бол дээжид илрүүлэхээр тооцсон хэсгийг ялган тогтоох боломжгүй, ийм ч учраас өвчний тухайн тохиолдлыг сөрөг гэж үзэхийн оронд “батлагдаагүй” гэсэн ангилалд оруулна. H- болон L-хэлбэрийн аль ч хувилбарын үед уртавтар тархины обексийн түвшинд PrP^{Sc} уураг хуримтлагддаг нь харагддаг (Casalone, 2006; Konold нар, 2012) ба төв мэдрэлийн тогтолцооны дагуу дархлааны тэмдэглэгээт урвалын хамрах хүрээ, хэлбэр зүйн илрэл нь сонгомол YTCӨ-ийхөөс ялгагдана. Харин энэ өвчний өөр хувилбарт хэлбэрийн үед товгор маягийн олон жижигхэн хуримтлал үүсэх нь нийтлэг байдаг. Тархины баганад (обексийн түвшинд) ялгагдах өөрчлөлт тэр бүр тод илрэхгүй учир түүнд найдаж өвчний тохиолдлыг үнэн зөв ялгаварлах эсхүл ангилах боломжгүй.

1.2.2.1. Иммунгистохимийн (ИГХ) арга

Эмгэг бичил бүтцийн оношилгоонд хэрэглэдэг формалинд бэхжүүлж, парафинд цутгасан материалд PrP^{Sc} уургийн хуримтлалыг ИГХ аргаар тогтооно. YTCӨ-ийг оношлох зорилгоор PrP^{Sc} уургийг ИГХ аргаар илрүүлэх төрөл бүрийн аргын зааврыг сайн ашиглаж байна. Хэдийгээр ИГХ-ийн стандартчилагдсан арга хэрэглэхийг чухалчлах ёстой ч стандарт үр дүн гаргаж чадах найдвартай аргыг шалгаж тогтоох нь илүү ач холбогдолтой. Стандарт үр дүн гаргаж байгаа эсэхийг ур чадварын сорилд оролцуулах, лавлах лабораторид стандартчилсан загвар аргаар шинжилсэн үр дүнтэй харьцуулах замаар хяналт-шинжилгээ хийж тогтооно. Эмгэг бичил бүтцийн шинжилгээ хийх ерөнхий аргыг өөрөө задарч нэгэнт хэлбэр зүйн шинжилгээ хийх боломжгүй болсон дээжид хэрэглэсээр байгаа бөгөөд хэрэглэхэд ч тохиромжтой арга юм (Monleon нар, 2003). Гэвч илрүүлэхээр зорьж байгаа тэр хэсэг нь шинжилж байгаа дээжийн дотор бие бүтцийн байршлын хувьд багтсан эсэхийг зайлшгүй тогтоох хэрэгтэй. Энэ нь сөрөг гэсэн онош тавихад чухал ач холбогдолтой бөгөөд бас дархлааны тэмдэглэгээт урвал тавихад гарсан эргэлзээтэй үр дүнг нарийвчлан авч үзэхэд чухал байдаг. PrP^{Sc} уургийн хуримтлалыг илрүүлэх ИГХ-ийн аргын мэдрэх чанар PrP^{Sc} уургийг илрүүлэх Вестерн иммунблотын аргынхтай ойролцоо (Schaller нар, 1999). Бичил бүтцийн шинжилгээнд сайн чанарын бэлдмэл хэрэглэн иммунгистохимийн аргаар PrP^{Sc} уургийн хуримтлалыг илрүүлэх ба хоосовч үүсгэдэг эмгэгийн нэгэн адил өөрийн гэсэн хэв шинжтэй төрөл, хэлбэр бүхий хоосовч тархсан нь илэрнэ. Үүнийг тогтоосноор өвчний гадаад илрэлийн энэ талын асуудлыг нэгэн зэрэг харуулж бас баталгаажуулна. Эдүгээ хэрэглэгдэж байгаа шинжилгээний аргыг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораторид хандан авах боломжтой

Хонины скрепи өвчнийг оношлохоос ялгаатай нь YTCӨ-ий үед лимфоид эдэд PrP^{Sc} уураг бага илэрдэг учраас ийм эдээс биопси авч эмнэл зүйн шинж тэмдэг илрэхийн өмнөх онош тогтоох боломжгүй юм.

1.2.2.2. Вестерн иммунблотын арга

Иммунблотын шинжилгээний аргыг шинэ (бэхжүүлээгүй) эдийн дээжид хэрэглэх ба өөрөө задарсан эдийн дээжийг ч шинжилж болно (Hayashi нар, 2004). YTCӨ-ийг оношлох энэ төрлийн анхны аргад SAF-иммунблотын арга орно. Вестерн блотын арга оношилгооны мэдрэх чанараар ИГХ аргатай адилхан бөгөөд ИГХ-ийн аргын нэгэн адил YTCӨ-ий оношийг баталгаажуулахад чухалчлан хэрэглэдэг арга хэвээрээ байна. Энэ арга нь эхлээд 2-4 г хэмжээний сорьц ашиглан PrP^{Sc} уургийг хэд хэдэн үе шатаар өтгөрүүлдэг, мэдрэх чанар өндөр арга юм. Эдүгээ үүнээс бага хугацаа, өртөг зарцуулдаг өөр хувилбар арга гарчээ. Энэ арга хэрэглэхэд бага материал шаардах ба хэрэглэхэд илүү хялбар. Вестерт блот янз бүрийн арга TSEglobalNet[5] цахим сан эсхүл ДМАЭМБ-ын YTCӨ-ий лавлах лабораторид бий.

Дэлхий даяар нийтлэг хэрэглэгдэж байгаа Вестерн иммунблотын аргаар PrP^{Sc} уургийг илрүүлэхэд түүний анализын мэдрэх чанар нь хэрэглэж байгаа арга, лабораторийн хооронд ихээхэн хэлбэлзэж байна. Нийтлэгдсэн баталгаажуулах аргаас илүүтэйгээр дотоодын аргыг хэрэглэхийг чухалчилж байгаа бол тэдгээр арга

[5] https://science.vla.gov.uk/TSEglobalnet/index.html

шинжилгээний зорилгыг хангаж чадах эсэхийг тогтоож ДМЭАМБ-ын лавлах лабораторитой зөвлөлдөн баталгаажуулах нь чухал.

ДМАЭМБ болон үндэсний лавлах лабораториуд сонгомол УТСӨ-өөс түүний H- болон L-хэлбэрийн хувилбарыг ялгаварлах Вестерн иммунблотын аргыг боловсруулаад байна. Ялгаварлах арга нь протенеиза К-ын тасалдаг N төгсгөлийн ялгаатай байдал, эсрэгтөрөгчийн урвалж чанар, PrP^{res} уургийн гликозамины хэв шинжид суурилна (Jacob нар, 2007). Европын холбооны лавлах лабораториос энэ аргын дэлгэрэнгүй заавар, оношилгоонд харгалзах шалгуур үзүүлэлт гаргасныг TSEglobalNet[6]-цахим сангаас авах боломжтой.

1.2.2.3. Хурдавчилсан шинжилгээний арга

Тархины олон тооны сорьцод илрүүлэх шинжилгээ хийхэд зориулсан Вестерн блотын арга, хэвтээ нэвчилтийн хурдавчилсан арга, ЕЛИЗА шинжилгээний аргыг тус тус боловсруулан худалдаанд гаргажээ. Эдгээр шинжилгээг хэдхэн цагт гүйцэтгэнэ (Европын холбооноос УТСӨ-ийг илрүүлэх хурдавчилсан шинжилгээний аргыг иммунгистохимийн шинжилгээгээр УТСӨ-тэй болон өвчингүй болохыг нь тогтоосон бүлэг дээж ашиглан үнэлгээ хийсэн дүнг үзэх[7]). Европын холбооны улсуудад УТСӨ-ий тандалтад зориулан үнэлгээ хийж зөвшөөрсөн шинжилгээний аргыг ТСДХӨ-ий журмын X хавсралтын C бүлгийн 4 дэх хэсэгт (EC No 999/2001 болон холбогдох нэмэлт[8]) жагсаасан байна. Эдгээр аргыг ямар зорилгоор хэрхэн хэрэглэх мэдээлэл Их Британи дахь ДМАЭМБ-ын лавлах лабораторийн цахим хуудсанд[9] бий.

Олон улс орон, ДМАЭМБ-ын УТСӨ-ий шинжилгээний ажлын хэсэг Европын холбооноос олгосон зөвшөөрөл олголтыгэний уг шинжилгээний гүйцэтгэлийг харуулсан үнэлгээ эж хүлээн зөвшөөрдөг бол бусад нь, нэн ялангуяа Америкийн Нэгдсэн Улс, Канад, Япон улс (УТСӨ-ийг тандах Канадын протокол[10]; Япон улсын Хөдөө аж ахуй, ой, загас агнуурын яамны харьяа Үндэсний мал эмнэлгийн шинжилгээний лабораториос гаргасан Японы мал эмнэлгийн эмийн зохицуулалтын системийн хураангуй[11]) үнэлгээний өөрийн механизмыг тогтоогоод байна. ДМАЭМБ ийм үнэлгээний баталгаажуулалтын үйл явц, зааврыг ДМАЭМБ-ын цахим мэдээлэлд: оношлох шинжилгээг баталгаажуулах, зөвшөөрөл олгох[12] нэрээр оруулсан ба Европын холбооны баталгаажуулалтын үйл явцыг шинжилгээний мэдрэх болон өвөрмөц чанарыг тогтоохоор цаашид хийгдэх үнэлгээний алтан стандарт нэмээн хүлээн зөвшөөрсөн байна.

Шинжилгээнд яг ижилхэн дээж хэрэглэх боломжгүй, бас PrP^{Sc} уураг биеэр жигд тархдаггүй зэргээс шалтгаалан хурдавчилсан арга, иммунгистохими, бусад баталгаажуулах аргын харьцангуй мэдрэх чанарыг тодорхойлолт ёсоор бүрэн тогтоогоогүй байна (эдийг жижиглэн нэгэн жигд болгон дээж эсхүл сайтар нунтагласан эдийн хольцыг шинжилгээнд ашиглавал тодорхой шинжилгээний төрөлд хамаарах зарим мэдээлэл хуримтлагдана. Үүнийг мэдэж байх нь ялангуяа хурдавчилсан шинжилгээний аргын гүйцэтгэлийг үнэлэхэд УСТӨ-ий эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлээгүй, өвчинд илүү нэрвэгдсэн үхрийнтэй харьцуулахад PrP^{Sc} уураг нь бага, илүү хязгаарлагдмал хэмжээнд хуримтлагдсан байх магадлалтай амьтныг шинжлэхэд чухал ач холбогдолтой юм. Хурдавчилсан шинжилгээний арга нь өвчний нууц үеийн төгсгөлийн цөөн хэдэн сар байгаа амьтны эхний илрүүлэх шинжилгээний арга болж байгаа (Arnold нар, 2007) ба жишээ нь үхэр төхөөрөх төлөвлөгөөт ажлын үеэр цуглуулсан материалд хийх төхөөрөлтийн дараах судалгаанд хэрэглэх арга болж байна. УТСӨ-ий шинэ тохиолдлыг илрүүлэх зорилгоор тандалт хийж байгаа орнууд, УТСӨ-ий тархалтыг тогтоох арга нь өвчний сэжигтэй тохиолдлыг мэдэгдэх системээс тусдаа байдаг улс оронд илрүүлэлтийн эдгээр шинжилгээ нь үр нөлөөтэй арга болж өгнө. Европт 2001 оны 1 дүгээр сараас эхлэн идэвхтэй тандалтад хэрэглэж эхэлсэн эдгээр шинжилгээний аргаар УТСӨ халдварласан амьтны ихэнхийг илрүүлсэн учраас тэдгээрийг анхан шатны шинжилгээнд хэрэглэхийг чухалчлах болсон юм. Гэвч УТСӨ-ийг баталгаажуулахад гарцаагүй тархины эдийн бэхжүүлсэн дээжийг иммунгистохимийн аль эсхүл Вестерт

[6] https://science.vla.gov.uk/TSEglobalnet/documents/TSE-rl-blot.pdf
[7] https://science.vla.gov.uk/TSEglobalnet/test.html
[8] https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1591112973636&uri=CELEX:02001R0999-20191214
[9] https://science.vla.gov.uk/TSEglobalnet/documents/TSE-oie-guide.pdf
[10] http://www.inspection.gc.ca/english/anima/disemala/bseesb/surv/protoce.shtml
[11] http://www.maff.go.jp/nval/english/pdf/outline130325.pdf

иммунблотын аргаар тохирсон зааврын дагуу шинжлэх шаардлага гарна. 2006 онд ДМАЭМБ хурдавчилсан шинжилгээний хугацаанд гарсан аргуудыг идэвхтэй тандалтын хөтөлбөр хэрэгжүүлэхдээ ашиглан шинжилгээг сайтар дадлагажсан хүмүүс хийвэл уг арга маш үр дүнтэй, тогтвортой арга болохыг хүлээн зөвшөөрчээ. Чухамдаа зарим тохиолдолд эдгээр арга нь харьцуулж буй хүлээн зөвшөөрөгдсөн стандарт аргаас (хэрэв гүйцэтгэж байгаа хүний дадлага, туршлага дутмаг бол) давсан үр дүн үзүүлэх боломжтой юм. Ийм нөхцөл байдалд өвчний шинж чанарыг тодорхойлоход хурдавчилсан арга бүрэн тохирохгүй ч түүнийг эдүгээ идэвхтэй эсхүл идэвхгүй тандалтын хөтөлбөр хэрэгжүүлэхэд эхний болон дараагийн баталгаажуулах аль аль шинжилгээнд хослуулан хэрэглэх оношилгооны аргаар хэрэглэж болно гэж үзэж байна.

Гэвч нэг ижил урвалж хэрэглэн хуурамч эерэг дүн гаргаад байхгүйн тулд эхний болон батлах шинжилгээний аргын хоорондын нийцлийг хангаж сонгох нь чухал юм. Ийм учраас батлах шинжилгээнд ИГХ, Вестерт блотын арга хэрэглэхийн оронд хурдавчилсан шинжилгээний хоёр аргыг хослуулан хэрэглэхийг хүссэн хүмүүст туслах зорилгоор шинжилгээний аргыг оновчтой хослуулан хэрэглэхэд холбогдох мэдээллийг TSEglobalNet цахим санд байршуулж байх болно. Бэхжүүлэлт хийсэн эдийн дээжид л биш бол хослуулж хэрэглэх шинжилгээний аргад Вестерн блотын аргыг оруулах нь дээжийн фенотипийн шинж чанарыг тогтооход ач холбогдолтой нэмэлт баримт мэдээлэл бүрдүүлж өгнө. Аргыг хослуулан хэрэглэхдээ үндэсний лавлах лабораторид гүйцэтгэнэ. Хурдавчилсан шинжилгээний хоёр аргыг зөвхөн ҮТСӨ-ийг баталгаажуулахад хослуулан хэрэглэнэ. Анхны шинжилгээгээр эерэг дүн үзүүлсэн тохиолдолд хоёрдох удаагийн шинжилгээгээр сөрөг дүн үзүүлбэл сөрөг гэж үзэх нь хангалтгүй. Ийм учраас хурдавчилсан аргаар шинжлэхэд үр дүн нь нийлээгүй ҮТСӨ-ий сэжигтэй тохиолдлыг Вестерн иммунблотын арга аль эсхүл ИГХ аргаар шинжлэн судалж PrP^{Sc} уураг илрүүлэх ба эдгээр аргын алиныг ч хэрэглэх бололцоогүй нөхцөлд шаардлагатай шинжилгээ хийлгэхээр сорьцыг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораторид илгээнэ.

Европт шинжилгээний аргыг үнэлэх хөтөлбөрийг ҮТСӨ-ний тандалтын талаарх хууль тогтоомжийг бэхжүүлэх зорилгоор хэрэгжүүлсэн хэдий ч түүний үр дагавар нь бусад улс оронд ч мөн хамааралтай юм. Шинжилгээний хуурамч эерэг эсхүл хуурамч сөрөг үр дүн маш их үр дагавартай учраас шинжилгээний шинэ аргыг нэвтрүүлэхдээ тухайн шинжилгээний гүйцэтгэлийг шалган үнэлгээ өгсөн байх шаардлагатай. Шинжилгээний аргын урвалж, цомгийг үйлдвэрлэгч этгээдээс ирүүлэх өргөдөлд уг аргад шаардлагын дагуу бие даан хийсэн үнэлгээний баримт, тоон мэдээллийг хамт ирүүлнэ. Баталгаажуулалтад ашиглах жинхэнэ лавлагааны арга гараагүй, үүнтэй холбоотойгоор харьцангуй цөөн судалгааны дүнг үндэслэсэн харьцуулалтын стандарт хэрэглэгдэж байгаагаас ҮТСӨ-ий оношилгооны эдгээр бүх аргыг бүрэн баталгаажуулах ажил саатаж байгааг тэмдэглэх нь зүйтэй. Ийм учраас шинжилгээний аргын гүйцэтгэлийг өргөн хүрээнд судалж дүнг нийтлэх хэрэгцээ одоо ч байгаа бөгөөд энэ өвчний талаар нийтлүүлсэн ямар ч мэдээ баримтад бусад өвчний шинжилгээний аргын баталгаажуулалтын батлагдсан аргачлалтай харьцуулсан зүйл алга байна.

1.3. Оношилгооны бусад арга

Энэ өвчнөөр өвчлөөд төгсгөл үедээ орсон үхрийн тархины эдийг хулганад халдварлуулж ҮТСӨ халдварлах чанарыг харуулж болох боловч өвчний нууц үе удаан үргэлжлэх учраас оношилгооны зорилгоор энэхүү амь сорилыг тогтмол хэрэглээд байх боломжгүй юм. Жишээ нь ген шилжүүлснээр үхрийн PrP генийг их хэмжээгээр экспреслэдэг болчихсон хулганыг амь сорилд ашиглан нууц үе нь богинохон ҮТСӨ үүсгэх боломжтой болсон боловч эдгээр нь оношилгооны арга болж хараахан чадаагүй байна.

Уургийг *in-vitro* нөхцөлд олшруулах арга зарим төрлийн прионы өвчнийг, түүний дотор С хэлбэрийн ҮТСӨ-ийг (Murayama нар, 2010) маш мэдрэмтгий илрүүлдэг нь батлагдаж байгаа (Castilla нар, 2006; Orru нар, 2012) боловч хууль журмын дагуу хийх тандалтын системд ашиглахад зориулан албан ёсоор үнэлгээ хийгээгүй байна. Гэхдээ зарим нь хүн амын дундах тандалтад амжилттай эхлэн хэрэгжиж байна (Lacroux нар, 2014; Orru нар, 2014).

1.4. Оношилгооны урвалж болон цомгийн олдоц

Өмнө өгүүлсэнчлэн (дээрх Б.1.2.2.3 хэсэг) олон улс орон оношилгооны цомгийг бүртгэн зөвшөөрөл олгоод байгаа бөгөөд урвалж бодисууд нь худалдаанд нэгэнт гарсан, ДМАЭМБ-ын лавлах болон ТСДХӨ-ий тандалтын хөтөлбөр хэрэгжүүлдэг бусад лабораторид бэлэн байна. Лабораториуд ДМАЭМБ-ын бүртгэлд орсон (зүүлт 12-ыг үзэх) эсхүл эрх бүхий холбогдох байгууллагын шалган баталгаажуулсан цомог хэрэглэхийг эрхэмлэх хэрэгтэй.

2. Ийлдэс судлалын шинжилгээний арга

Прионоор үүсэх халдварт өвчний үүсгэгч дархлааны хариу урвал хангалттай үүсгэдэггүй учир ийлдэс судлалын шинжилгээ хийх боломжгүй юм.

В. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

Вакцин байхгүй.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

ARNOLD M.E., RYAN J.B.M., KONOLD T., SIMMONS M.M., SPENCER Y.I., WEAR A., CHAPLIN M., STACK M., CZUB S., MUELLER R., WEBB P.R., DAVIS A., SPIROPOULOS J., HOLDAWAY J., HAWKINS S.A.C., AUSTIN A.R. & WELLS G.A.H. (2007). Estimating the temporal relationship between PrPSc detection and incubation period in experimental bovine spongiform encephalopathy (BSE) of cattle. *J. Gen. Virol.,* **88**, 3198–3208.

BERINGUE V., BENCSIK A., LE DUR A., REINE F., LAI T.L., CHENAIS N., TILLY G., BIACABE A.-G., BARON T., VILOTTE J-L. & LAUDE H. (2006). Isolation from cattle of a prion strain distinct from that causing bovine spongiform encephalopathy. *PLoS Pathogens,* **2**, 956–963.

BIACABE A.G., LAPLANCHE J.L., RYDER S. & BARON T. (2004). Distinct molecular phenotypes in bovine prion diseases. *EMBO Rep*., **5**, 110–115.

BRUCE M.E., WILL R.G., IRONSIDE J.W., MCCONNELL I., DRUMMOND D., SUTTIE A., MCCARDLE L., CHREE A., HOPE J., BIRKETT C., COUSENS S., FRASER H. & BOSTOCK C.J. (1997). Transmissions to mice indicate that 'new variant' CJD is caused by the BSE agent. *Nature,* **389**, 498–501.

CASALONE C., CARAMELLI M, CRESCIO M.I., SPENCER Y.I. & SIMMONS M.M. (2006). BSE immunohistochemical patterns in the brainstem: a comparison between UK and Italian cases. *Acta Neuropathol.,* **111**, 444–449.

CASALONE C., ZANUSSO G., ACUTIS P., FERRARI S., CAPUCCI L., TAGLIAVINI F., MONACO S. & CARAMELLI M. (2004). Identification of a second bovine amyloidotic spongiform encephalopathy: Molecular similarities with sporadic Cruetzfeldt-Jacob disease*. Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **101**, 3065–3670.

CASTILLA J., SAA P., MORALES R., ABID K., MAUNDRELL K. & SOTO C. (2006). Protein misfolding cyclic amplification for diagnosis and prion propagation studies. *Methods Enzymol*, **412**, 3–21.

DEBEER S.O.S., BARON T.G.M. & BENCSIK A.A. (2002). Transmissible spongiform encephalopathy diagnosis using PrP immunohistochemistry on fixed but previously frozen brain samples. *J. Histochem. Cytochem.,* **50**, 611–616.

GAVIER-WIDEN D., WELLS G.A.H., SIMMONS M.M., WILESMITH J.W. & RYAN J.B.M. (2001). Histological observations on the brains of symptomless 7-year-old cattle. *J. Comp. Path.,* **124**, 52–59.

HAYASHI H., TAKATA M., IWAMARU Y., USHIKI Y., KIMURA K.M., TAGAWA Y., SHINAGAWA M. & YOKOYAMA T. (2004). Effect of tissue deterioration on postmortem BSE diagnosis by immunobiochemical detection of an abnormal isoform of prion protein. *J. Vet. Med. Sci.,* **66**, 515–520.

JACOB J.G, LANGEVELD J.P.M., BIACABE A.-G., ACUTIS P.-L., POLAK M.P., GAVIER-WIDEN D., BUSCHMANN A., CARAMELLI M., CASALONE C., MAZZA M., GROSCHUP M., ERKENS J.H.F., DAVIDSE A., VAN ZIJDERVELD F.G. & BARON T. (2007). Molecular discrimination of atypical Bovine Spongiform Encephalopathy strains in a geographical region spanning a wide area in Europe. *J. Clin. Microbiol.,* **45**, 1821–1829.

KONOLD T., BONE G.E., CLIFFORD D., CHAPLIN M.J., CAWTHRAW S., STACK M.J. & SIMMONS M.M. (2012). Experimental H-type and L-type bovine spongiform encephalopathy in cattle: observation of two clinical syndromes and diagnostic challenges. *BMC Vet. Res*. **8**, 22.

KONOLD T., BONE G., RYDER S., HAWKINS S.A., COURTIN F. & BERTHELIN-BAKER C. (2004). Clinical findings in 78 suspected cases of bovine spongiform encephalopathy in Great Britain. *Vet. Rec*., **155**, 659–666.

KONOLD T., PHELAN L.J., CLIFFORD D., CHAPLIN M.J., CAWTHRAW S., STACK M.J. & SIMMONS M.M. (2014). The pathological and molecular but not clinical phenotypes are maintained after second passage of experimental atypical bovine spongiform encephalopathy in cattle. *BMC Vet. Res*. **10**, 243.

LACROUX C., COMOY E., MOUDJOU M., PERRET-LIAUDET A., LUGAN S., LITAISE C., SIMMONS H., JAS-DUVAL C., LANTIER I., BÉRINGUE V., GROSCHUP M., FICHET G., COSTES P., STREICHENBERGER N., LANTIER F., DESLYS J.P., VILETTE D. & ANDRÉOLETTI O. (2014). Preclinical detection of variant CJD and BSE prions in blood. *PLoS Pathog.,* **10**:e1004202.

LOMBARDI G., CASALONE C., D'ANGELO A., GELMETTI D., TORCOLI G., BARBIERI I., CORONA C., FASOLI E., FARINAZZO A., FIORINI M., GELATI M., IULINI B., TAGLIAVINI F., FERRARI S., CARAMELLI M., MONACO S., CAPUCCI L. & ZANUSSO G. (2008). Intraspecies transmission of BASE induces clinical dullness and amyotrophic changes. *PLoS Pathogens,* **4**, e1000075.

MONLEON E., MONZON M., HORTELLS P., VARGAS A., BADIOLA J.J. (2003). Detection of PrPSc in samples presenting a very advanced degree of autolysis (BSE liquid state) by immunocytochemistry. *J. Histochem. Cytochem*., **51**, 15–18.

MURAYAMA Y., YOSHIOKA M., MASUJIN K., OKADA H., IWAMARU Y., IMAMURA M., MATSUURA Y., FUKUDA S., ONOE S., YOKOYAMA T.& MOHRI S. (2010). Sulfated dextrans enhance *in vitro* amplification of bovine spongiform encephalopathy PrP(Sc) and enable ultrasensitive detection of bovine PrP(Sc). *PLoS One*, **5**, e13152.

OKADA H., IWAMARU Y., IMAMURA M., MASUJIN K., MATSUURA Y., SHIMIZU Y., KASAI K., MOHRI S., YOKOYAMA T. & CZUB S. (2011). Experimental H-type bovine spongiform encephalopathy characterized by plaques and glial- and stellate-type prion protein deposits. *Vet. Res.,* **42**, 79. doi:10.1186/1297-9716-42-79

ORRU C.D., BONGIANNI M., TONOLI G., FERRARI S., HUGHSON A.G., GROVEMAN B.R., FIORINI M., POCCHIARI M., MONACO S., CAUGHEY B. & ZANUSSO G. (2014). A test for Creutzfeldt-Jakob disease using nasal brushings. *N. Engl. J. Med*., **371**, 519–529.

ORRU C.D., WILHAM J.M., VASCELLARI S., HUGHSON A.G. & CAUGHEY B. (2012). New generation QuIC assays for prion seeding activity. *Prion*, **6**, 147–152. doi: 10.4161/pri.19430.

PRINCE M.J., BAILEY J.A., BARROWMAN P.R., BISHOP K.J., CAMPBELL G.R. & WOOD J.M. (2003). Bovine spongiform encephalopathy. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.,* **22**, 37–60 (English); 61–82 (French); 83–102 (Spanish).

SCHALLER O., FATZER R., STACK M., CLARK J., COOLEY W., BIFFIGER K., EGLI S., DOHERR M., VANDEVELDE M., HEIM D., OESCH B. & MOSER M. (1999). Validation of a Western immunoblotting procedure for bovine PrPSc detection and its use as a rapid surveillance method for the diagnosis of bovine spongiform encepahlopathy (BSE). *Acta Neuropathol.* (*Berl.*), **98**, 437–443.

STACK M.J. (2004). Western immunoblotting techniques for the study of transmissible spongiform encephalopathies *In:* Techniques in Prion Research, Lehmann S. & Grassi J., eds. Birkhauser, Basel, Switzerland. ISBN 3-7643-2415-5

SIMMONS M.M., HARRIS P., JEFFREY M., MEEK S.C., BLAMIRE I.W.H. & WELLS G.A.H. (1996). BSE in Great Britain: consistency of the neurohistopathological findings in two random annual samples of clinically suspect cases. *Vet. Rec.*, **138**, 175– 177.

WELLS G.A.H. & WILESMITH J.W. (1995). The neuropathology and epidemiology of bovine spongiform encephalopathy. *Brain Pathol*., **5**, 91–103.

WILESMITH J.W., HOINVILLE L.J., RYAN J.B.M. & SAYERS A.R. (1992). Bovine spongiform encephalopathy: aspects of the clinical picture and analyses of possible changes 1986–1990. *Vet. Rec.,* **130**, 197–201.

*

* *

ЖИЧ: Үхрийн тархи сархиатах өвчнийг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори бий (ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас мэдээлэл авна уу: https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

Үхрийн тархи сархиатах өвчнийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудтай холбогдож авна уу.

ЖИЧ: 1991 ОНД АНХ, 2021 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

БҮЛЭГ 25 (3.4.7)

ҮХРИЙН ВИРУСТ ДИАРЕЙ

А. УДИРТГАЛ

1. Өвчний хор уршиг

Үхрийн вируст диарей өвчний вирус (ҮВДӨВ)-т бүх насны үхэр мэдрэмтгий. Сүүлийн үед зарим улс энэ өвчний вирусийг утгасан хэдий ч уг вирус дэлхий даяар тархалттай хэвээр байна. ҮВДӨВ-ийн халдвар эмнэл зүйн маш олон янзын шинж тэмдгээр, тухайлбал ашиг шимийн аль ч ангиллын үхэрт гэдэс дотрын болон амьсгалын замын өвчин эсхүл халдвар авсан мэдрэмтгий үүлдрийн үнээнд үржлийн эрхтний болон хээл тээлттэй холбоотой ургийн өвчин эмгэгээр илэрнэ. Халдварын дараа өвчний шинж тэмдэг илрэхгүй байх, эсхүл үхэлд хүргэж болох хүнд хэлбэрээр ч өвчилнө. Вирусийн омгоос хамаарч өвчний эмнэл зүйн илрэл, явц, хүндрэл янз бүр байна. ҮВДӨВ дархлаа дарангуйлдаг учраас нэгэнт халдвар авсан амьтан бусад халдварт илүү мэдрэмтгий болно. Эрчимжүүлсэн үхрийн аж ахуйд эмнэл зүйн шинж үзүүлэн өвчлөх нь илүү тод илэрдэг. Хээл тээлтийн эхний гурван сард *in-utero* халдвар авсан мал бараг бүгд орогномол халдвартай үлдэнэ. Ийм халдвартай мал тухайн популяцийн дотор вирус тараах гол эх үүсвэр болж шээс, баас, биеийн шүүрэл, сүү, үрийн шингэнээрээ маш их хэмжээний вирус ялгаруулна. Вирус голдуу орогномол халдвартай үхрээс ойр хавьталд байгаа бусад үхэрт тарна. Цочмог хэлбэрийн халдвартай амьтнаас гадагшлах вирус чухамдаа төдийлөн хор холбогдолгүй. Вирус орчин тойрондоо богино хугацаагаар орогнох эсхүл үржүүлэгт ашигласан бохир материалаар дамжин халдварлаж болзошгүй байдаг. Вирус босоо чиглэлээр дамжин халдварлах нь өвчний эпидемиологи, эмгэг жамд чухал үүрэг гүйцэтгэнэ.

Үржилд ашиглах үнээ халдвар авахад хээл авалт нь буурах ба вирус хөврөл болон хээлд халдварласны улмаас хээл хаях, зулбах, төрөлхийн гажигтай эсхүл орогномол халдвартай тугал төрөхөд хүргэнэ. Вирусийн орогномол халдвартай үнээ сул дорой, амьдрах чадваргүй тугал төрүүлэх эсхүл гарсан тугал нь эрүүл мэт харагдавч эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлэхгүй удаан хугацаагаар өвчилж болзошгүй. Гэвч орогномол халдвартай мал төдийлөн удаан амьдрахгүй, бие гүйцэхээсээ өмнө ихэнх хэсэг нь үхэж хорогдоно. Хаяа эдгээр малын зарим нь нэлээд хугацааны дараа салстын өвчнөөр өвчилж тэжээл усандаа дургүй болох, ходоод гэдэс нь шархлах, зогсолтгүй чацга алдах шинж тэмдэг үзүүлсээр үхнэ. Зөвхөн орогномол халдвартай малд л салстын өвчин тохиолдоно. Цусанд нь вирус үржсэн малыг худалдан борлуулахгүй байх нь чухал. Ерөнхийдөө ийлдэс судлалын шинжилгээгээр эерэг дүн үзүүлсэн боловч цусанд нь вирус байхгүй үхрийг хэрэв хээлтэй л бус бол “аюулгүй” гэж үздэг. Гэвч цусандаа вирустэй, орогномол халдвартай мал орогномол халдварын вирусээс эсрэгтөрөгчийн хувьд өөр ҮВДӨВ-ийн омогт өртсөн бол тэдгээрийн багаахан хувьд нь вирусийн зарим уургийн эсрэгбие үүсэж болзошгүй. Ийм учраас ийлдэс нь эерэг урвалтай тухайн малыг бүрэн “аюулгүй” гэж үзэж болохгүй. Орогномол халдвартай малыг илрүүлэхийн тулд вирус эсхүл вирусийн бүрэлдэхүүн хэсгийг (РНХ болон бусад) илрүүлэхэд чиглэх ёстой. Цочмог халдвар арилсны дараа нууц халдвар бараг тохиолдохгүй. Гэвч цочмог халдвартай байхад нь бухаас авсан үрийн шингэн нь цусанд вирус байх үед бас түүний дараа богино хугацаанд вирус агуулж байсан байх магадлалтай. Хэдийгээр үнэхээр ховор ч гэсэн эдгэрсэн зарим бух төмсөгтөө удаан хугацаанд орогномол халдвартай байж тодорхойгүй хугацаанд үрийн шингэнээрээ вирус гадагшлуулна (Read нар, 2020).

ҮВДӨВ-ийн омог дийлэнхдээ үхэрт эмгэг төрүүлэх боловч хонь, ямаа, гахайтай ойр хавьталд байсны улмаас амьтны зүйл хооронд халдвар дамжих нь тохиолдоно. ҮВДӨВ-ийн халдвартай хээлтэй бог мал болон гахайд үржих чадвар нь алдагдах, орогномол халдвартай төл гаргах нь тохиолдоно. ҮВДӨВ-ийн халдвар тэмээний шинэ болон хуучин овгийн амьтан аль алинд бүртгэгджээ. Үүнээс гадна хилийн өвчний үүсгэгч вирусийн омог үхэрт халдварлаж ҮВДӨВ-ийн халдварын үеийнх шиг эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлж байжээ. Хилийн өвчний вирусийн орогномол халдвартай төрсөн тугал хожмоо мөн салстын өвчнөөр өвчилсөн талаар мэдээлжээ. ҮВДӨВ болон хилийн өвчний вирус гахайд байгалийн халдвар үүсгэдэг байхад гахайн сонгомол мялзан өвчний вирус хивэгч малд байгалийн халдвар үүсгэдэггүй.

Хэдийгээр ҮВДӨ хаа сайгүй тархсан боловч түүнтэй сургийн түвшинд, тэр бүү хэл тухайн улсын хэмжээнд тэмцэж болдгийг энэ өвчнийг устгах чиглэлээр Европын олон улс оронд гаргасан дэвшил харуулж байна (Moennig нар, 2005; Schweizer нар, 2021).

2. Үүсгэгч

Үхрийн диарей өвчний вирус (ҮВДӨВ) нь *Flaviviridae* овгийн *Pestivirus* төрөлд хамаарах шугаман бүтэцтэй, эерэг утгат, дан утаслаг РНХ агуулна. *Pestivirus* төрөлд *Pestivirus bovis* (ҮВДӨВ хэвшил 1), *Pestivirus tauri* (ҮВДӨВ хэвшил 2), *Pestivirus brazilense* (ҮВДӨВ хэвшил 3) болон ойр хамааралтай гахайн сонгомол мялзан өвчний вирус (*Pestivirus suis*), хонины хилийн өвчний вирус (*Pestivirus ovis*) гэх мэт хэд хэдэн зүйл багтана (Postler нар, 2023). Пестивирусийн төрлийн эдгээр вирусийн зүйл өөр хоорондоо эсрэгтөрөгчөөрөө багагүй ялгаатайгаас гадна *P. bovis* болон *P. tauri* зүйлийн ҮВДӨВ-ийн өсгөвөр дотроо биологийн болон эсрэгтөрөгчийн хувьд нэлээд олон янз болох нь илэрчээ. *Pestivirus bovis* болон *P. tauri* зүйлүүд цаашдаа дэд зүйлд хуваагдах нь генетикийн шинжилгээгээр тодорхой болжээ (Vilcek нар, 2001). Энэ хоёр зүйлийг өөр хооронд нь болон бусад пестивирусээс вирусийн голлох гликопротейн болох E2 болон E_{RNS}-ийг таньж холбогддог ижил гарлын эсрэгбие (ИГЭб)-ээр эсхүл генетикийн шинжилгээгээр ялгаварлаж болно. Урвуу транскрипцэт полимеразагийн гинжин урвал (УТ-ПГУ)-аар цусны дээж шинжилж вирусийн хэвшлийг шууд тогтоож болно (Letellier & Kerkhofs, 2003; McGoldrick нар, 1999). Хойд Америкт *P. tauri* (2-р хэвшлийн омгууд)-ийн тархалт өндөр байж болох ч ерөнхийдөө *Pestivirus bovis* (1-р хэвшлийн вирус) илүү түгээмэл тохиолдоно. *P. bovis* болон *P. tauri* зүйлийн ҮВДӨВ нь эс эмгэгшүүлдэггүй болон эс эмгэгшүүлдэг (биохэвшлүүд) хэлбэрээр тохиолдох ба ингэж ангилахдаа эсийн өсгөвөрт халдварлуулсан хугацаанд эсийг микроскопоор тод харагдахаар эмгэгшүүлж байгаа эсэхийг харгалзана. Ихэвчлэн эс эмгэгшүүлдэггүй биохэвшил нь үхрийн популяцид чөлөөтэй эргэлдэнэ. Үхэрт эс эмгэгшүүлдэггүй омгууд өвчин үүсгэх нь хамгийн элбэг бөгөөд эдгээр омог нь ямар ч нас, хүйсийн үхэрт гэдэс дотрын болон амьсгалын замын өвчин эсхүл халдвар авсан мэдрэмтгий хээлтэгч үнээнд үржлийн эрхтний болон хээл тээлтийн үеийн өвчин эмгэг үүсгэнэ. Халдварын үед шинж тэмдэг илрэхгүй байхаас эхлээд үхэлд хүргэж болох хүнд хэлбэрээр хүртэл өвчилнө (Brownlie, 1985). Эс эмгэгшүүлдэг вирус нь эмнэл зүйн хам шинж харьцангуй ховор илэрдэг салстын өвчний үед тохиолдох ба эс үл эмгэгшүүлэгч вирусийн орогномол халдвартай амьтанд тэрхүү халдвартай ойр хамаарал бүхий эс эмгэгшүүлдэг омгоор үүссэн давхар халдвар юм. Салстын өвчний тохиолдолд илэрдэг вирусийн хоёр биохэвшил нь ихэвчлэн эсрэгтөрөгчийн хувьд яг ижилхэн биш ч гэсэн ойр хамааралтай байдаг. *Pestivirus tauri* (2-р хэвшлийн вирус) ихэнхдээ эс эмгэгшүүлдэггүй бөгөөд цочмог хүнд явцтай халдварын дэгдэлт болон цусархаг халдварын хам шинж бүхий халдвартай холбоотой байдаг. Гэсэн хэдий ч зарим *P. tauri* (2-р хэвшлийн вирус) нь илүү элбэг тохиолддог *P. bovis* (1-р хэвшлийн вирус)-ээр үүссэнтэй ялгагдахааргүй ижил өвчин үүсгэдэг. Бас зарим *P. bovis* (1-р хэвшлийн вирус) бие гүйцсэн үхэрт онцгой хүнд хэлбэрээр гарсан үхэл хорогдол ихтэй өвчний дэгдэлттэй холбоотой байдаг. Энэ өвчний аль нэг зүйлийн вирусийн халдвар авсан сувай малд илрэх эмнэл зүйн шинж бүдэг, үл мэдэгдэм байх нь нийтлэг.

Pestivirus brazilense омгоор үхэр эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлэн өвчлөх ба харин тархалт нь Өмнөд Америк, Ази тивийн үхрийн популяциас хэтэрдэггүй байна. Эдгээр вирусийг бүгдийг нь илрүүлж чаддаг нь баталгаажсан бодит цагийн УТ-ПГУ гэх мэт зарим аргаар тэднийг хялбархан илрүүлнэ. Эсрэгтөрөгч илрүүлэх, худалдаанд гарсан зарим ЕЛИЗА (энзим холбоост дархлааны урвал) тэдгээр омгийг илрүүлдэг нь тогтоогдсон ба (Bauermann нар, 2012) ерөнхийдөө *Pestivirus bovis* (ҮВДӨВ-ийн 1-р хэвшил) болон *Pestivirus tauri* (ҮВДӨВ-ийн 2-р хэвшил)-д хэрэглэдэгтэй адилхан зарчмыг вирус ялган авах гэх мэт бусад аргад баримтална. Гэвч эсрэгбие илрүүлэх ЕЛИЗА оношлуурууд *Pestivirus brazilense* (ҮВДӨВ-ийн 3-р хэвшил)-ийн эсрэгбие илрүүлэхдээ янз бүр байдаг бөгөөд ҮВДӨВ-ийн 1 ба 2-р хэвшлийн халдвараас хамгаалахад зориулан бүтээсэн вакцин нь эдгээр пестивирусийн халдвараас бүрэн хамгаалж чаддаггүй байж магадгүй болохыг тэмдэглэвэл зохино (Bauermann нар, 2012*;* 2013).

3. Эмгэг жам

3.1. Цочмог явцтай халдвар

Залуу мал ҮВДӨВ-ийн цочмог халдварт өртөх нь элбэг бөгөөд эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлэхгүй байх эсхүл халуурах, чацга алдах (Baker 1995) шинж тэмдэг үзүүлэн амьсгалын замын өвчнөөр өвчилж заримдаа гэнэт үхэж болзошгүй. Өвчин хэр зэрэг хүндрэх нь үүсгэгч вирусийн омгийн шинж чанар болон өөр эмгэг төрүүлэгч хавсарсан эсэхээс хамаарна (Brownlie, 1990). Ялангуяа цусархаг хэлбэрийн гэмтэл болон ялтас эсийн цөөрлөөр цочмог явцтай илэрч олноороо үхэж хорогдоход хүргэдэг хүнд хэлбэрээр уг өвчин хааяа дэгддэгийг зарим улс мэдээлжээ (Baker, 1995; Bolin & Ridpath, 1992). Мөн ялангуяа 2-р хэвшлийн вирусийн (*Pestivirus tauri*) халдвар ялтас эсийн үйл ажиллагааг алдагдуулдаг болох нь нотлогдсон байна. Цочмог халдварын үед вирус 7-10 хоногт цусаар түргэн тархаж хамар,

нүдний шүүрлээр гадагшилдаг үед нь вирусийг илрүүлж болдог байна. Мөн цусны цагаан эс болон ялтас эс түр зуур цөөрөх эсхүл биеийн температур өөрчлөгдөх боловч эдгээр нь амьтан бүрд харилцан адилгүй байдаг. Халдвар авсан амьтан бас бусад вирус, бактерийн хоёрдогч халдварт өртөх хандлагатай болно. ҮВДӨВ-ийн нөлөөгөөр амьсгалын зам эхэлж гэмтдэг боловч түүнийг дархлаа дарангуйлах вирусийн нөлөө улам хүндрүүлнэ. Үхэр бордох болон тугал бойжуулах гэх мэт эрчимжүүлсэн аж ахуйд ҮВДӨВ нь үхрийн амьсгалын замын төрөл бүрийн өвчин үүсгэдэг гол эмгэг төрүүлэгчийн нэг юм.

Ороо орохын өмнөхөн болон хэвлүүлгийн дараах эхний хэдэн хоногт халдвар авсан үнээ хээл авахгүй байх, авсан хээл нь эрт цуцрах нь бий (McGowan & Kirkland, 1995). Түүнчлэн өндгөн эсийн үйл ажиллагаа, гонадотропин, прогестроны нийлэгжилт хямарснаас үнээ үргүйдэж бас болзошгүй. Халдвартай байх үед болон халдварын дараахан бух үрийн шингэндээ вирус агуулах ба түүний хэвлүүлэх чадвар түр зуур буурч болох юм. Хэдийгээр үрийн шингэнд агуулагдах вирус ерөнхийдөө цөөн байдаг ч хээл тогтоолт буурах, өмнө нь халдваргүй байсан сүрэгт вирус нэвтрэн тархах эх үүсвэр болох боломжтой (McGowan & Kirkland, 1995).

3.2. Хээлийн халдвар

Хээлтэгч мал халдвар авахад хээл тээлтийн аль үед халдварт өртсөнөөс хамааран янз бүрийн үр дагавар гарна. Хөгжих явцад нь халдвар орсон хөврөл хээл тээгээд бараг 25 хоноогүй байхад ихэвчлэн цуцрах бол нэлээд хугацаа өнгөрсөн тохиолдолд зулбана (McGowan & Kirkland, 1995). Амьд үлдсэн хээл хэвийн, бас халдвар аваагүй байдаг. Гэвч хээл тээлтийн 30–90 орчим хоногт халдвар авсан эхийн хээл зайлшгүй халдвар авсан байдаг ба харин амьд төрсөн бүх үр төл нь орогномол халдвартай, гэхдээ ийлдсийн сөрөг урвалтай байдаг. Хээл тээлтийн хожуу үед буюу 150 орчим хоногт авсан халдварын улмаас төлийн тархины усжилт, бага тархины хатанхайрал, харааны гажиг, үений байнгын нугарал, арьс халцгайрах гэх мэт араг ясны төрөлхийн гажиг үүснэ. Өнчин тархины үйл ажиллагааны хямралаас шалтгаалан өсөлт хөгжилт саатаж болзошгүй. Хээл халдвар авах нь хээл хаялт, амьгүй төл зулбах, эсхүл амьдрах чадваргүй төл гаргах шалтгаан болно (Baker, 1995; Brownlie, 1990; Duffell & Harkness, 1985; Moennig & Liess, 1995). Орогномол халдвартай тугал төрөхдөө эрүүл мэт харагдавч өсөлт хөгжилт нь саатна. Тэд насаараа орогномол халдвартай байх ба нялхдаа эсрэгбие агуулсан уураг сүүгээр тэжээснээс бусад нь ийлдсийн сөрөг урвалтай байна. Үнээний хээлийн хөгжлийн 90–120 хоногт хээлийн дархлааны хариу урвал илэрч эхлэх болон эсрэгбие үүсэх ба энэ үед халдвартай, шинжилгээгээр мэдрэгдэж илрэх хэмжээний эсрэгбие агуулсан хээлийн эзлэх хувь хэмжээ нэмэгдэж харин вирус илэрч болох хээлийн хувь хэмжээ түргэн буурна. Үнээний хээлийн хөгжлийн 180 хоногоос хойш халдвар авсан бол ихэвчлэн ийлдсийн сөрөг урвалтай хэвийн тугал төрнө.

3.3. Орогномол халдвар

Вирусийн орогномол халдвартай мал бусад үхэрт вирус халдварлуулах байнгын эх үүсвэр болох ба тухайн популяци дахь ҮВДӨВ-ийн гол голомт болно. ҮВДӨ-тэй тэмцэх хатуу чанга арга хэмжээ авч хэрэгжүүлэхгүй бол нийт үхрийн 1–2% орчим нь орогномол халдвартай болно. Өмнө нь халдварт өртөөгүй, вакцинжуулаагүй сүрэг эсхүл үржүүлгийн бүлгийн үнээний хээл тээлтийн эхний гурван сарын хугацаанд авсан халдварын улмаас өвчин дэгдвэл амьд төрсөн тугалын дийлэнх хувь нь орогномол халдвартай болно. Орогномол халдвартай амьтан үхвэл ҮВДӨВ-ийн улмаас үүссэн гэмээр өвөрмөц хувирал илрэхгүй бөгөөд голдуу хоёрдогч бусад халдварын хүндрэлийн эмгэг өөрчлөлттэй байна. Орогномол халдвартай зарим мал үржүүлгийн насны бойжилттой болтлоо амьдарч үр төлөө өгөх боловч ийм үнээнээс төрсөн тугал ямагт орогномол халдвартай байна. Зохиомол хээлтүүлэгт ашиглуулахаар худалдах эсхүл ашиглаж байгаа малыг юуны өмнө илрүүлэх шинжилгээнд хамруулж орогномол халдваргүй болохыг нь баталгаатай болгоно.

3.4. Салстын өвчин

Вирусийн орогномол халдвартай мал хожим нь салстын өвчнөөр өвчилж болзошгүй (Brownlie, 1985). Гэхдээ ийм тохиолдол ховор. Энэ хам шинж нь тухайн амьтан өөр үүсгэгчээр давхар халдварлах, эс эмгэгшүүлдэггүй биохэвшлийн хоорондын рекомбинац, эсхүл орогномол халдвар үүсгэгч биохэвшлийн мутацын аль нэгний үр дүнд үүссэн эсрэгтөрөгчийн хувьд төстэй, эс эмгэгшүүлдэг вирусийн орогномол халдвар авсны үр дагавар юм (Brownlie, 1990). Шинжлэх ухааны үүднээс ихээхэн сонирхолтой ч практик ач холбогдол бага учраас ҮВДӨВ-ийн орогномол халдвартай амьтнаас өөр орогномол халдвартай бусад амьтан салстын өвчнөөр өвчилсөн эсэхийг зориуд баталгаажуулах

хэрэгцээ үндсэндээ бага юм. Гэвч салстын өвчин тохиолдох нь тухайн сүрэгт ҮВДӨВ-ийн халдвар байгаагийн эхний шинж байж болох учраас судалгаа шинжилгээ, тэмцэх арга хэмжээг илүү гүнзгийрүүлэх хэрэгтэй.

3.5. Үрийн шингэн ба хөврөл

Орогномол халдвартай бухын үрийн шингэн ихэнхдээ чанар муутай, халдварлах чанар өндөр, үр тогтоох чадвар нь буурсан байдаг (McGowan & Kirkland, 1995). Дур зоргын эсхүл зохиомол хээлтүүлэгт ашиглах бүх бухад ҮВДӨВ-ийн цочмог болон орогномол халдвар аль аль нь байгаа эсэхийг шалгасан байх хэрэгтэй. Ховор тохиолдолд, үржлийн нас хүртэл бойжуулах хугацаанд авсан байж болзошгүй цочмог явцтай халдварын улмаас төмсөгт нь халдвар орогносон, ийлдсийн илт эерэг урвалтай бух вирусийг үрийн шингэнээрээ үе үе ялгаруулна (Voges нар, 1998). Ийм үзэгдэл сулруулсан амьд вируст вакцин хэрэглэсний дараа мөн ажиглагдана (Givens нар, 2007). ҮВДӨВ-ийн орогномол халдвартай, хөврөлийн донор үнээний ялангуяа сав, үтрээний шингэнд ҮВДӨВ үлэмж ихээр агуулагдах учир халдварын бодит эх үүсвэр болно. Өндгөн эсийн ихэнх нь ҮВДӨВ-ийн халдваргүй байдаг атал тунгалаг бүрхүүлийнх нь бүтэн байдал алдагдсан өндгөн эс *in vitro* халдварт мэдрэмтгий болох нь тогтоогджээ. Хөврөлийг маш сайн угаасан болон *in-vitro* үр тогтоосон нөхцөлд орогномол халдвараас “хамгаалагдаж” халдварт өртөөгүй эрүүл төл гарна. Тээгч үнээг эхэлж ашиглахаас наад зах нь 4 долоо хоногийн өмнө орогномол халдваргүй болохыг, мөн ийлдсийн эерэг урвалгүй эсхүл вакцинжуулж байсан эсэхийг ямагт шалган баталгаажуулсан байна.

In-vitro үр тогтоох аргад ашиглах биологийн материал (үхрийн ийлдэс, үхрийн эсийн өсгөвөр) бохирдол агуулсан байх өндөр эрсдэлтэй учраас тэдгээрт ҮВДӨВ агуулж байгаа эсэхийг шалгаж үзнэ. Ийм аргаар үр тогтооход вирусээр илт бохирдсон тохиолдол гарсан нь уг аргын эрсдэлийг тодорхой харуулж байна. Тэжээлт орчинд хэрэглэх ийлдсийн нэмэлт нь энэ гарын авлагын 1.1.9. *Мал эмнэлэгт хэрэглэх биологийн материалын ариун чанар, бохирдол агуулаагүй болохыг шалгах шинжилгээ* бүлэгт дэлгэрэнгүй өгүүлсэн бохирдол агуулаагүй болохыг энэ бүлгийн Б.1.1-д тодорхойлсон аргаар тогтоох нь чухал ач холбогдолтой гэж үздэг.

4. Оношлох болон сорьц цуглуулах арга ажиллагаа

Халдвар авснаас хойш удаж байж эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрдэг учраас ҮВДӨВ-ийн халдварыг оношлоход заримдаа төвөгтэй байдаг. Орогномол халдвартай малыг орчин үеийн оношилгооны арга ашиглан хялбархан илрүүлж болдог бол цочмог явцтай халдварыг илрүүлэх болон ҮВДӨВ-ийг үржүүлгийн материалд илрүүлэх нь илүү хэцүү юм.

4.1. Цочмог явцтай халдвар

Орогномол халдвараас ялгаатай нь цочмог халдвартай мал харьцангуй цөөн тооны вирусийг богино хугацаанд (ихэвчлэн 7–10 хоног орчим) ялгаруулах ба вирус цусанд нь үржиж дуусах шатанд эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрдэг учраас вирус илрүүлэх боломжит хугацаа бүр ч богиносдог. Амьсгалын эсхүл гэдэс дотрын өвчин тохиолдоход халдварт өртсөн хэд хэдэн малаас сорьц авах, ингэхдээ аль болохоор хамгийн сүүлд өвчилсөн малаас авах хэрэгтэй. Амьсгалын эрхтний өвчтэй малын хоншоор, нүдний салст бүрхүүлээс, гэдэс дотрын өвчтэй малын шулуун гэдэс болон бааснаас арчдас авна. Үхсэн малаас уушги, дэлүү авахыг чухалчилна. Халдварлах чанаргүй вирусийн геномыг илрүүлэх боломжтой, мэдрэх чанар өндөр бодит цагийн УТ-ПГУ-аар вирусийн РНХ-ийг илрүүлж болно. Вирусийн тоо маш цөөн байдаг учраас хэрэв илэрсэн ҮВДӨВ-ийн шинж чанарыг судлах шаардлагагүй л бол вирус ялган авах аргыг хэрэглэх нь практикийн хувьд тохиромжгүй юм. Өвчний цочмог үед болон өвчлөөд эдгэрэх үед авсан (цочмог халдварын үед сорьц авснаас хойш наад зах нь 21 хоногийн дараа 8–10 малаас авсан) хос ийлдсийг ийлдэс судлалын аргаар шинжлэх нь илүү ач холбогдолтой бөгөөд халдварыг өндөр магадлалтайгаар илрүүлэх эсхүл үгүйсгэх боломжтой болно.

Хээл халдвар анх авснаасаа хойш удаан хугацааны дараа цуцрах эсхүл зулбах учир ҮВДӨВ-ээс шалтгаалсан хээл хаялт, зулбалт эсхүл хээл цуцралтыг баталгаатай тогтооход ихэнхдээ хэцүү байдаг. Сорьц авахдаа вирусийн бүрэлдэхүүн хэсгийг аль эсхүл эсрэгбиеийн алийг нь илрүүлэх шаардлагатайг харгалзана. Дэлүү болон уушги нь вирус илрүүлэхэд, харин үнхэлцгийн эсхүл хэвлийн хөндийн шингэн ийлдэс судлалын шинжилгээнд сайн тохирно. Дөнгөж төрсөн тугалын ходоодыг шалгаж элдэв юм хөхсөн эсэхийг тогтооно. Зарим тохиолдолд хээлийн эдээс вирус ялгаж болдог ч гэсэн вирусийн

эсрэгтөрөгчийг ЕЛИЗА эсхүл РНХ илрүүлдэг бодит цагийн УТ-ПГУ-аар илрүүлэхэд илүүтэй анхаарах хэрэгтэй. Чанар муу болон бактерийн бохирдолтой дээж вирус саармагжуулах урвалаар эсрэгбие илрүүлэх боломжийг дордуулдаг хэдий ч ЕЛИЗА болон вирус саармагжуулах урвал ВСУ хоёул ийлдэс судлалд хэрэглэхэд тохиромжтой. Хээлтэй үнээнд, ялангуяа үнээгээ бүлэглээд тухайн бүлэг сүүлийн үед халдварт өртөж байсан эсэхийг илрүүлэх зорилгоор ийлдэс судлалын шинжилгээ хийх нь ач холбогдлоо өгнө. Эхийн ийлдсэнд ҮВДӨВ-ийн эсрэгбиеийн таньц өндөр (>1/1000) байвал хээл нь халдвартай болохыг, бас эргээд эх нь хээлийнхээ вирусийн халдварт удаан хугацаагаар өртөж байх магадлалтайг харуулна.

4.2. Орогномол халдвар

Орогномол халдвартай малыг ялган танихдаа үндсэндээ эсийн өсгөвөрт вирус ялган авах аргыг өмнө нь ашиглаж ирэв. Гэвч мэдрэх чанарын хувьд аль аль нь харьцангуй өндөр, эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА болон бодит цагийн УТ-ПГУ-ыг амьд болон үхсэн аль ч амьтанд вирусийн эсрэгтөрөгч эсхүл РНХ илрүүлэхэд өргөн ашиглаж байна. Эс эмгэгшүүлдэггүй ҮВДӨВ-ийг цусанд илрүүлэх зорилгоор вирус ялган авах аргыг бас хэрэглэдэг бөгөөд зарим улсад иммунгистохимийн (ИГХ) аргаар вирусийг ялган тогтоож байна. Үхсэн малаас төрөл бүрийн эдийн сорьц авч шинжилгээнд хэрэглэж болдог бол амьд малаас арьсны сорьц авч шинжилнэ. Вирус ялган авах болон ИГХ арга хоёул хөдөлмөр зарцуулалт болон зардал ихтэй, хэрэгжүүлэхэд төвөгтэй арга юм. 4-5 сарын бойжилттой тугалын цусанд эхийн ҮВДӨВ-ийн эсрэгбие агуулагдаж байвал цуснаас вирус ялган авахад садаа болно (оношилгооны бэрхшээл). Түүнчлэн хэрэв шинжлэх тугалд ҮВДӨВ-ийн эсрэгбие агуулсан уураг сүү уулгасан бол түүний цус эсхүл цусны цагаан эсэд эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА болон эс ялган авч тоолох арга хэрэглэхэд шинжилгээний найдвартай байдал алдагдана. Цусанд нь вирус үржсэн орогномол халдвартай хөгшин малд эсрэгтөрөгчийн шинж чанараараа орогномол вирусийнхээс өөр ҮВДӨВ-ийн омгийн эсрэгбие (вакцины омог орно) үүссэнээс ийлдсийн урвал нь өөрчлөгдөх боломжтой учраас орогномол халдварын эсрэгбиеийн хэмжээ нь бага байж болох юм (Brownlie, 1990). Саалийн сүрэгт орогномол халдвартай үнээ байгаа эсэхийг хянаж байх шинжилгээнд бөөний (том савны/танкны) эсхүл үнээ тус бүрийн сүүний аль ч сорьцыг хэрэглэдэг. Эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА, бодит цагийн УТ-ПГУ, вирус ялган авах аргуудын алиныг ч ашиглаж болно. Орогномол халдварын оношийг баталгаажуулахын тулд цусны дээжийг наад зах нь 3 долоо хоногийн зайтайгаар дахин шинжилж вирус байгаа эсэх болон ийлдсийн өмнөх урвал өөрчлөгдөн хувирсан эсэхийг тогтооно. Өвчний цочмог явцтай зарим тохиолдолд арьсанд вирусийн эсрэгтөрөгч олон долоо хоног орогнож болох нь тогтоогдсон учраас арьсны дээжид давтан шинжилгээ хийхдээ үүнийг харгалзвал зохино (Cornish нар, 2005).

4.3. Салстын өвчин

Хэдийгээр тогтмолжсон оношилгоонд хэрэглэдэггүй ч салстын өвчний оношийг баталгаажуулах зорилгоор эс эмгэгшүүлдэг вирусийг ялган авах хэрэгтэй. Энэ биохэвшлийг цуснаас заримдаа ялган авдаг ч бусад эд, ялангуяа дэлүү, гэдэс, Пейрийн товгорын эдээс илүү найдвартай ялган авч болно. Цуглуулахад хялбараас гадна эсийн өсгөвөрт бараг халгүй байдаг дэлүүнээс вирусийг амархан ялган авч болно.

4.4. Үржүүлгийн материал

Үрийн донор бух ҮВДӨВ-ийн халдваргүй болохыг үр авахын өмнө тогтоож байх шинжилгээнд *Газрын амьтны эрүүл мэндийн кодекс*-ийн дагуу сорьц авна. Бух орогномол халдваргүй, цочмог халдварт өртөөгүй болохыг баталгаажуулах, ийлдэс судлалын үзүүлэлтийг тогтоосон байх шаардлагатай. Эхний эдгээр шинжилгээг бүхэл цус эсхүл ийлдэсний дээжид хийнэ. Ийлдсийн эерэг урвалтай бух төмсгийн орогномол халдваргүй болохыг тогтоохын тулд ялангуяа уг халдварын эхэн үед ялгарах вирусийн тоо үе үе багасаж болох учраас үрийн шингэнийг 7 хоногоос багагүй зайтай наад зах нь гурван удаа цуглуулж авна. Мөн түүнчлэн үр авах бүрдээ хэд хэдэн гуурс үр эсхүл шаардагдах хэмжээний шинэ үрийн шингэн илгээнэ. Сорьц тээвэрлэх зөвлөмжийг баримтлах болон уг сорьц лабораторид ирэх үеийн байдлыг лабораторид баримтжуулахад онцгой анхаарах хэрэгтэй. Сорьц цуглуулах, тээвэрлэх, шинжилгээ хийх дэлгэрэнгүй мэдээллийг доорх хэсгүүдэд оруулав.

Б.ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Үхрийн вируст диарей өвчнийг оношлох шинжилгээний арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүйг тогтоох[а]	Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох[б]	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх[в]	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах[г]	Халдварын тархалт тогтоох – Тандалт[д]	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох[е]
Үүсгэгчийг ялган тогтоох[ё]						
Вирус ялган авах	+	++	++	++	–	–
ЕЛИЗА аргаар эсрэгтөрөгч илрүүлэх	+++	+++	+++	+++	+++	–
ИГХ аргаар эсрэгтөрөгч илрүүлэх	–	–	–	+++	–	–
Бодит цагийн УТ-ПГУ-аар НХ илрүүлэх	+++	+++	+++	+++	+++	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ЕЛИЗА аргаар эсрэгбие илрүүлэх	+++	++	+++	+[ё]	+++	+++
ВСУ	+	++	++	–	+	+++

Түлхүүр үг:
+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
++ = энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй;
ЕЛИЗА = энзим холбоост дархлааны урвал;
ИГХ= иммунгистохимийн арга;
НХ= нуклейн хүчил;
УТ-ПГУ = урвуу транскрипцт полимеразагийн гинжин урвал;
ВСУ = вирус саармагжуулах урвал

[а] Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээнд өгсөн онооны үндэслэлийн хүснэгтийг энэ бүлгийн 1-р хавсралтаас үзэх
[б] Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээнд өгсөн онооны үндэслэлийн хүснэгтийг энэ бүлгийн 2-р хавсралтаас үзэх
[в] Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээнд өгсөн онооны үндэслэлийн хүснэгтийг энэ бүлгийн 3-р хавсралтаас үзэх
[г] Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээнд өгсөн онооны үндэслэлийн хүснэгтийг энэ бүлгийн 4-р хавсралтаас үзэх
[д] Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээнд өгсөн онооны үндэслэлийн хүснэгтийг энэ бүлгийн 5-р хавсралтаас үзэх
[е] Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээнд өгсөн онооны үндэслэлийн хүснэгтийг энэ бүлгийн 6-р хавсралтаас үзэх
[ё] Үүсгэгч илрүүлэх төрөл бүрийн шинжилгээг эмнэл зүйн нэг ижил сорьцод хийх нь зүйтэй.

1. Үүсгэгчийг илрүүлэх

ҮВДӨВ-ээр халдварласан мал, тэдгээрийн гаралтай материалыг (ялангуяа үрийн шингэн, хөврөл) тээвэрлэхээс өмнө тээвэрлэх мал эсхүл үрийн донорын цусанд халдвартай вирус (вирус ялган авах), вирусийн эсрэгтөрөгч (эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА-аар) эсхүл РНХ (бодит цагийн УТ-ПГУ-аар) байгаа эсэхийг шалгах шаардлагатай. Харин нэг ялгаа нь дээрх шинжилгээг ийлдсийн сөрөг урвалтай бухад бус харин үрийн шингэнд хийх хэрэгтэй. Ийлдэс судлалын шинжилгээг сөрөг урвал үзүүлсэн мал цочмог халдваргүй болохыг эсхүл донор бухны ийлдсийн урвал ямар байгааг тогтооход тус тус хэрэглэнэ. Эдийн дээжийг шууд шинжилдэг иммунгистохими эсхүл нуклейн хүчлийн *in-situ* эрлийзжүүлгийн гэх мэт аргын мэдрэх чанар нь вирусийг урьдчилан олшруулаагүй л бол янз бүр байдгийн улмаас тэдгээрийг олон улсын худалдааны зорилгоор ҮВДӨВ байхгүй гэдгийг нотлох гэрчилгээ олгоход ашиглахад тохиромжгүй гэж үздэг. Үүний эсрэгээр дархлаа судлалын будалт хийх арга нь байгалийн халдварын ихэнхийг эзэлдэг эс эмгэгшүүлдэггүй ҮВДӨВ байгаа эсэхийг илрүүлэх эсийн өсгөвөрт вирус ялгах аргын чухал бүрэлдэхүүн хэсэг нь болж өгдөг.

Халдвар авсан болон аваагүй нь нэгэнт тогтоогдсон, дотор нь цусаар тархсан вирусийн таньц нь өндөр болон нам янз бүр үхэр орсон популяцийг шинжилж үзэх замаар шинжилгээний бүх аргыг өргөн

хүрээнд баталгаажуулсан байх ёстой. ҮВДӨ-ий вирусүүдийн доторх эсрэгтөрөгчийн болон генетикийн олон янз байдлыг өөр гарлын эсхүл ИГЭб ашигладаг арга (ЕЛИЗА эсхүл иммунгистохими), иммун тэмдэглэгээ хийх эсхүл нуклейн хүчлийг таних аргуудаар бүрэн хэмжээгээр илрүүлж чаддаг болохоо харуулсан байх хэрэгтэй. ДМАЭМБ-аас томилсон ҮВДӨВ-ийн лавлах лаборатори шаардагдах мэдээллээр хангах ба мөн гахайн сонгомол мялзан өвчний лавлах лаборатори ч зарим асуудлаар зөвлөнө.

1.1. Вирус ялгах

ҮВДӨВ-ийг өндөр түвшний стандартыг баримтлан гүйцэтгэвэл маш найдвартай ялган авна. ҮВДӨВ-т өвөрмөц эсрэгбие эсхүл вирус аль аль нь бага хэмжээтэй байхад ч нарийн мэдэрч илрүүлдэг байлгахын тулд эсийн өсгөвөр, тэжээлт орчны бүрэлдэхүүн хэсэгт маш нарийн шаардлага тавигддаг. Вирус ялгах арга нь зөвхөн халдварлах чадвартай вирусийг илрүүлэх боломжтой учраас дээжийн чанарт илүү нарийн шаардлага тавьдаг. Үүнээс гадна цөөхөн вирус агуулж болзошгүй дээж, ялангуяа үрийн шингэний тухайд ердийнхөөс их хэмжээний дээж шинжлэх хэрэгтэй болно. Эсрэгтөрөгч илрүүлдэг, анализын мэдрэх чанар өндөр ЕЛИЗА эсхүл бодит цагийн УТ-ПГУ ашиглах тохиолдолд дээжид тавих зарим шаардлагыг хасна.

Үхрийн хэд хэдэн төрлийн эсийн (жишээ нь бөөр, уушги, төмсөг эсхүл самалдаг) дан үе эсийн өсгөвөрт вирусийг ялган авч болно. Зарим тохиолдолд хонины эс бас тохирно. Анхдагч эсхүл хоёрдогч өсгөврийг эсийн цийдмэг байдлаар шингэн азотод хөлдөөж болно. Эдгээрийг дараа нь дараалан зорчуулж шинжлэх эсхүл мэдрэмтгий бусад эсэд халдварлуулан бохирдолтой эсэхийг шалгах, тогтмол хэрэглэхийнхээ өмнө тэдгээрийн мэдрэх чанарыг эсийн өмнө нь баталгаажсан цувралынхтай харьцуулан үнэлгээ өгөхөд ашиглаж болно. ҮВДӨВ-ийн халдвараар тайван эсэх болон үрийн өвчлөмтгий чанарт тогтмол хяналт-шинжилгээ хийж байдаг, үхрийн вируст диарей өвчингүй үхрээс бэлтгэсэн дамжмал шугаман эс хэрэглэвэл дээр дурдсан шалгалт шинжилгээг багасгаж болно. Зөвхөн тогтоосон хязгаарт багтаан зорчуулсан, ингэхэд ҮВДӨВ-ийн халдварт мэдрэг чанар нь зөвшөөрөгдөх хэмжээнд байсан нь тогтоогдсон “эх бэлдэц”-ийн системийн хүрээнд дамжмал эсийг ашиглах хэрэгтэй. Хэдийгээр тухайн дамжмал эсийг ҮВДӨВ-ийг ялган авахад тохиромжтой гэж сонгосон ч гэсэн зорчуулсан байдлаараа өөр өөр эх үүсвэрээс авсан эсийн цуврал хоорондоо эрс ялгаатай байж болох учраас сонгосон эсээ хэр зэрэг тохиромжтой болохыг түүнийг тогтмол хэрэглэхийнхээ өмнө дахин баталгаажуулсан байх хэрэгтэй.

Үхрийн диарей өвчний эс эмгэгшүүлдэггүй вирус үхрийн эд болон эсийн өсгөвөрт агуулагдах нь нийтлэг учраас эсийг хөндлөнгийн вирусийн бохирдолгүй болохыг тогтмол хугацаанд шалгаж байх ёстой. Найрлага нь баталгаатай эсийн өсгөврийн тэжээлт орчинд эс ургуулж эс ургасан том талбайг хамруулан шалгана. 96 үүртэй хавтангаас хэдхэн үүрийг бус харин бүх үүрийг шалгавал эс бохирдолгүй болохыг илүү баттай нотолж өгнө. Эсийн өсгөвөрт хэрэглэхээр сонгон авсан үнээний хээлийн ийлдэс зөвхөн вирус төдий бус ҮВДӨВ-ийг саармагжуулах эсрэгбие агуулаагүй байх нь ач холбогдлоороо адилхан, магадгүй түүнээс ч илүү байна. Бохирдсон ийлдсэн дэх ҮВДӨВ-ийг устгахад дулаанаар боловсруулах арга (56°C-д 30–45 минут) тохирохгүй, харин 25 kiloGrays (2.5 Mrad) цацраг туяагаар шарах нь илүү зохистой. Үнээний хээлийн бэлэн худалдагддаг ийлдсийг бодит цагийн УТ-ПГУ-аар шинжлэхэд цацраг туяагаар үйлчлэн вирусийг идэвхгүйжүүлсний дараа ч гэсэн ихэнхдээ эерэг дүн үзүүлдэг. Худалдах зориулалтаар цуглуулж бэлтгэсэн үнээний хээлийн ийлдэсний бэлдмэл дэх пестивирусийн эсрэгбиеийн агууламж заримдаа бараг илрэхээргүй түвшинд байдаг ч гэсэн тэр нь вирус ялган авахад хангалттай саатуулна. Дээрх асуудлыг гаргахгүйн тулд ҮВДӨВ болон түний эсрэгбие агуулаагүй донор амьтнаас ийлдэс бэлтгэн итгэлтэйгээр ашиглаж болно. Донор мал тус бүрд вирус болон эсрэгбие аль аль нь байгаа эсэхийг шинжилнэ. Үнээний хээлийн ийлдсийг адууны ийлдсээр орлуулж болох боловч тэрээр ихэнхдээ эсийн ургалтыг төдийлөн идэвхжүүлдэггүй болох нь тогтоогджээ. Бас заримдаа үнээний хээлийн ийлдсийг боловсруулах явцад хөндлөнгийн бохирдол ордгоос ҮВДӨВ агуулаагүй бүтээгдэхүүн бэлтгэх зорилго талаар өнгөрөх тал бий.

Амьд малаас вирус ялган авахад цагаан эсийн хөвмөл, бүхэл цус, угаасан цагаан эс эсхүл ийлдэс тохиромжтой. Нялх тугалын ийлдэснээс вирус ялган авахад эхээс дамжсан эсрэгбие саад учруулж болзошгүй. Задлан шинжилгээнээс авсан эдээс стандарт аргаар цийдмэг бэлтгэнэ. Бух ҮВДӨВ-ийн орогномол халдвар аваагүй болохыг цусны дээж шинжлэх замаар хялбархан баталгаажуулж болно. Гэвч цочмог явцтай халдвараар өвчлөөд эдгэрсэн зарим бухын төмсөгт орогнох халдварын үед цусанд нь вирус тархаагүй, харин ийлдсийн урвал эерэг байна (Voges нар, 1998). Эдгээр бухаас цуглуулсан үрийн шингэний ихэнхэд вирус

илэрч болох юм. Хэдийгээр одоогоор нийтлэг хэрэглэхгүй байгаа ч төмсөгт орогнох халдвар (ТОХ) байх боломжийг үгүйсгэхэд ийлдсийн эерэг урвалтай бухын үрийн шингэнд вирус илрүүлэх шинжилгээ хийж байх нь чухал юм. Тухайн бухын төмсөгт орогномол халдвар байхгүй гэдгийг үнэмшилтэйгээр тогтооход хэдэн долоо хоногийн туршид цуглуулсан цуврал үрийн шингэнд вирус илрүүлэх шинжилгээ хийх хэрэгтэй. Цуглуулсан үрийн шингэний хэд хэдэн цувралд илрүүлэх шинжилгээ хийсэн нөхцөлд ийлдсийн эерэг урвалтай бухын үрийн шингэнийг шинжлэх шаардлагагүй. Боловсруулалтад оруулаагүй шинэ үрийн шингэн болон зарим үед шингэлсэн үрийн шингэн эс эмгэгшүүлдэг учраас тэдгээрт өсгөврийн тэжээлт орчноор шингэлэлт хийнэ. Ийм учраас эс эрүүл төлөвтэй байгаа эсэхэд өсгөвөрлөх хугацааны турш үе үе микроскопоор шалгаж хяналт-шинжилгээ хийж байх нь чухал. Вирус ялган авахаас хэд хэдэн давуу талтай, мэдрэх чанар өндөр, вирус ялган авах гэж хэдэн долоо хоног зарцуулахын оронд цөөн хэдэн цагт багтаан хийх боломжтой бодит цагийн УТ-ПГУ хэрэглэн дээрх асуудлыг үндсэндээ шийдвэрлэж болно.

Вирус ялган авахад хэрэглэдэг аргачлал олон хувилбартай. Тэр бүх аргыг стандарт бэлдмэл дэх вирусийг дээд зэргээр мэдэрч илрүүлдэг байхаар ончийг нь олж тохируулна. Эсийн өсгөвөрт хэрэглэх биологийн бүх бүрэлдэхүүн хэсгийг шалгаж ҮВДӨВ болон түүний эсрэгбие аль алиныг агуулаагүй болохыг нотлон харуулна. Эсийн өсгөвөр (анхдагч эсхүл дамжмал шугаман эс) вирусийн халдварт дээд зэргийн мэдрэг хэвээр байгаа болохыг баталгаажуулахын тулд тогтмол шалгах хэрэгтэй. Дээжийн төрөл, шинжилгээний зорилгоос хамаарч вирус ялгахад эсийн өсгөвөрт нэг эсхүл олон удаа зорчуулалт хийнэ. Орогномол халдвартай малын цус эсхүл ийлдсийг ганцхан удаагийн зорчуулалтаар илрүүлэн ялган таньж болдог бол үрийн шингэнийг тогтмол гурван удаа зорчуулан өсгөвөрлөх, үнээний хээлийн ийлдэс гэх мэт биологийн бэлдмэлийг тав хүртэл удаа зорчуулж (эхний тарилт дээр нэмээд дөрвөн зорчуулалт) шинжилнэ. Эс эмгэгшүүлдэггүй вирусийг илрүүлэхийн тулд вирус ялган авах ердийн арга хэрэглэсний дараа дархлаа судлалын будалтын арга (иммунфлюоресценц эсхүл илүү олон хэрэглэгддэг пероксидазагаар будах арга) хэрэглэнэ. Иймээс хуруу шилний өсгөврийн тухайд дээр нь бүрхүүл шил хөвүүлэх аргаар, харин бичил таньцын хавтангийн өсгөврийг хавтанд нь шууд бэхжүүлээд тэмдэглэгээ хийнэ. Доор жишээ оруулав. Сүүлийн зорчуулалтын өсгөврийн дээд талын шингэнд бодит цагийн УТ-ПГУ-аар шалгах хувилбар бас бий (доорхоос үзнэ үү).

1.1.1. Ийлдсийн олон дээжид вирус илрүүлэх бичил хавтангийн иммун пероксидазагийн арга (Meyling, 1984)

i) Эсийн өсгөврийн зэрэглэлийн 96 үүртэй бичил хавтангийн дөрвөн үүр тус бүрд ийлдэсний 10–25 мкл дээж хийнэ. Үүнийг дээж тус бүрд адилхан давтана. Эерэг болон сөрөг нь тогтоогдсон хяналтыг хамт шинжилнэ.

ii) Үнээний хээлийн ийлдэс (ҮХИ)-гүй тэжээлт орчинд тохирох төвшрүүлэгтэй болгосон (голдуу 150,000 эс/мл) эсийн цийдмэгээс бүх үүрэнд 100 мкл нэмнэ. *Жич*: дээж өөрөө эс ургуулах нэмэлт болж өгнө. Ийлдэснээс өөр дээж шинжлэх бол хивэгч амьтны пестивирусийн эсрэгбие агуулаагүй 10% ҮХИ-тэй тэжээлт орчин хэрэглэнэ.

iii) Хавтанг 37°C-д 5% CO_2 агаартай нөхцөлд тавьж аль эсхүл хавтанг битүүмжлээд 4 хоног өсгөвөрлөнө.

iv) Микроскопоор хавтангийн бүх үүрийг харж эсийн эмгэгшил (эс эмгэгшүүлэх нөлөө (ЭЭН)), эсхүл эс хордолтын шинж байгаа эсэхийг шалгана.

v) Өсгөврийг ойролцоогоор –80°C-д огцом хөлдөөж өсгөврийн дээд талын шингэнээс 50 мкл-ийг авч шинэ тэжээлт орчинд зорчуулаад дээрх .1.1.i -ээс iv хүртэл шатыг давтана.

vi) дараа нь хоёр аргын аль нэгээр эсийг бэхжүүлж будна.

- **Параформалдегид**

а. Хавтанд 1/10 шингэлсэн формалдегидийн уусмал (ойролцоогоор 3% төвшрүүлэгтэй) 200 мкл нэмээд тасалгааны хэмд 10 минут байлгана.

б. Хавтангийн үүрэн дэх агуулагдахууныг асгаад хавтанг угаана.

в. Хавтанг 0.05% Твин 20 усаар дахин угаана (бага даралт, хурдын тохиргоотой бичил хавтан угаах автомат машин ашиглаж болно).

г. Үүр бүрд тохирсон шингэлэлт (фосфатын буфержүүлсэн физиологийн уусмал/ФБУ 1% желатин агуулсан) бүхий ҮВДӨВ-ийн эсрэгбие 50 мкл нэмээд

чийгшүүлэгчтэй дулаан тогтоогуурын 37°C-д 60–90 минут өсгөвөрлөнө.

д. в) шатад дурдсан ёсоор хавтанг 5 удаа угаана.

е. Пероксидазагаар коньюгатласан, шаардагдах хэмжээний эсрэг ийлдсийг (жишээ нь вирусийн эсрэгбие нь хулганын ижил гарлын эсрэгбие бол пероксидазагаар коньюгатласан хулгана-эсрэг туулайн иммунглобулин) 1% желатин/ФБУ-д ончийг нь олж шингэлнэ. Хамгийн оновчтой төвшрүүлгийг коньюгатын цуврал бүрд харьцуулах эерэг болон сөрөг хяналт ашиглан “шатрын хөлгөн” таньцлалтаар тогтооно.

ж. Шингэлсэн 50 мкл пероксидазагийн коньюгатыг бичил хавтангийн үүр бүрд нэмж чийгшүүлэгчтэй 37°C-ийн дулаан тогтоогуурт 90 минут байлгана.

з. в) шатад дурдсан ёсоор хавтанг 5 удаа угаана.

и. 3-амино-9-этил карбазол (АЕС)-ны субстрат (100 мкл/үүр) нэмж хавтанд “өнгө үүсгээд” тасалгааны хэмд 30 минут байлгана.

к. Үүр тус бүрд 100 мкл ФБУ нэмж хавтан бүрийг таглана.

л. Гэрлийн микроскопоор хавтангийн үүрнүүдийг сөрөг болон эерэг хяналтын үүрээс эхлэн шалгана. Халдвар байхгүй үүрний (сөрөг хяналт) эс будагдахгүй эсхүл хамгийн бүдэгхэн харагдана Халдварласан эсийн (эерэг хяналт) цитоплазм нь улаавтар хүрэн өнгөтэй болсон байна.

- **Ацетон**

а. Хавтанг болгоомжтой хөмөрч хоослоод ФБУ-аар угаана.

б. Эсийг дараах байдлаар бэхжүүлнэ. ФБУ-д найруулсан 20% ацетонтой саванд хавтанг дүрсний дараа даруй хоослон дараа нь ФБУ-д найруулсан 20% шинэхэн ацетонтой саванд 10 минут байлгана. Хавтанг бүрэн хоослоод хөмрөн товших болон уудаг материал ашиглан шингэнийг аль болохоор гүйцэт авна. Хавтанг 25–30°C-д 3-аас доошгүй цаг байлган бүрэн хатаана (жишээ нь ширээний гэрлээс ялгарах дулаанаар). *Жич:* хатаах нь бэхжүүлэх ажлын нэг хэсэг болж өгнө.

в. Бүх үүрэнд ФБУ нэмж бэхжүүлсэн эсийг зайлна.

г. Үүрнүүдийг хоослоод 1% твин 80 (PBST), 5% адууны ийлдэс эсхүл 1% желатин агуулсан ФБУ-аар урьдчилан тооцоолсны дагуу шингэлсэн ҮВДӨ-ий вирусийн эсрэгбие (50 мкл) бүх үүрэнд нэмнэ.

д. 37°C-д 15 минут байлгана.

е. Хавтанг хоослоод PBST-д гурван удаа угаана.

ж. Хавтанг хоослоод амьтны зүйл-эсрэг, пероксидазатай коньюгатласан ийлдсийг урьдчилан тогтоосны дагуу PBST-д шингэлээд хавангийн үүр бүрд 50 мкл нэмээд 37°C-д 15 минут байлгана.

з. Хавтанг хоослоод PBST-д гурван удаа угаана.

и. Хавтанг нэрмэл усаар зайлна. Хавтанг хөмрөн товших маягаар бүх шингэнийг зайлуулна.

к. Шинэхэн бэлтгэсэн тохирох хромоген, жишээ нь 3-амино-9-этил карбазол (АЕС) агуулсан гидроген пероксидийн субстрат нэмнэ.

Үүний оронд 15 мл ФБУ-д 9 мг диаминобензидин тетрагидрохлорид, 6 мг натрийн тетрагидрат борын исэл уусгасан өөр субстрат бэлтгэж болно. Төдийлөн тод буддаггүй ч гэсэн эдгээр химийн бодисыг агаараар тээвэрлэж болдог давуу талтай.

л. Хавтанг микроскопоор харж шалгана. Вирус-эерэг эсийн цитоплазм улаан хүрнээр будагдана.

Эсийг халааж бэхжүүлэх зэрэг өөр хувилбар арга хэрэглэж болох юм (Бүлэг 3.9.2 *Гахайн сонгомол мялзан*, хэсэг Б.2.2.1.viii үзэх). Вирусийн эсрэгтөрөгчийг илрүүлэх чадавх нь буураагүйг байгааг тогтоохын тулд эхлээд энэ аргадаа баталгаажуулалт хийсэн байх хэрэгтэй.

1.1.2. Эд болон цагаан эсийн хөвмөлийн цийдмэгийг шинжлэх хуруу шилний арга

Жич: энэ аргыг мөн 24 үүртэй хуванцар хавтанд хялбархан тохируулан хэрэглэж болно. *Жич:* хамгийн багадаа 2, боломжтой бол 3 зорчуулалт (эхний тарилтыг оруулаад) шаардагдана.

i) Эдийн дээжийг нухаж жижиглээд өсгөврийн шингэнд 10% цийдмэг бэлтгэнэ. Дараа нь хурилдуурдаж үлдсэн хаягдлыг авна.

ii) Битүү эсхүл бараг битүү шинэхэн ургасан дан үе эсийн өсгөвөртэй хуруу шилэнд 0.1 мл дээжийг тарина. Наалдуулан шингээхийн тулд өсгөврийг 37°C-д 1 цаг байлгана.

iii) Өсгөврийг 1 мл тэжээлт орчноор угааж улмаар түүнийгээ асгаад 1 мл өсгөврийн тогтворжуулагч тэжээлт орчин нэмнэ.

iv) Өсгөврийг 37°C-д 4-5 хоног өсгөвөрлөөд улмаар микроскопоор харж ЭЭН-ий эсхүл эс хордсоны шинж тэмдэг байгаа эсэхийг илрүүлнэ.

v) Дараа нь өсгөврийг зорчуулалтад зориулан хөлдөөж гэсгээх аргаар нэг эсхүл нэмж илүү хоёр удаагийн зорчуулалтад ашиглах шинэхэн өсгөвөр бэлтгэнэ (сүүлчийн иммун будалт хийхэд зориулан тарилт хийсэн өсгөвөр орно). Сүүлийн зорчуулалтын шатад эдийн өсгөврийн шингэнийг хөлдөөн-гэсгээсний дараа хурааж аваад өсгөвөрлөх болон иммун пероксидагагийн (дээрх Б.1.1.1 хэсгийг үзэх) эсхүл иммунфлюоресценцийн аргаар будахад зориулан бичил таньцын хавтанд зорчуулна. Иммунфлюоресценцийн аргын тухайд хуруу шилэнд бүрхүүл шил хийж ургаж байгаа эсэд өсгөвөрлөх хугацаа дуусахад бүрхүүл шилийг авч 100% ацетонд бэхжүүлээд ҮВДӨВ коньюгатласан иммунфлюоресценцийн будгаар будна. Цитоплазмд үүсдэг пестивируст өвөрмөц хэв шинжит, нэлэнхий гэрэл цацаргалтыг илрүүлэх зорилгоор бүрхүүл шилийг флюоресценцийн микроскопоор харж шалгана. Үүнээс гадна сүүлийн зорчуулалтаас авсан эсийн өсгөврийн дээд талын шингэнийг бодит цагийн УТ-ПГУ-аар шалгаж болно (дор үзэх).

1.1.3. Үрээс вирус ялган авах

Энэ шинжилгээнд ихэвчлэн бухын шингэлсэн үрийн шингэн, хааяа боловсруулаагүй шинэхэн үрийн шингэн ашиглана. Үрийн шингэний дээжийг шингэн азотод эсхүл хуурай мөсөөр хамгаалж лабораторид хүргэнэ. Дээжийг шингэн азотод эсхүл –70°C”-аас нам температурт (урт хугацаагаар хадгалах бол) эсхүл 4°C-д (1-2 хоногоос хэтрэхгүй богино хугацаанд хадгалах бол) хадгална. Ямар нөхцөлд ирүүлснийг хүлээн авагч лаборатори бүртгэж баримтжуулна. Боловсруулаагүй шинэхэн үрийн шингэн ихэвчлэн эс эмгэгшүүлдэг учраас эсийн өсгөвөрт нэмэхээс өмнө урьдчилан шингэлнэ (жишээ нь ҮВДӨВ агуулаагүй үхрийн ийлдсээр 1/10). 0.1 мл-ээс багагүй боловсруулаагүй үрийн шингэнийг эсийн өсгөвөрт гурван удаа зорчуулж шинжилнэ. Мөн шингэрүүлсэн үрийн шингэн хорон чанартай байж болзошгүй. Ойролцоогоор 0.1 мл-ээс багагүй боловсруулаагүй үрийн шингэнтэй тэнцэх (жишээ нь 1.0 мл-ээс багагүй шингэрүүлсэн үрийн шингэн) шингэрүүлсэн үрийн шингэнийг шинжилнэ. Хэрэв хорон чанар илэрвэл 0.1 мл боловсруулаагүй үрийн шингэнтэй тэнцэх эзлэхүүнтэй болтол олон дахин шингэлсэн дээж шинжлэх шаардлагатай болно (жишээ нь 5 × 1 мл шингэрүүлсэн үрийн шингэний дээжийн хорон чанарыг бууруулахын тулд 1/5 шингэлнэ). Дараах аргыг хэрэглэх нь зүйтэй:

i) 200 мкл шинэхэн үрийн шингэнийг антибиотик агуулсан 1.8 мл үхрийн ийлдсээр шингэлнэ. Энэ ийлдэс эсийн өсгөврийг баяжуулахад ашигладагтай ижилхэн байж болох ба харин ҮВДӨВ-ийн эсрэгбие агуулаагүй гэдгийг тогтоон харуулсан байх хэрэгтэй.

ii) Сайтар холиод тасалгааны хэмд 30 минут тавина.

iii) Эсийн өсгөврийн хуруу шилтэй эсхүл эдийн өсгөврийн зургаан үүртэй хавтан дахь дан үе, мэдрэмтгий эсэд (дээрх эдээс вирус ялгах аргыг үзэх) 1 мл үрийн шингэн/ийлдэсний холимгоор тарилт хийнэ.

iv) Өсгөврийг 37°C-д 1 цаг өсгөвөрлөнө.

v) Холимгийг аваад дан үе эсийг тогтворжуулагч тэжээлт орчноор хэд хэдэн удаа угааж дараа нь өсгөвөрт тогтворжуулагч шинэ тэжээлт орчин нэмнэ.

vi) Шинжилгээнд ҮВДӨВ-ээр сөрөг болон эерэг хяналтыг оруулна. Шинжлэх дээжийг эерэг хяналтын дээжээр санамсаргүй бохирдуулчихгүй байхад онцгой анхаарч хамгийн сүүлд нь эерэг хяналтын дээжтэй харьцаж ажиллана.

vii) Хавтанг микроскопоор харж бохирдолгүй, эс хордуулах чанаргүй болохыг баталгаажуулна. ҮВДӨВ-ийн халдварын үед эсийн эмгэгшил гарахгүй гэж үздэг ба харин тохиолдлоор үхрийн херпес вирус 1 зэрэг бусад вирус өсгөвөрлөгдсөнөөс үүсэж болох юм.

viii) 5-7 хоногийн дараа өсгөврийг ойролцоогоор –70°C-д эсхүл түүнээс нам хэмд хөлдөөсний дараа гэсгээж хурилдуурдан тунгалагшуулаад дээд хэсгийг нь шинэхэн дан үе эсэд халдвар хийхэд ашиглана.

ix) Хоёрдох зорчуулалтын төгсгөлд өмнө нь хөлдөөж гэсгээх аргаар бэлтгэсэн өсгөврийн дээд талын шингэнийг авч, 5 хоног өсгөвөрлөсний дараа хийгддэг иммунпероксидаза будалтын эсхүл эсрэгтөрөгч илрүүлэх бусад арга эсхүл бодит цагийн УТ-ПГУ-д шинжилгээнд зориулсан тохирох системийн тэжээлт орчинд зорчуулна. Үүнийг 96 үүртэй хавтанд хийвэл хамгийн хялбар байдаг. Хэрэв вирусийн эсрэгтөрөгч эсхүл ҮВДӨВ-ийн РНХ илрэхгүй бол дээжийг сөрөг гэж үзнэ.

1.2. Нуклейн хүчил илрүүлэх

Өнгөрсөн хугацаанд оношилгооны зорилгоор ҮВДӨ-ий вирусийн РНХ илрүүлэхэд гельд суурилсан энгийн УТ-ПГУ-ыг хэрэглэж ирэв. Мултиплекс УТ-ПГУ-ыг вирусийг эсийн өсгөврөөс эсхүл дээжээс шууд нэгэн зэрэг олшруулж вирусийн хэвшил тогтооход хэрэглэж байна. Гэвч гельд суурилсан УТ-ПГУ-д хөдөлмөр, зардал их зарцуулдаг, хөндлөнгийн бохирдолд өртөмхий дутагдалтай тал бий. Проб ашигладаг бодит цагийн эсхүл тоон үзүүлэлтийн УТ-ПГУ-ын аргыг нэвтрүүлснээр эдгээр асуудал мэдэгдэхүйц буурсан. Гэсэн хэдий ч шинжилгээний системд болон лабораторийн сорьцтой харьцаж дээж бэлтгэдэг бүсэд нуклейн хүчлийн бохирдол үүсгэхээс сэргийлсэн маш хатуу арга хэмжээ авах хэрэгтэй (1.1.6. *Халдварт өвчний оношилгооны аргыг баталгаажуулах зарчим, арга, мөн* 2.2.3. *Нуклейн хүчил илрүүлэх арга боловсруулах, оновчтой болгох* бүлгийг үзэх). Эдгээр шинжилгээ гельд суурилсан УТ-ПГУ-аас илүү мэдрэмтгий бөгөөд хэдхэн цагт багтаан хийж болно. Эдгээр аргаар ийлдэс, бүхэл цус, эд, сүү, үрийн шингэн гэх мэт янз бүрийн дээжээс вирусийн РНХ-г шууд илрүүлж халдварт өвчний оношилгоонд өргөн ашиглаж байна. Анализын мэдрэх чанар өндөр учраас түүнийг тус тусдаа дээжүүдийг нийлүүлж байгаад илрүүлэх шинжилгээ хийх эсхүл бөөний савны/танкны сүүг шинжлэх ажилд хэрэглэхэд тохиромжтой юм. Хэдэн зуун үхэртэй сүрэгт энэ аргыг хэрэглэн вирусийн орогномол халдвартай нэг, түүгээр ч үл барам олон үхрийг ялган танина. Гэвч ҮВДӨВ-ийн эсрэгбие агуулсан уураг сүүгээр тэжээсэн 7-40 хоногийн бойжилттой тугалаас авсан цусны нийлүүлсэн дээжид энэ арга тохирохгүй. Нийлүүлсэн дээж шинжлэхэд ПГУ-ын мэдрэх чанар багасан халдвар авсан малыг илрүүлэхгүй өнгөрөөчхөж болох юм. Үүний эсрэгээр арьсны биопси дээжид вирусийн РНХ илрүүлэхэд дээрх уураг сүүнийх шиг нөлөө орохгүй (Fux & Wolf, 2012). Хэдийгээр дархлаа судлалын будалтын аргаас арай илүү үнэтэй ч бодит цагийн УТ-ПГУ нь эсийн өсгөврийн хамгийн сүүлийн зорчуулалтаас авсан өсгөврийн дээд талын шингэнд вирус илрүүлэхэд хэрэглэж болох түргэн, найдвартай арга юм. Мэдрэх чанар маш өндөр бодит цагийн УТ-ПГУ-ыг вакцины үйлдвэрлэлд ашиглах биологийн материалыг шалгахад ашиглаж болох ч вирусийн РНХ илэрвэл тэр нь халдварлах чадвартай вирус байгаагийн илрэл биш гэдгийг урвалын үр дүнг үнэлэхдээ анхаарах хэрэгтэй. Флюоресцент бодисоор тэмдэглэсэн ДНХ пробд суурилсан бодит цагийн УТ-ПГУ-ыг пестивирусийг ялгаварлахад мөн хэрэглэж болно (ж. нь: McGoldrick нар, 1999).

Шинжилгээнд хэрэглэх праймерийг геномын маш тогтвортой мужаас, хамгийн зохистой хэсэг болох 5’-үл кодлогч мужаас эсхүл NS3 (p80 ген)-ийг сонгон зохиох хэрэгтэй. ҮВДӨВ-ийн бүх хэвшил (*Pestivirus bovis, tauri, brazilense*), гахайн сонгомол мялзан өвчний вирус (*Pestivirus suis*), ҮВДӨ-ий зарим омог (*Pestivirus ovis*) болон хэд хэдэн ‘хэв шинжит бус’ пестивирусийг илрүүлдэг буюу пествирусийн төрлийг бүхэлд нь хамарч өргөн хүрээнд урвал үзүүлж чадах шинжилгээний арга гарсныг нийтэлсэн байна (ж. нь: Hoffman нар, 2006). Амьтны зүйл хооронд төрөл бүрийн пестивирус дамжин халдварлах тохиолдол гардаг учраас оношилгоонд мэдрэмтгий, өргөн хүрээнд урвал үзүүлдэг шинжилгээний аргыг хэрэглэх нь зүйтэй. Дараа нь тухайлсан вирус тус бүрийг ялган тогтоох шаардлага гарахад пестивирусийн зүйл бүрд өвөрмөц шинжилгээ хийж вирусийн хэвшил тогтооно. Бодит цагийн УТ-ПГУ-ыг бүхэлд нь, тэр дундаа нуклейн хүчлийг ялган авах, цэвэршүүлэх ажлын ончийг нь олж тогтоох нь чухал юм. Mg2+, праймер, проб, полимеразагийн хамгийн оновчтой төвшрүүлэг, дулаан сэлгэлтийн мөчлөгийн горимыг тогтооно. Найрлагыг нь сайтар

тогтоож ончийг нь олж тохируулсан, “хэрэглэхэд бэлэн” мастер холимог худалдаанд гарсан бөгөөд түүн дээр төвшрүүлгийг нь зөв тогтоосон праймер, пробыг л зөвхөн нэмнэ. Мастер холимог тус бүрд дулаан сэлгэлтийн хамгийн оновчтой байх мөчлөгийн горимыг тогтоож өгнө.

Нуклейн хүчлийг цэвэршүүлэх төрөл бүрийн цомог худалдаанд гарсны нэлээд хэсгийг хагас автоматжуулсан шинжилгээнд ашиглаж болно. Соронзонт мөхлөгөөр РНХ-тэй холбогдох, цэвэршүүлэх системийг өргөн ашиглах болсноор олон тооны дээжийг түргэн боловсруулах болов. Тодорхой төрлийн дээжид хамгийн сайн тохирох цомгийг болон дээжид ямар нэг урьдчилсан боловсруулалт хийх шаардлагатай эсэхийг тогтооход хэрэглэгдэх өвөрмөц бүтээгдэхүүнд баталгаажуулалт хийх хэрэгтэй. Бүхэл цусны дээжийн тухайд цус үл бүлэгнүүлэгчийн төрөл, сорьцын хуруу шилэнд авсан цусны хэмжээ чухал. Гепаринтай авсан цусны дээж EDTA-тай авсан цусыг бодвол ПГУ-ыг саатуулах талаасаа илүү асуудал үүсгэнэ. Цусыг хуруу шилэнд зөвлөсөн хэмжээгээр авалгүй багадуулбал цус үл бүлэгнүүлэгчийн төвшрүүлэг нь ихдэж дээрхээс илүү асуудал үүснэ. Гарч болзошгүй хуурамч сөрөг дүнгийн учрыг олж тогтоохын тулд РНХ-ийг ялгахын өмнө РНХ-ийн экзоген (‘дотоод хяналтын’) темплатыг дээжид нэмэх нь зүйтэй (жишээ нь Hoffman нар, 2006). Экзоген нуклеотидийн дараалалд өвөрмөц ПГУ-ын праймер болон проб хэрэглэснээр РНХ ялгах ажлын болон ПГУ-ыг саатуулах ямар нэг зүйл байгаа эсэхийг шалгах ажлын үр дүнг хянах боломжтой болно. Дотоод хяналтыг хэрэглэх нь бүх төрлийн дээжид ач холбогдолтойн дээр ялангуяа үрийн шингэн болон бүхэл цусны дээж шинжлэхэд бүр чухалчлан хэрэглэж баймаар арга юм. Дотоод хяналтыг хэрэглэж байгаа үед ПГУ-аар дотоод хяналтын нуклеотидийг олшруулахдаа оношлох зорилгоор нуклеотидийг олшруулж байгаа ПГУ-тай өрсөлдөхгүй байхаар байлгаж ийм замаар анализын мэдрэх чанарыг бууруулах цогц туршилт хийх хэрэгтэй (1.1.6 бүлгийг бас үзэх).

РНХ-ийг ялган авах аль эсхүл бодит цагийн УТ-ПГУ-аар шинжилгээ хийхэд сөрөг нөлөөлөх бодис дээжид байна гэж таамаглавал физиологийн уусмал, эсийн өсгөврийн тэжээлт орчин эсхүл буфер уусмалаар (фосфатын буфержүүлсэн физиологийн уусмал, желатинтай [ФБФУЖ]) бага зэрэг шингэлэхэд ихэнхдээ асуудал гарахгүй. Ийлдсийн дээжийг ¼-өөр, бүлэгнээгүй бүхэл цусыг 1/10-аар шингэлэхэд үндсэндээ хангалттай. Бодит цагийн УТ-ПГУ-ын мэдрэх чанар онцгой өндөр учраас шингэлэлт хийснээр дээжид байгаа вирусийн РНХ-ийг илрүүлэх урвалын чадавхад бодитой нөлөөлөх нь ховор.

1.2.1. Үрийн шингэнд ҮВДӨВ илрүүлэх бодит цагийн полимеразагийн гинжин урвал

Бодит цагийн УТ-ПГУ нь үрийн дээж ҮВДӨВ агуулаагүй болохыг шалган тогтооход онцгой ач холбогдолтой бөгөөд гүйцэтгэхэд хурдан, үрийн шингэнээс гадна эсийн өсгөвөрт вирус ялган авах, ялангуяа төмсөгт нь орогномол халдвартай бухад тохиолддог шиг цөөн тооны вирус агуулагдаж байгаа үед шинжилгээ хийхэд маш их үр дүнтэй. Энд тодорхойлсон бодит цагийн УТ-ПГУ явуулахын тулд дараалал-өвөрмөц хос праймерийг зорилтот РНХ-г олшруулахад, харин олшруулсан бүтээгдэхүүнийг илрүүлэхэд 5’-тэмдэглэгээт нуклеазагийн олигонуклеотитэт проб хэрэглэнэ. Энэхүү проб нь нуклеотидийн дараалал-өвөрмөц, гэрэл цацаргагч хоёр өөр бодисоор тэмдэглэсэн дан олигонуклеотид юм. Праймер болон пробыг худалдан авч болох ба гэрэл цацаргагч янз бүрийн бодистой хувилбарууд бий. Бүх пестивируст зориулсан бодит цагийн УТ-ПГУ нь ҮВДӨВ-ийн 1 дүгээр хэвшлийн (*Pestivirus bovis*), 2 дугаар хэвшлийн (*Pestivirus tauri*), 3 дугаар хэвшлийн (*Pestivirus brazilense*), мөн түүнчлэн ГСМӨВ (*Pestivirus suis*), хилийн өвчний зарим вирус (*Pestivirus ovis*), хэв шинжит бус ихэнх пестивирусийн бүх омгийн РНХ-г илрүүлэхэд тохирдог. Уг шинжилгээгээр пестивирусийн геномын 5’ төгсгөлийн үл трансляцлагдах хэсгийн (5’ NTR) 208 хос суурь нуклеотидийн дараллыг сонгон олж олшруулна. Доорх зааварт праймер болон пробын талаар дэлгэрэнгүй өгүүлэв.

i) Дээж бэлтгэх, багаж төхөөрөмж, урвалж

a. Шинжилгээнд хэрэглэх дээж үндсэндээ шингэрүүлсэн үрийн шингэн эсхүл хааяа боловсруулаагүй шинэ үрийн шингэн байдаг. Хэрэв дээжийг зөвхөн бодит цагийн УТ-ПГУ-аар шинжлэх бол тэдгээрийг хөргөөд ирүүлж болох ба харин лабораторид ирэх үедээ дээж хүйтнээ хадгалсан хэвээрээ байх ёстой. Эс бөгөөс хүйтэн хэлхээ алдагдах учир хэрэв үрийн шингэнээс вирус ялгахаар төлөвлөж байгаа бол үрийн шингэний сорьцыг шингэн азотод эсхүл хуурай мөсөөр хамгаалж тээвэрлэж лабораторид хүргэнэ. Дээжийг шингэн азотод эсхүл удаан хугацаагаар хадгалах бол –70°C-аас нам, 7 хоног хүртэл богино хугацаанд 4°C температурт хадгална. Жич: вирус

ялган авах дээжийг 4°C-д 1-2 хоногоос удаан хадгалж болохгүй.

б. Бодит цагийн УТ-ПГУ-ын анализын мэдрэх чанар маш өндөр учраас нэлээд жижиг хэмжээний дээж ашиглаж болно. Гэхдээ үрийн шингэний цуврал тус бүрээс наад зах нь гурван гуурс үрийн шингэн (тус бүр нь хамгийн багадаа 250 мкл) авч боловсруулна.

в. Шинжилгээ хийхэд бодит цагийн УТ-ПГУ-аар илрүүлэх систем, түүнээс гарсан үр дүнд дүн шинжилгээ хийх программ хангамж шаардагдана. Бодит цагт нь илрүүлдэг ПГУ-ын хэд хэдэн системийг янз бүрийн үйлдвэрлэгч хийсэн байна. Бодит цагийн УТ-ПГУ-аар зорилтот нуклейн хүчлийн маш бага хэмжээний молекулыг илрүүлэх боломжтой учраас бохирдлоос хамгаалахад шаардагдах арга хэмжээ авна. Үүнээс гадна өчүүхэн ч гэсэн бохирдол гарах боломжийг хянаж байх зорилгоор нэгээр үл барам сөрөг дээжийг хамт зэрэгцүүлэн боловсруулна. Бохирдлын эх үүсвэр нь эерэг дээжээс дамжин шилжиж болох бохирдол, хамгийн нийтлэг нь өмнө нь хийсэн ПГУ-ын бүтээгдэхүүнээс үүдэлтэй хөндлөн чиглэлийн бохирдол байж болно.

г. Бодит цагийн УТ-ПГУ хоёр тусдаа аргачлалаас бүрдэнэ.

1) Эхнийх нь нуклейн хүчил ялгадаг баталгаажсан тохирох аргаар үрийн шингэнээс ҮДБВ-ийн РНХ-г ялгана. Нуклейн хүчилтэй холбогдох, цэвэршүүлэх соронзонт мөхлөгийн аргыг ашиглах нь зүйтэй. Соронзонт үрлийг хэрэглэхдээ түүнд зориулсан хагас автомат хэрэгсэл ашиглахыг чухалчилна.

2) Хоёрдох аргачлал нь ялган авсан РНХ-ийн темплатыг бодит цагийн УТ-ПГУ-аар шинжлэхэд хэрэглэгдэнэ.

ii) РНХ-ийг ялган авах

РНХ эсхүл нийт нуклейн хүчлийг үрийн шингэний нийлмэл (нэг малаас нэг цаг хугацаанд авсан үрийн шингэнээс гурван гуурсыг) дээжээс ялгаж авна. Нуклейн хүчил ялгадаг, худалдаанд гарсан соронзон мөхлөгт суурилсан цомог ашиглах нь зүйтэй. Гэвч төрөл бүрийн дээжээс (үрийн шингэн, бүхэл цус) хамгийн оновчтой ялгадаг нь тогтоогдсон цомгийг чухалчлан хэрэглэнэ Зарим арга болон цомгийн зааварт үрийн шингэний дээжээс эсийг салган авах шаардлагагүй болгон нэлээд хялбар болгожээ. Нийлүүлсэн үрийн шингэний дээжээс нуклейн хүчил ялган авахын өмнө дээжийг фосфатын буфержүүлсэн желатинт физиологийн уусмалаар эсхүл буфержүүлсэн адилхан уусмалаар ¼-өөр шингэлнэ. Шингэлсэн, нийлүүлсэн дээжээс 50 мкл-ийг авч дээж задлах буферт хийж РНХ ялгалтыг дуусгана. Худалдаанд гарсан зарим ялгалтын цомогт ердийнхөөс илүү хэмжээний дээж шаардагдаж болно. Дээж задлах буферт 25 мкл нийлмэл, шингэлээгүй дээж нэмэхэд үр дүн нь сайн байжээ. Ялгалтыг цомог үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу хийнэ.

iii) Бодит цагийн УТ-ПГУ-ын шинжилгээний аргачлал

а. Урвалын холимог: төрөл бүрийн эх үүсвэр ялгасан нуклейн хүчлийг олшруулах бодит цагийн ПГУ-ын олон цомог худалдаанд гарсан бөгөөд тухайн сонгосон цомог нь сонгосон бодит цагийн ПГУ-ын сонгосон платформд нийцэж байх хэрэгтэй. Шаардагдах праймер ба пробыг янз бүрийн компанид нийлэгжүүлнэ. ДМАЭМБ-ын ҮВДӨВ-ийн лавлагаа лаборатори зохистой нийлүүлэгчийн талаар мэдээлэл өгч болно.

б. Урвалж нийлүүлэгч ба хадгалалт: Бодит цагийн ПГУ-ын урвалын холимгийг ихэнхдээ хэрэглэхэд бэлэн 2 × төвшрүүлэгтэйгээр нийлүүлдэг. Ашиглах, хадгалахдаа үйлдвэрлэгчийн зааврыг баримтална. Праймер, пробын ажлын нөөц уусмалыг нуклеаза үгүй болгосон усаар 20 мкМ болон 3 мкМ-оор тус тус бэлтгэнэ. Нөөц уусмалыг –20°C-д хадгалах ба пробын уусмалыг харанхуйд байлгана. Праймер, пробыг хөлдөөх-гэсгээх үйлдлийг цөөлөх, тэдгээрийн хүчинтэй хугацааг уртасгах үүднээс дээрх уусмалыг нэг удаа эсхүл цөөн хэдэн удаа хэрэглэх хэмжээгээр жижиглэн тасалж бэлтгэж болно.

в. Праймер болон пробын дараалал

Хофман (2006) нарын өгүүлсэн праймер болон пробын сонголтын талаар дор хураангуйлав.

Хөтлөх: BVD 190-F 5’-GRA-GTC-GTC-ART-GGT-TCG-AC
Буцаах: V326 5’-TCA-ACT-CCA-TGT-GCC-ATG-TAC
Проб: TQ-pesti 5’-FAM-TGC-YAY-GTG-GAC-GAG-GGC-ATG-C-TAMRA-3’

г. Урвалын холимог бэлтгэх

ПГУ-ын урвалын холимгийг ПГУ-ын бусад үйл ажиллагаа явуулдаг, дээжтэй харьцдаг бүсээс тусгаарлагдсан тусдаа өрөөнд бэлтгэнэ. ПГУ явуулах бүрдээ шаардлагатай хяналтуудыг хамт шинжилнэ. Хамгийн цөөндөө темплатгүй хяналт (NTC), тохирох сөрөг хяналт (NC) эерэг хоёр хяналтыг (PC1, PC2) шинжилнэ. Эерэг ба сөрөг хяналтыг РНХ ялгахаас эхлээд урвалын бүх үе шатад, харин темплатгүй хяналтыг РНХ ялгасны дараа нэмнэ. ПГУ-аар олшруулахдаа 25 мкл эзлэхүүнд гүйцэтгэнэ. 96 үүртэй бичил таньцын хавтан ашиглаж хийх шинжилгээний зааврыг энд оруулсан бөгөөд жижиг цодонд хийх бусад хувилбар ч мөн тохирно. ПГУ-ын хавтангийн үүр бүрд дараах байдлаар 20 мкл урвалын холимог, 5 мкл дээж хийнэ:

12.5 мкл	2× УТ буфер – худалдааны бэлэн цомгоос.
1 мкл	ҮВДӨ 190-F Хөтлөх праймер (20 мкМ)
1 мкл	V326 Буцаах праймер (20 мкМ)
1 мкл	TQ-пести проб (3 мкМ)
2 мкл	tРНХ (40 нг/мкл)
1.5 мкл	нуклеаза үгүй ус
1 мкл	25× энзимийн холимог
5 мкл	дээж (эсхүл хяналт – NTC, NC, PC1, PC2)

д. Хяналтыг сонгох

NTC: ихэвчлэн нуклеаза үгүй ус эсхүл нуклеаза үгүй устай tРНХ байх ба түүнийг ПГУ явуулахдаа дээжийн оронд нэмнэ.

Сөрөг хяналт (NC): практикт олон лаборатори ФБФУЖ эсхүл ижил төстэй буфер хэрэглэдэг. Үрийн шингэний дээж шинжлэхэд хэрэглэх хяналт нь ийлдсийн сөрөг урвалтай бухаас бэлтгэсэн сөрөг урвалтай үрийн шингэн байна. Гэвч шинжилгээний арга нь үрнээс нуклейн хүчлийг найдвартай ялган авч улмаар олшруулдгийг батлахын тулд наад зах нь сөрөг болон эерэг хяналт ашиглан тал бүрээр баталгаажуулсан байх хэрэгтэй.

Эерэг хяналт (PC): Эерэг хяналт хоёр байна (PC1=дунд зэрэг – [Ct 29-32] болон PC2=сул эерэг [Ct 32–35]). Эерэг хяналтаар өвчний байгалийн халдвартай бухаас авсан эерэг урвалтай үрийн шингэнийг авбал зохистой. Гэвч түүнийг олж бэлтгэхэд хэцүү байж магадгүй. Вирус ихэнхдээ ихээр агуулагддаг учраас орогномол халдвартай бухын үрийн шингэн тохирохгүй бөгөөд учир нь нуклейн хүчил ялган авах эсхүл шинжилгээний явцад бага зэрэг саатал гарахад түүнд найдвартай хяналт болж чадахгүй. ҮВДӨ-ий тогтоосон тооны вирус нэмсэн сөрөг ийлдсийг нэг хувилбар болгон ашиглаж болно. Бусад дээжийг ердийн эерэг хяналтаар ашиглаж байгаа бол хамгийн багадаа хэрэглэж байгаа нуклейн хүчлийг ялгах болон ПГУ шинжилгээг төмсгийн орогномол халдвартай бух эсхүл цочмог явцтай халдвартай бухын эерэг болох нь тогтоогдсон үрийн шингэнийг ашиглан тал бүрээс нь баталгаажуулна. Хэрэв ийм дээж ашиглах боломжгүй бол баталгаажуулалтад вирус нэмсэн дээж ашиглаж болох ба шинжилгээнд маш цөөн вирус нэмсэн хэд хэдэн дээж хамт оруулна. Өдөр тутмын шинжилгээнд эерэг үрийн шингэнийг хяналт болгохын оронд шинжилгээний дээж бүрийг хөндлөнгийн хяналт болгон ашиглах нь нэмээд дээж тус бүрийн шинжилгээний үр ашгийг хянаж байх ач холбогдолтой. Хөндлөн чиглэлийн бохирдлоос сэргийлж өндөр таньцтай вирусийн нөөцөөс эерэг хяналтын дээжийг урьдчилан бэлтгэх шаардлагатай ба ингэхдээ “хэрэглэхэд бэлэн төвшрүүлэгтэй” болгон “нэг удаа хэрэглэх” хэмжээгээр бэлтгэж хөлдөөсөн байна.

е. Ялган авсан дээжийг тусгайлсан өрөөнд ПГУ-ын холимогт нэмнэ. Хяналтыг дараах дарааллаар хамгийн сүүлд нэмнэ: NTC, сөрөг хяналт, дараа нь эерэг хоёр хяналт

ж. Бодит цагийн полимеразагийн гинжин урвал

ПГУ-д зориулан тусгайлсан өрөөнд ПГУ-ын хавтан эсхүл цодонг бодит цагийн ПГУ-аар илрүүлэх багажид байрлуулна. Зарим мастер холимгийн урвалд орох нөхцөл нь янз бүрийн бусад олон шинжилгээнд тохирохоор нийтлэг байдаг. ПГУ явуулах багажийг программчлах жишээ болгон үзүүлэхэд:

1× 48°C 10 минут
1× 95°C 10 минут
45 × (95°C 15 секунд, 60°C 1 минут)

з. Бодит цагийн ПГУ-ын дүнд дүн шинжилгээ хийх

Программ хангамж нь багажид үүсэж болох аливаа суурь дохиоллыг тооцоолж шинжилгээний үр дүнг автоматаар засварлах тохиргоотой байдаг ба шинжилгээнд мөрдөх босго мөчлөгийн утгыг тухайн сонгосон шинжилгээний программд зориулан ихэвчлэн үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу тохируулна. Энэ тохиолдолд босго мөчлөгийн утгыг 0.05-д тохируулсан болно.

и. Үр дүнгийн боловсруулалт, үнэлгээ

а. Шинжилгээний хяналт: бүх хяналт өгвөл зохих үр дүнгээ өгөх ёстой буюу эерэг хяналтын (PC1 ба PC2) үр дүн тогтоосон хязгаарт багтаж байх, сөрөг хяналт (NC) болон темплатгүй хяналт (NTC) босго мөчлөгийг утга өгөхгүй.

б. Шинжилгээний дээж

1) Эерэг үр дүн: босго мөчлөгийн (Ct) утга нь 40-өөс доош аливаа дээжийг эерэг гэж үзнэ.

2) Сөрөг үр дүн: Босго мөчлөгийн (Ct) утга өгөөгүй ямар ч дээжийг сөрөг гэж үзнэ. Гэвч дээж сөрөг дүн үзүүлснийг мэдээлэхээс өмнө хөндлөнгийн дотоод хяналтын хариу нь хяналтын дээжийн үзүүлэх ёстой хязгаарт багтаж байгаа эсэхийг шалгана (жишээ нь босго мөчлөгийн утга нь NTC-ын утгаас 2-3 Ct нэгжээс илүү өндөр байж болохгүй).

1.3. Эсрэгтөрөгч илрүүлэх энзим холбоост дархлааны урвал

Өвчний орогномол халдвартай бодгаль амьтныг илрүүлэхэд эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА аргыг өргөн ашигладаг болоод байна. Эдгээр шинжилгээ нь цочмог халдвартай амьтныг илрүүлэхэд зориулагдаагүй (гэхдээ үүнийг хэрэглэх тохиолдол гарч болно) бөгөөд бас тэдгээрийг үрийн шингэнд болон шинжилгээ хийх, вакцин үйлдвэрлэхэд ашиглах биологийн материалд вирус илрүүлэхэд зориулаагүй. Эсрэгтөрөгч илрүүлэх хэд хэдэн ЕЛИЗА арга нийтлэгдсэн ба олон цомог худалдаанд гарчээ. Ихэнх ийм арга нь сэндвич ЕЛИЗА аргын зарчимд суурилах ба бичил таньцын хавтанд бэхэлсэн баригч эсрэгбие, дээжид шинжлэгдэхүүн илрэх үед түүнийг мэдээлдэг, пероксидаза гэх мэт бодистой конюгатласан илрүүлэгч эсрэгбие агуулна. Зарим үед шинжилгээний аргын мэдрэх чанарыг сайжруулах зорилгоор илрүүлэлтийн системд нь биотин, стрептавидинийг ашигладаг. Ижил гарлын болон өөр гарлын эсрэгбие ашиглах аль аль аргыг энд тодорхойлон оруулав. Шинжилгээгээр захын цусны цагаан эсийн задардасд ҮВДӨ-ий эсрэгтөрөгчийг (NS2-3 эсхүл E_{RNS}) хэмжих ба эсрэгтөрөгч баригч шинэ үеийн ЕЛИЗА (E_{RNS} баригч ЕЛИЗА) нь цус, мөн түүнчлэн сийвэн, ийлдэсний дээжид ҮВДӨ-ий эсрэгтөрөгч илрүүлэх боломжтой. Эдгээрээс хамгийн сайн аргын мэдрэх чанар нь вирус ялган авах аргынхтай дүйх ба орогномол халдвар ийлдсийн эерэг урвалтай хослох ховор тохиолдолд түүнийг зориуд сонгон хэрэглэж болох юм. ҮВДӨ-ий цочмог халдварын үед цусанд вирус үржих нь тогтворгүй байдаг үеэр эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА хэрэглэх нь вирус илрүүлэх ач холбогдлоор бага юм.

Эхэд нь үүссэн ҮВДӨВ-ийн эсрэгбие агуулагдах учраас уураг сүүгээ уусан нялх тугалд, ялангуяа цусны дээж эсхүл цусны цагаан эс шинжлэхэд эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА шинжилгээний үр дүн бага байдаг (Fux & Wolf, 2012). Эхийн эсрэгбие саатуулах нөлөө үзүүлэх учраас тугалыг төрсний дараах 1 сард E_{RNS} баригч ЕЛИЗА аргаар, эхний 3 сарын турш NS2-3 ЕЛИЗА аргаар цус, цусны цагаан эсийг шинжилж болохгүй. Ийм нөхцөлд бодит цагийн УТ-ПГУ хамгийн мэдрэмтгий илрүүлэх аргад тооцогдох ба арьсны биопси дээж (чихний им) шинжлэхэд E_{RNS} баригч ЕЛИЗА мөн мэдрэмтгий, найдвартай арга болох нь харагджээ (Cornish нар, 2005).

1.4. Иммунгистохими

Эдийн зүсмэгт ҮВДӨВ-ийн эсрэгтөрөгч илрүүлэхэд хэрэв ялангуяа тохирох ИГЭб хэрэглэсэн бол энзим холбоост арга ач холбогдолтой. Гэвч эдгээр шинжилгээ нь олон улсын худалдааны зорилгоор малын эрүүл мэндийн баталгаажуулах ажилд тохирохгүй ба зөвхөн оношлох судалгаа шинжилгээнд хэрэглэнэ. Хэрэглэх урвалж бодис, аргачлалаа бүрэн баталгаажуулсан, өвөрмөц бус урвалжит чанарыг нь арилгасан байвал зохино. Орогномол халдвартай үхрийн бараг бүх эдээс дээж авч шинжилж болох боловч ялангуяа тунгалгийн зангилаа, бамбай булчирхай, арьс, тархи, жинхэнэ ходоод, ихэс шинжлэхэд сайн үр дүн өгнө. Чихний им зэрэг арьсны биопсийн дээж ҮВДӨВ-ийн орогномол халдварыг *in-vivo* оношлоход ач холбогдолтой.

2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ

Үхрийн ийлдсэнд ҮВДӨВ-ийн эсрэгбиеийг нийтлэгдсэн хэд хэдэн аргын аль нэгийг ашиглан стандарт ВСУ эсхүл ЕЛИЗА аргаар эсхүл худалдаанд гарсан цомгоор илрүүлдэг (ж. нь Edwards, 1990). Сүргийн дархлааны түвшинг тодорхойлох, сүргийн дотор байж болох орогномол халдварыг илрүүлэх, үржлийн өвчин эмгэгийг шинжлэн судлах, түүнд ҮВДӨВ-ийн болзошгүй нөлөөг тогтоож өгөх, үр авахад ашиглаж байгаа бухын ийлдэс судлалын статусыг тогтоох, тэнд ойрын хугацаанд халдвар гарсан эсэхийг олж тогтооход ийлдэс судлалын аргыг ашигладаг. Бөөний сүүний дээжид эсрэгбие илрүүлэх ЕЛИЗА хэрэглэх нь сүрэг дэх ҮВДӨ-ий статусыг харуулах ач холбогдолтой (Niskanen, 1993). Вакцинжуулаагүй сүрэгт ЕЛИЗА урвалын үзүүлэх утга өндөр байх нь тухайн сүрэг ҮВДӨВ-ийн халдварт тун саяхан өртсөн байх өндөр магадлалтайг харуулах ба энэ нь орогномол халдварын вирус цусанд нь эргэлдэж байгаа нэг, түүнээс ч олон мал байснаас шалтгаалсан байх хамгийн их магадлалтай. Гэвч ЕЛИЗА урвалын дүн ферм дээр орогномол халдвартай мал байгаа эсэхийг тэр бүр найдвартай харуулж чадахгүй бөгөөд учир нь эсрэгбие илрүүлэхээр хийж байгаа шинжилгээний үр дүнд аж ахуй эрхлэлт болон сүүлийн вакцинжуулалтын харилцан адилгүй байдал, бөөний сүүн дэх вирусийн эсрэгтөрөгчийн агууламж нөлөөлж болзошгүй юм. 9–18 сарын бойжилттой цөөн тооны тугалын эсрэгбиеийн статусыг тодорхойлох замаар тухайн сүрэгт ойрын үед ҮВДӨВ дамжин халдварласан эсэхийг барагцаалж ирсэн боловч бас энэ нь сүрэг доторх янз бүрийн бүлгийн мал хоорондоо хэр ойр хавьталд байсан болон хөрш айлын малтай нийлэх боломжтой эсэх зэргээс хамаарна. ЕЛИЗА урвалыг оношилгооны ажилд (ихэвчлэн худалдаанд гаргасан цомгоор) голдуу хэрэглэдэг бол ВСУ-ыг хяналт баталгаажуулалтын зорилгоор (жишээ нь үрийн донорыг шинжлэх) илүү олонтой ашиглана. ЕЛИЗА эсхүл ВСУ аль ч шинжилгээ хийх бүрдээ хяналтын эерэг ба сөрөг ийлдэс хамт шинжилнэ. Тэдгээр хяналтын шинжилгээний үр дүн нь хүчинтэй гэж үзэж байхаар урьдчилан тогтоосон хязгаарт багтаж байх ёстой. ВСУ тавиҳдаа дээжийн хорон чанарыг хянах зорилгоор дээж шинжлэх бүрдээ “ийлдэсний хяналт”-ыг оруулж шинжилнэ.

2.1. Вирус саармагжуулах урвал

ВСУ-д ашиглах вирусийн омгийн сонголт маш чухал. Бүх нөхцөл байдалд яг тохирох магадлалтай омог байхгүй боловч практикт тухайн нутгийн үхрийн популяци дахь ийлдсийн янз бүрийн урвалын хувь хэмжээг хамгийн өндөр түвшинд илрүүлж чадах омгийг сонгодог. Хэрэв ҮВДӨВ-ийн 2 дугаар хэвшлийн вирус (*Pestivirus tauri*)-ийн эсрэгбиеийн түвшин бага байгаа бол энэ нь *P. bovis* (хэвшил 1) омог ашигладаг саармагжуулах урвалаар илрэхгүй (Fulton нар, 1997) ба мөн эсрэгээрээ омог солигдвол дээрх байдал давтагдана (Fulton нар, 1997). Шинжилгээнд ҮВДӨВ 1-р хэвшил болон ҮВДӨВ 2 дугаар хэвшил (*P. bovis* болон *P. tauri*)-ийг ашиглах нь чухал бөгөөд оношг зүйч байгаа аль нэгийг нь сонгон хэрэглэж болохгүй ба учир нь шинжилгээний үр дүн дутуу гарна. Ихэнх лаборатори ВСУ-д эсийг ихээр эмгэгшүүлдэг, лабораторид дасгасан омог хэрэглэдэг ба хэрэв ингэвэл шинжилгээний дүнг уншихад хялбар байдаг. Эс эмгэгшүүлдэг ‘Орегон C24V’ ба ‘NADL’ гэсэн хоёр омгийг өргөн ашиглаж байна. Гэвч эдүгээ эс эмгэгшүүлдэггүй омгийн ургалтыг эсхүл саармагжилтыг хялбархан илрүүлэх боломжтой дархлаа судлалын тэмдэглэлт хийх аргыг ялангуяа тухайн орон нутагт холбогдох вирусийн омгийг ашиглахыг чухалчилдаг газарт хэрэглэхэд бэлэн болгожээ. Вирус саармагжуулах бичил таньцын шинжилгээний аргын зааврыг (Edwards, 1990) дор оруулав.

2.1.1. Шинжилгээний аргачлал

i) Шинжлэх ийлдсийг 56°C-д 30 минут халааж идэвхгүйжүүлнэ.

ii) Эсийн өсгөврийн зэрэглэлийн хавтгай ёроолтой үүр бүхий 96 үүртэй хавтанд шинжлэх ийлдсийг эхний ¼ шингэлэлтээс хойш дараалсан хоёр дахин шингэлэлтийг эсийн өсгөврийн тэжээлт орчноор шингэлж хийнэ. Шаардагдах нарийвчлалын зэргээс хамааран шингэлэлт бүрдээ дээж тус бүрд гурав эсхүл

дөрвөн үүрийг ашиглана. Ийлдсийг шингэлэх бүрдээ дээж тус бүрд нэг үүрийг вирусгүй үлдээж эсийг вирус эмгэгшүүлсэн юм шиг харагдуулдаг эсхүл вирусийн репликацид нөлөөлдөг хорон чанарыг хянахад зориулна. Хяналтын эерэг ба сөрөг ийлдэс хийх шинжилгээний цуврал бүрд хамт шинжилнэ.

iii) ҮВДӨВ-ийн 100 $TCID_{50}$ (эсийн өсгөврийн 50%-ийг халдварлуулах тун) агуулж байгаа эс эмгэгшүүлдэг омгийн нөөцөөс тэнцүү хэмжээгээр (жишээ нь 50 мкл) авч үүр тус бүрд нэмнэ. Вирусийг идэвхийг (зөвшөөрөгдөх хязгаар 30–300 $TCID_{50}$) шалгахын тулд зарим сул үүрийг ашиглан вирусийн нөөцөд урвуу таньцлалт хийнэ

iv) Хавтанг 37°C-д 1 цаг байлгана.

v) Колбо дахь тохирох эсийг (жишээ нь үхрийн самалдаг, үхрийн төмсөг) трипсинжүүлээд эсийн төвшрүүлгийг 1.5 × 105/мл болгон тохируулна. Бичил хавтангийн үүр тус бүрд 100 мкл эсийн цийдмэг нэмнэ.

vi) Хавтантай зүйлээ 37°C-д 5% CO_2 агаартай нөхцөлд эсхүл хавтангаа битүүмжлээд 4–5 хоног өсгөвөрлөнө.

vii) Үүрнүүдэд ЭЭН үүссэн эсэхийг микроскопоор харж шалгах эсхүл бэхжүүлэлт хийгээд шаардлага хангах ижил гарлын эсрэгбие ашиглан иммунпероксидазагаар будна. Ийлдэс тус бүрийн вирус саармагжуулах таньц нь хавтангийн үүр дэх вирусийг 50% саармагжуулж чадах шингэлэлт болж өгнө. Үүнийг Спирман-Карберийн эсхүл Риид Мунчийн аргаар тооцоолно. Ийлдсийн сөрөг урвалтай малд хамгийн бага (1/4) шингэлэлтэд саармагжуулалт явагдахгүй, харин эцсийн шингэлэлт 1/8-тай тэнцүү байна. Эсрэгбиеийн таньцыг нарийн харьцуулахын тулд, ялангуяа таньцын томоохон (дөрвөөс илүү) өөрчлөлтийг нотлон харуулахын тулд нэг ижил шинжилгээгээр дээжийг зэрэгцүүлэн шинжилнэ.

2.2. Энзим холбоост дархлааны урвал

Шууд бус болон саатуулах хэлбэрийн ЕЛИЗА аль аль аргыг ашиглаж болно. Худалдаанд хэд хэдэн цомог гарсан байдаг. Вирус саармагжуулах урвалын адилаар ҮВДӨВ-ийн нэг зүйлээс бэлтгэсэн эсрэгтөрөгч ашиглахаар тохируулсан ЕЛИЗА нь бусад зүйлийн вирусийн эсрэг үүссэн эсрэгбиеийг нарийн илрүүлж чадахгүй байж болох юм.

Тохирох шинжилгээ хийхэд хамгийн гол бэрхшээл нь шаардлага хангахуйц идэвхтэй вирусийн эсрэгтөрөгч бэлтгэхэд оршино. Вирусийн репликацыг сайн хангадаг эсийн өсгөвөр ашиглан вирусийг өсгөвөрлөх хэрэгтэй. Ашиглах ямар ч ийлдэс ҮВДӨВ-ийн өсгөвөржилтийг саатуулахгүй байх ёстой. Өсгөвөрлөсөн вирусийг хураан авах хамгийн оновчтой хугацааг тухайн эсийн өсгөвөрт туршин тогтоож өгнө. Нягтаар нь үелүүлэгч хурилдуур ашиглан вирусийг өтгөрүүлж бас цэвэршүүлж болно. Үүнээс гадна халдварлуулсан эсийн өсгөврийг Nonidet P40, N-decanoyl-N-methylglucamine (Mega 10), Тритон Х-100 эсхүл 1-octylbeta-D-glucopyranoside (OGP) гэх мэт угаалгын бодисоор боловсруулж идэвх сайтай эсрэгтөрөгч бэлтгэх хувилбар бас бий. Зарим мэргэжилтэн бэхжүүлсэн, халдвар авсан бүхэл эсийг эсрэгтөрөгч болгон ашигладаг. Бактери эсхүл эукариот системд вирусийн өвөрмөц генийг экспреслэх аргаар үйлдвэрлэсэн хиймэл эсрэгтөрөгч ашиглах нь нэмэгдэж байна. Янз бүрийн вирусийн омогт өвөрмөц чанартай ийлдэс шинжлэх замаар ийм системийг баталгаажуулах хэрэгтэй. Ирээдүйд ийм технологийн үр дүнд дэд нэгжийн эсхүл маркерт вакцинтай хослон ажиллах ийлдэс судлалын шинжилгээний арга бий болсноор вакцинжуулсан болон байгалийн халдвар авсан үхрийг хооронд нь ялгаварлах боломжтой болох юм (Edwards, 1990). Шууд бус ЕЛИЗА аргын жишээ аргачлалыг доор оруулав (Edwards, 1990).

2.2.1. Шинжилгээний аргачлал

i) Тугалын төмсгөөс бэлтгэсэн, халдварлах түвшин өндөр (нэг орчим) хоёрдогч эсийг эсийн өсгөврийн өнхөрдөг саванд өсгөвөрлөөд ҮВДӨВ-ийн Орегон С24V омгоор халдварлуулж ийлдэс агуулаагүй тэжээлт орчноор бүрхээд 37°C-д 24 цаг өсгөвөрлөнө.

ii) Эсийг хусуураар хурааж аваад тунаана. Тэжээлт орчны дээд талын хэсгийг зайлуулна. Тунашийг түүнээс хоёр эзлэхүүнээр их ФБУ-д найруулсан 2% OGP-ийн уусмалаар 4°C-д 15 минут боловсруулж дараа нь хурилдуурдаад эсийн хаягдлыг зайлуулна. Дээд талын эсрэгтөрөгчийг жижгээр тасалж хуваагаад–

70°C-д хадгалах аль эсхүл хөлдөөн хатаана. Халдварлуулаагүй эсийг хяналт болгон зэрэгцүүлэн боловсруулна.

iii) Эсрэгтөрөгчийг pH 9.6 бүхий 0.05 М бикарбонатын буферээр урьдчилан тооцоолсны дагуу шингэлнэ. ЕЛИЗА зэрэглэлийн бичил таньцын хавтангийн ээлжлэх өөр мөрний үүрнүүдийг вирус болон хяналтын эсрэгтөрөгчөөр хонуут бүрнэ. Хавтанг дараа нь шинжилгээнд хэрэглэхийн өмнө 0.05% твин 20 эсхүл твин 80 (PBST) агуулсан ФБУ-аар угаана.

iv) Шинжлэх ийлдсийг ийлдэсний шингэлэгчээр (0.5 М NaCl; 0.01 М фосфатын буфер; 0.05% твин 20; 0.001 М ЭДТА; 1% поливинил пирролидон, pH 7.2) 1/50-иар шингэлээд вирус болон хяналтаар бүрсэн үүрнүүдэд нэмээд 37°C-д 1 цаг байлгана. Хавтанг дараа нь PBST-аар тав дахин угаана.

v) Үхэр-эсрэг туулайн IgG пероксидазагийн коньюгатыг урьдчилан тооцоолсны дагуу шингэлээд (ийлдэсний шингэлэгчээр) нэмэх ба дараа нь хавтанг дахиад PBST-аар тав дахин угаана.

vi) Тохирох энзимийн гидроген пероксидаза/тетраметил бензидин гэх мэт субстрат нэмнэ. Өнгө үүссэний дараа хүхрийн хүчил нэмж урвалыг зогсоогоод гэрэл шингээлтийг ЕЛИЗА хавтан уншигчаар хэмжинэ. Хяналтын эсрэгтөрөгчийн хэмжилтийн утгыг шинжилсэн дээжийн утгаас хасаж ийлдэс тус бүрийн гэрэл шингээлтийн цэвэр утгыг олно.

vii) Дээжийн гэрэл шингээлтийн цэвэр утгыг: эергийн утгад хуваж олно (эсхүл эергийн эзлэх хувь) цэвэр гэрэл шингээлтийг энэ шинжилгээний стандарт эерэг ийлдсийн 1.0. орчим байдаг цэвэр гэрэл шингээлтэд хуваана. Ингэснээр шинжилгээний үр дүнг тогтвортой бас тохирцтой байлгана

Б. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

1. Удиртгал

ҮВДӨВ вакциныг юуны өмнө өвчинтэй тэмцэх зорилгоор хэрэглэдэг. Ингэх нь бордооны аж ахуй гэх мэт үхрийн эрчимжүүлсэн аж ахуйн үйлдвэрлэлд илүү ач холбогдолтой. ҮВДӨ-ийг устгах бодлого хэрэгжүүлж байгаа зарим улсад орогномол халдвартай үхрийг ялгаад үлдсэн бусад үхрийг вакцинжуулж эсрэгбиеийн түвшинг өндөр байлгах замаар орогномол халдвартай мал цаашид нэмэгдэхээс сэргийлдэг. Вирусийн эсрэгтөрөгч олон янз байдгаас, нөгөөтээгүүр хээлийн халдвараас үүдэлтэй орогномол халдвар тохиолддогоос шалтгаалан вакцинжуулалтаар ҮВДӨВ-ийн халдвартай тэмцэх ажилд зарим бэрхшээл тохиолдоно. Байгаль дээрх вирус дийлэнхдээ *in-utero* халдварын дүнд бий болсон орогномол халдвартай малд хадгалагдана. Вакцины зорилго нь цусанд вирус үржин биед тархах болон ихэсээр вирус нэвтрэхээс хамгаалахад оршино. Хэрэв үүнийг амжилттай хэрэгжүүлбэл вакцин хэрэглэснээр үржил, амьсгал, гэдэс дотрын гэх мэт бусад олон эмгэг эмнэл зүйн шинжээр илрэхээс болон дархлаа дарангуйлагдсанаас дагалдах уршгаас сэргийлэх магадлалтай. Янз бүрийн улсад төрөл бүрийн вакцин байна. ҮВДӨ-ий вакциныг уламжлал ёсоор өөрчилсөн амьд вируст эсхүл идэвхгүйжүүлсэн вакцин гэж хоёр ангид хуваадаг. Бакуловирус, шилжмэл гентэй ургамал эсхүл өөр угсааны вирусийн экспреслэдэг ҮВДӨ-ий Е2 гликопротейнд суурилсан, рекомбинант дэд нэгжийн туршилтын вакцин болон ҮВДӨВ-ийн Е2 ДНХ вакциныг боловсруулснаас цөөн хэдийг нь ашгийн байгууллагууд үйлдвэрлэж байна. Эсрэгбиеийг гарлаар нь ялган тогтоох йлдэс судлалын аргатай хамтатган хэрэглэвэл эдгээр нь “маркер вакцин” байж чадах найдвар төрүүлж байна.

1.1. Зорилтот бүтээгдэхүүний онцлог шинж чанар

ҮВДӨ-ий вакциныг уламжлал ёсоор өөрчилсөн амьд вируст вакцин, идэвхгүйжүүлсэн вакцин гэж хоёр ангилдаг. Аль ч вакцинд чухлаар тавигддаг шаардлага нь хээлийг халдвараас дээд зэргээр хамгаалахад оршино. Амьд олон төрлийн вакцинд ихэсийг нэвтрэх боломжгүйд тооцогддог, эс эмгэгшүүлдэг вирусийн омог ашигладаг. Ер нь вакцины вирусийг хээлд халдвар үүсгэдэггүй байлгах нь чухал юм. Ерөнхийдөө дархлааны хамгаалалтыг хамгийн сайн тогтоох, аливаа халдварын эрсдэлээс хээлийг хамгаалах үүднээс үржүүлгийн малыг хээлтүүлэхээс өмнө вакцинжуулж дуусгадаг байх хэрэгтэй. Амьд вируст вакцин бас дархлаа дарангуйлах болон бусад халдварыг сэдрээж болзошгүй байдаг. Нөгөө талаас нь үзвэл өөрчилсөн амьд вакциныг зөвхөн нэг удаа олгоно. ҮВДӨВ-ийн эс эмгэгшүүлдэг омог агуулсан амьд вакцин хэрэглэх нь орогномол халдвартай амьтанд нэмэлт халдвар болж салстын өвчнийг сэдрээж магадгүй юм. Найрлагыг зөв тогтоосон идэвхгүйжүүлсэн вакциныг хэрэглэхэд ямар ч аюулгүй боловч хангалттай төвшний дархлаа тогтоохын тулд голдуу

сэргээх тунгаар вакцинжуулах шаардлагатай байдаг дутагдалтай тал бий. Идэвхгүйжүүлсэн вакцинаар эхэлж дараа нь амьд вакцинаар вакцинжуулах хосолмол арга нь вакцины амьд омгийн харш нөлөө үзүүлэх эрсдэлийг бууруулж магадгүй юм. Эсрэгтөрөгч хувирч өөрчлөгдөх хандлагатай байдаг учраас амьд эсхүл идэвхгүйжүүлсэн байхаас үл хамааран тэдгээрийг хэрэглэж байгаа бүс нутгаас гаралтай вируст ойр тохирцтой ҮВДӨВ-ийн омог вакцинд агуулагдаж байх ёстой. Жишээ нь ҮВДӨВ-ийн 2-р хэвшлийн (*Pestivirus tauri*) вирус эргэлдэж буй улс оронд 2-р хэвшлийн тохирох вирус агуулсан вакцин хэрэглэх нь чухал. Нэгдүгээр хэвшлийн вирус (*Pestivirus bovis*)-ийн эсрэг дээд зэргээр хамгаалах дархлаа тогтоохын тулд зонхилох дэд хэвшлийн (жишээ нь 1a болон 1b) эсрэгтөрөгчийг ашиглана. Вакциныг тухайн улс, бүсэд хамгийн элбэг тохиолддог омгийн халдвараас хамгаалж чадахаар тохируулан хийх хэрэгтэй байдаг учраас дэлхий даяар нийтэд нь хэрэглэж болох вакцины эсрэгтөрөгчийн банк байгуулах боломжгүй.

Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зарчмын талаарх 1.1.8 дугаар бүлэгт мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зааварчилгааг оруулав. Энэ хэсэгт болон 1.1.8 дугаар бүлэгт оруулсан зааварчилгаа нь ерөнхий агуулгатай учир тухайн улсын болон бүс нутгийн шаардлагыг нэмж болно.

2. Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаа, вакцинд тавих наад захын шаардлага

2.1. Омгийн шинж чанар

Вакциныг дээд зэргийн үр нөлөөтэй байлгахад вакцинд ашигласан вирусийн омог болон вакцинжуулах популяцийн дунд эргэлдэж байгаа вирусийн хоорондын эсрэгтөрөгчийн тохирц ойр байх шаардлагатай. Тохирно гэж үзвэл ҮВДӨВ-ийн 2 дугаар хэвшлийн омгийг (*Pestivirus tauri*) ашиглана. ҮВДӨВ-ийн зүйл болон дэд зүйл бүс нутгуудад өөр өөр байдаг учраас тэдгээрээс хамгаалж чадах дархлаа тогтоох үүднээс олон нэрийн вакцин ҮВДӨВ-ийн нэг бус омог агуулсан байдаг. Тодорхой омгийг хэд хэдэн ИГЭБ ашиглан шалгавал түүний эсрэгтөрөгчийн шинж чанарыг сайн тогтоож болно (Paton нар, 1995).

2.1.1. Үндсэн эх омгийн биологийн шинж чанар

Өсгөвөрлөсөн эс эмгэгшүүлэгч вирус эс эмгэгшүүлдэггүй био хэвшилтэй голдуу холилдсон байдаг. Анхны холимог өсгөврөөс хоёр био хэвшлийг салган цэвэршүүлэх нь эх омогт байвал зохих шинж чанарыг хадгалахад чухал бөгөөд энэ нь эс эмгэгшүүлдэггүй вирусийн хувьд хязгаарлагдмал шингэлэлтийн аргын хэд хэдэн мөчлөгөөс эсхүл эс эмгэгшүүлдэг вирусийн тухайд биенцэр сонголтоос хамаарна. Эс эмгэгшүүлдэг вирусийн цэвэршилтийг хязгаарлагдмал шингэлэлтээр наад зах нь нэг зорчуулалтаар баталгаатай болгоно. Өсгөврөөс колони ургуулах бол тэдгээрийн ялгагдах онцлог болон эсрэгтөрөгчийн гол шинж чанарыг тодорхойлсон байх хэрэгтэй. Эх вирусийг хэрхэн ялган тогтоосноо нуклеотидийн дараалал тогтоох аргаар баталгаажуулж болно. Вакцинд олон өсгөвөр ашиглах бол тэднийг тус тусад нь бэлтгэнэ.

Эх омогт тохирно гэж сонгосон, эсрэгтөрөгчид байвал зохих шинж чанарыг хадгалсан омгоор үйлдвэрлэсэн вакцинаар вакцинжуулсэн мэдрэмтгий амьтан өвчний ямар нэг шинж тэмдэг үзүүлэхгүй байх ёстой. Сулруулсан амьд вакцин нь “ойр хавьтал”-ын вакцинжуулаагүй малд омгоо дамжуулахгүй, хээлийг халдварлуулдаггүй байх ёстой. Идэвхгүйжүүлсэн вакцин үйлдвэрлэхэд зориулсан эх омгийн вирусийн ургалт өндөр таньцтай байх нь эсрэгтөрөгчийг өтгөрүүлэх хэрэгцээг багасгах ба эцсийн бүтээгдэхүүнд хэрэглэх эсийн өсгөвөр дэх уургийг хамгийн бага хэмжээнд байлгах хэрэгтэй. Амьд болон эсхүл идэвхгүйжүүлсэн вакцин аль алинд зориулсан үндсэн эх омгийн нөөцийг үндсэн эх болон ажлын нөөц омгийг хамардаг эх омгийн бэлдцийн системийн хүрээнд бэлтгэх ба ингэж бэлтгэх нь үйлдвэрлэл явуулахад омгийн зорчуулалтын тоог хязгаарлаж, эсрэгтөрөгчийн хувьсахыг багасгана. Хэдийгээр тогтоож өгсөн үнэмлэхүй шалгуур байхгүй ч ерөнхийдөө үйлдвэрлэлд ашиглах эх вирусийг үндсэн эх омгоос бэлтгэснээс хойш 20-иос илүү зорчуулж болохгүй, үндсэн эх омгийг анхны өсгөврөөс аль болохоор хамгийн цөөн зорчуулах хэрэгтэй.

2.1.2. Чанарын шалгуур (ариун чанар, цэвэршилт, гаднын зүйл агуулаагүй байх)

Эсрэгтөрөгчийг бөөнөөр бэлтгэхэд ашиглах бүх материал гаднын үүсгэгч агуулаагүй болохыг нарийвчлан шалгаж тогтоосон байх нь маш чухал. Үүнд үндсэн болон ажлын эх омог, эсийн өсгөвөр, үхрийн ийлдэс гэх мэт тэжээлт орчны бүх нэмэлт

хамаарна. Үхрийн гаралтай аливаа ийлдэс ашиглахдаа түүнд бүх төрлийн хөндлөнгийн ҮВДӨВ болон ҮВДӨВ-ийн омгийн эсрэгбие агуулаагүй болохыг тогтоох нь онцгой ач холбогдолтой бөгөөд учир нь вирус эсхүл эсрэгбие аль аль нь бага хэмжээтэй агуулагдсан байлаа ч ийлдсэнд байгаа бусад вирус, эсрэгбиеийг халхавчилдаг. Материал болон вакцины эх омгийн ариун чанар болон бусад үүсгэгчийн, ялангуяа вирусийн бохирдолгүй болохыг 1.1.8 болон 1.1.9 бүлэгт өгүүлсний дагуу шалган тогтооно.

2.1.3. Вакцины омог болохыг баталгаажуулах

Бүх вакцин үр нөлөөний стандарт шалгалтад тэнцсэн байх ёстой. Энэ шалгалтаар хамгийн багадаа вакцинжуулалтын дараах саармагжуулах эсрэгбиеийн хариу урвал, вакцинжуулсан үхэрт зориудын халдвар хийсний дараа вирус гадагшлахыг бууруулах болон вирус цусанд үржихээс хамгаалж байгааг нотлон харуулах хэрэгтэй. Эмнэл зүйн шинж тэмдгийн илрэлийг тогтмол үзэж шалгахад амаргүй учраас сувай үнээнд илрэх эмнэл зүйн үзүүлэлтээр ҮВДӨ-ий вакцины үр нөлөөг үнэлэх нь учир дутагдалтай бөгөөд хэрэв энэ аргыг хэрэглэвэл шулуун гэдэсний температурын бууралт, цагаан эсийн цөөрөлтийг хянаж-шинжлэх хэрэгтэй. Үүсгэгч вирус цусанд нь цөөн агуулагддаг онцлогтой ҮВДӨ-ийн цочмог халдварыг эсийн өсгөвөрт вирус ялган авах арга хэрэглэн байнга нотлон харуулаад байх нь хэцүү учраас тухайн үед эргэлдэж байгаа вирусийг бодит цагийн ПГУ-аар тогтоож болох нэг хувилбар бий.

Хэрэв вакцин үндсэн шалгалтдаа тэнцвэл халдвар ихэсээр нэвтрэн халдварлахаас хамгаалах чадварыг тогтоочиход вакцинжуулалтын үр нөлөөг эцэслэн тогтооно. Хэрэв хээл халдвар авахыг дорвитой бууруулсан болон бүрэн хамгаалсан бол вакцин бусад өвчний үед ч (жишээ нь амьсгалын замын өвчнөөс сэргийлнэ) өндөр идэвх үзүүлнэ гэж үзэж болно. Эс эмгэгшүүлдэггүй вирусээр хээлтэй үнээний хамрын хөндийд хээл тээлтийн 60-90 хоногт багтаан халдвар хийхийг зохиомлоор халдвар хийх зохистой арга гэж үздэг (Brownlie нар, 1995). Үндсэндээ энэ арга нь дархлаагүй үнээ вирусийн орогномол халдвартай төл гаргадгийг баттай харуулж өгнө. ҮВДӨВ-ийн 2 дугаар хэвшил(*P. tauri*) элбэг тохиолддог улсад ҮВДӨВ-ийн 2 дугаар хэвшлээс (*P. tauri*) хамгаалах үр нөлөөг тогтооно.

2.2. Үйлдвэрлэх арга

2.2.1. Аргачлал

Эс эмгэгшүүлдэг болон эмгэгшүүлдэггүй био хэвшил хоёул үхрээс гаралтай төрөл бүрийн эсэд өсгөвөрлөгдөнө. Эс үл эмгэгшүүлэгч вирусийн өсгөврийг өсгөвөрлөлтийн 4–7 хоногт, эс эмгэгшүүлэгч вирусийнхийг 2-4 хоногт хураан авах хүлээлттэйгээр стандарт ажиллагааны аргачлалыг мөрдөж өсгөвөрлөнө. Халдвартай вирус зөв өсгөвөрлөгдөн хуримтлагдахад хэд хэдэн хүчин зүйл, тэр дундаа эсийн өсгөвөр, ашигласан вирусийн өсгөвөр, вирусийн эхний тарилтын хэмжээнээс хамаарна. Вирус вакциныг их хэмжээгээр үйлдвэрлэхэд шаардагдах хамгийн оновчтой нөхцөлийг тогтоохдоо эдгээр хүчин зүйлийг харгалзах болон вирусийн репликацийн кинетикийг судлан шинжилсэн байх хэрэгтэй. Амьд эсхүл идэвхгүйжүүлсэн вакцины аль алины чухал зорилго нь өндөр таньцтай вирусийн нөөц бэлтгэх асуудал юм. Эсрэгтөрөгчийг бөөнөөр бэлтгэх энэ ажлыг үйлдвэрлэхээр зэхэж байгаа вакцины төрөлд тохируулан дараа нь гүйцэтгэнэ.

2.2.2. Найрлагад орох орцод тавих шаардлага

ҮВДӨВ-ийн ихэнх вакциныг өсгөвөрлөн бэлтгэдэг үхрийн гаралтай эсийн өсгөвөрт амьтны гаралтай материал нэмсэн тэжээлт орчин үе үе нэмж өгдөг. Эдгээрээс ҮВДӨ-ий вирусүүд, тэдгээрийн эсрэгбиеэр бохирдсон байж болзошгүй байдаг үхрийн ийлдэс бол онцгой анхаарч үзэх ёстой материал юм. Хөндлөнгийн эдгээр бохирдуулагч нь үйлдвэрлэлийн үр ашигт нөлөөлөөд зогсохгүй ҮВДӨВ-ийн сул халдварыг далдалж болзошгүй. Вирусийн эх омгоос гадна бүх материалын ариун чанар, бусад үүсгэгчийн, ялангуяа вирусийн бохирдолгүй болохыг 1.1.8 болон 1.1.9 бүлэгт тодорхойлсны дагуу шалгана. Мөн үхэр, хонины гаралтай материал тархи сархиатах дамжин халдварладаг өвчин [ТСДХӨ]-ын маш бага эрсдэлтэй улсаас гаралтай байх хэрэгтэй (1.1.9 бүлгийг үзэх).

2.2.3. Явцын хяналт

Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны нэг хэсэг нь түүний явцад тавих хяналт нь юм. Өсгөврүүдийг ямагт бохирдолгүй байлгах болон шаардлага гарвал эс эрүүл эсэх, ЭЭН үзүүлсэн эсхүл эс үзүүлснийг хянаж байхын тулд тэдгээрийг тогтмол шалгана. Вакцины үр нөлөөнд тавьдаг үндсэн шаардлага нь саармагжуулах эсрэгбиеийн хариу урвал хангалттай үүсгэх чадвар бөгөөд халдварлах чанартай вирусийн тоо эсхүл үйлдвэрлэсэн эсрэгтөрөгчийн массыг үйлдвэрлэлийн явцад тогтоох замаар дээрх хариу урвал үзүүлэхэд шаардагдах эсрэгтөрөгч нь байвал зохих төвшрүүлэгтэй байгаа эсэхийг шууд бусаар хянан-шинжилдэг байж болох юм. ЕЛИЗА гэх мэт оношилгооны хурдан арга нь ҮВДӨВ-ийн эсрэгтөрөгчийн үйлдвэрлэлд хийх хяналт-шинжилгээнд ач холбогдолтой байдаг. Үүнээс гадна хэдийгээр эсрэгтөрөгчийн хэмжээг дутуу тогтоож болзошгүй ч дотор нь агуулагдаж байгаа халдвартай вирусийн тоог таньцлах замаар тогтоож эсрэгтөрөгчийн тухайн цувралын чанарыг тодорхойлж болох юм. Идэвхгүйжүүлсэн вакцины тухайд халдварлах чанарыг идэвхгүйжүүлэлт хийхээс өмнө тогтоодог. Идэвхгүйжүүлсэн вакцины тухайд хийсэн идэвхгүйжүүлэлтийнхээ кинетикийг тодорхойлон вакцины аюулгүй чанарыг илтгэх үзүүлэлтийг тогтоогоод цаашдын үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаанд мөрдөнө. Бүрэн идэвхгүйжүүлсэн болохыг үйлдвэрлэлийн төгсгөлд *in-vitro* эсийн өсгөврийн аргаар баталгаажуулна. Вакцинд хэрэв халдвартай вирус үлдсэн бол тэднийг маш өчүүхэн түвшинд байсан ч илрүүлж чадахыг баталгаатай харуулахын тулд хоргүй чанарын дээрх шалгалтуудад зорчуулалтын тоо болон хэмжээгээрээ хангалттай материалыг халдвар хийхэд ашиглана.

2.2.4. Эцсийн бүтээгдэхүүний цувралын шалгалт

i) Ариун чанар

Мал эмнэлэгт хэрэглэх биологийн материалын ариун чанар болон бохирдол агуулаагүй болохыг шалгах шинжилгээг 1.1.9 дүгээр бүлэгт оруулав.

ii) Ялгагдах чанар

Олон цэнтэй вакцин үйлдвэрлэж байгаа байгууламжид хэд хэдэн омог өсгөвөрлөж байгаа бол тэдгээрийн ялгагдах чанарын шинжилгээгээр ҮВДӨВ-ийн бусад омог агуулаагүй болохыг нотлон харуулна.

iii) Аюулгүй чанар

Аюулгүй чанарын шалгалт нь вакциныг бүх замаар олгоход түүнд эзэн амьтнаас үзүүлэх хэсэг газрын болон тогтолцооны аливаа хэвийн бус гаж урвалыг илрүүлэхэд оршино. Бүртгүүлэх өргөдөлд бүтээгдэхүүний аюулгүй чанарыг нотлон харуулаагүй, баталгаажуулаагүй, үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаа нь 1.1.8 дугаар бүлэгт заасан шаардлагад нийцээгүй бол цуврал бүрийн аюулгүй чанарыг шалгах шаардлагатай.

Аюулгүй чанарын шалгалт нь хоргүй чанарын шалгалтаас өөр юм (дээр үзэх).

Амьд вакцин хээлтэй үнээнд хэрэглэхэд аюулгүй болохыг (хээлд халдвар дамжаагүйг) нотлон харуулсан аль эсхүл түүнийг хээлтэй малд хэрэглэхгүй байх анхааруулгатайгаар лиценз олгосон байх ёстой. Эс эмгэгшүүлэх нөлөөтэй омог бүхий амьд вакциныг орогномол халдвартай үхэрт салстын өвчин үүсгэх эрсдэлтэй гэсэн зохих ёсны анхааруулгатайгаар гаргана.

iv) Цувралын идэвх

Найрлагыг нь эцэслэсэн ҮВДӨ-ий вакциныг үйлдвэрлэгчийн албан ёсны зааврын дагуу хэрэглэхэд дархлааны хариу урвал шаардагдах хэмжээгээр үзүүлэх ёстой. Дархлааны хангалттай хариу урвал үүсгэхэд шаардагдах халдвартай вирус болон/эсхүл эсрэгтөрөгчийн хамгийн бага тоон үзүүлэлтийг тодорхойлж гаргана. Үйлдвэрлэл явуулах хугацааны цуврал бүрд хийх хяналт-шинжилгээнд *in-vitro* аргыг ашиглана.

2.3. Бүртгэх, албан ёсны зөвшөөрөл/лиценз олгоход тавих шаардлага

2.3.1. Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаа

Вакциныг бүртгүүлэхийн тулд вакцин үйлдвэрлэх, түүний чанарыг шалгах шинжилгээнд холбогдох бүх дэлгэрэнгүй мэдээллийг эрх бүхий холбогдох байгууллагад илгээнэ. Эрх бүхий байгууллагаас өөрөөр тогтоогоогүй бол энэхүү мэдээллийг үйлдвэрлэлийн ердийн цувралын 1/3-аас багагүй хэмжээтэй вакцины дараалсан гурван цувралаас бэлтгэж өгнө.

ҮВДӨ-ий вакцин үйлдвэрлэх стандартчилагдсан арга байхгүй боловч суурин, өнхөрдөг савтай эсхүл цийдмэг хэлбэрийн (бичил зөөвөрлөгч) эсийн өсгөвөр бүхий ердийн лабораторийн арга хэрэглэж болно. Идэвхгүйжүүлсэн вакциныг бинари этиленимин эсхүл бета-пропиолактоноор идэвхгүйжүүлэх зэрэг ердийн аргаар үйлдвэрлэж болно (Park & Bolin, 1987). Янз бүрийн хүчлүүр хэрэглэнэ.

2.3.2. Аюулгүй чанарын шаардлага

Аюулгүй чанарыг вакцины дан тун, ихэсгэсэн тун (зөвхөн амьд вакцинд), давтан тунг (эхний вакцинжуулалтын хэрэв шаардлагатай бол анхны давтан вакцинжуулалт/сэргээх вакцинжуулалтын) ашиглан *in-vivo* шалгах ба эсрэгтөрөгчийг ачаалж болох хамгийн дээд тун болон вакцины найрлагаас хамаарч вакцинд орсон бүх омгийг оролцуулна.

i) Вакцин хэрэглэх заалттай болон үл хэрэглэх амьтанд аюулгүй байх чанар

Амьд болон идэвхгүйжүүлсэн аль аль вакцины эцсийн найрлагын аюулгүй чанарыг эхийн гаралтай эсрэгбие агуулаагүй мэдрэмтгий өсвөр тугалд болон хээлтэй үнээнд шалгаж үнэлнэ. Вакцин хэрэглэсний дараа хэсэг газрын аливаа урвал, хээлтэй үнээний тухайд хээлд үзүүлэх аливаа нөлөөг шалгана. Сулруулсан амьд вакцин мал хорогдоход хүргэж болзошгүй дархлаа дарангуйлах нөлөө үзүүлж болзошгүй. Бас орогномол халдвартай малд амьтны тавлаг байдлыг алдагдуулан салстын өвчин үүсгэхэд нөлөөлж болзошгүй. Ийм учраас ҮВДӨВ-ийн эс эмгэгшүүлдэг омог агуулсан сулруулсан амьд вакцинаар орогномол халдвартай малыг вакцинжуулж болохгүй. Сулруулсан амьд вакцин олгосон малаас вакцинжуулаагүй ойр хавьтлын малд вакцины омог дамжих боломжгүй байх ёстой.

ii) Сулруулсан/амьд вакцин эргэж хоруу чанартай болох болон хүрээлэн буй орчинд нөлөөлөх байдал

Наад зах нь эх омогт тогтоож өгсөн зорчуулалтын хязгаарт хүрсэн болон түүнээс давсан зорчуулалт бүхий вирусийн эх омгийг өсвөр тугалд халдварлуулж өвчний илрэл гараагүй болохыг баталгаажуулна. Хэрэв сулруулсан амьд вакциныг хээлтэй малд хэрэглэхээр зөвшөөрөл авсан бол эргэж хоруу чанартай болсон эсэхийн шалгалтыг мөн хээлтэй амьтанд хийж шалгана. Сулруулсан амьд вакцины омог вакцинжуулаагүй “ойр хавьтлын” амьтанд дамждаггүй байх ёстой.

iii) Сэрэмжлүүлэг (аюултай нөхцөл)

ҮВДӨВ-ийг хүний эрүүл мэндэд аюул учруулахгүй гэж үздэг. Бичил амь судлалын зохистой дадлын стандарт нь лабораторид вирустэй ажиллахад тохирсон байх хэрэгтэй. Сулруулсан амьд вакциныг ашиглаж байгаа хүмүүст аюулгүй болохыг тогтоож өгнө. Гэвч амьд эсхүл идэвхгүйжүүлсэн вакцинд ашигласан хүчлүүр хүнд гэмтэл учруулж болзошгүй. Вакцин олгогчийг аливаа аюулаас хамгаалахын тулд хэрэв вакциныг өөртөө санамсаргүй тарьчих тохиолдолд эмнэлгийн тусламж авах хэрэгтэй талаар үйлдвэрлэгч зохих ёсоор анхааруулж түүнийг бүтээгдэхүүний шошго, танилцуулгад оруулна.

2.3.3. Үр нөлөөнд тавих шаардлага

Вакцины хамгаалах идэвхийг ийлдсийн сөрөг урвалтай болон вирусгүй тугалд халдвар хийж улмаар эсрэгбиеийн түвшинд хяналт-шинжилгээ хийж тогтооно. Эсрэгтөрөгчийн агууламжийг ЕЛИЗА аргаар шинжилж тухайн вакцинд тогтоосон шаардагдах стандарт түвшинд түүнийг тохируулна. Бүх вакцинд ашиглахад тохирох

стандартчилсан шинжилгээний арга байдаггүй. Халдварлах чанарыг таньцлах замаар амьд вакцины цувралын чанарыг шалгаж болно. Вакцины үйлдвэрлэлийн цуврал бүрд тухайн цувралыг тэнцүүлэх шалгуур болж өгдөг дархлаа төрүүлэх идэвх, аюулгүй чанарыг шалгана. Эцэслэн найруулж үйлдвэрлэсэн ҮВДӨ-ий вакциныг үйлдвэрлэгчийн баталгаат зааврын дагуу хэрэглэхэд дээр дурдсан шигээр дархлааны хангалттай хариу урвал үүсгэж байгааг нотлон харуулах ёстой.

2.3.4. ХАВАЯ (халдвар авсан, вакцин тарьсан мал ялган илрүүлэх) стратегид нийцэх вакцин

Халдвар авсан, вакцинжуулсан малыг ялгаварлах ажилд тохирох ҮВДӨВ вакцин өнөө хүртэл худалдаанд гараагүй байна. Бакуловирус ашиглан экспреслэсэн ҮВДӨ-ий вирусийн E2 гликопротейнд суурилсан дэд нэгжийн туршилтын вакциныг зохион бүтээсэн боловч худалдаанд гараагүй байна. Судлагчид эсрэгбиеийг гарлаар нь ялган тогтоож чадах ийлдэс судлалын аргатай хамтатган хэрэглэх “маркер вакцин” бий болгох найдвар төрүүлж байна. Шилжмэл гентэй ургамал, алфавирусийн репликон, генетикийн өөрчлөлттэй пестивирус ашиглан экспресслэсэн ҮВДӨВ-ийн E2 ДНХ вакцин, ҮВДӨВ E2 дэд нэгжийн вакциныг бас боловсруулаад байна.

2.3.5. Дархлаа үргэлжлэх хугацаа

Худалдаанд гарсан вакцинаар вакцинжуулсны дараа үүссэн эсрэгбиеийн үргэлжлэх хугацааны талаар нийтлэгдсэн баримт, мэдээлэл цөөн байна. Вакцин хэрэглэх зааварт хоёр удаа тарьж эхлээд жил бүр сэргээн вакцинжуулахыг зөвлөсөн байдаг. Амьсгалын замын өвчнөөс эсхүл хээлд халдварлахаас хамгаалж чадах эсрэгбиеийн түвшин ямар байх талаар хуримтлагдсан баримт мэдээлэл ховор байна (Bolin & Ridpath, 1995; Howard нар, 1989) (Brownlie нар, 1995). Худалдаанд гаргасан янз бүрийн найрлагатай олон вакцин байгаа ба тэдгээрт ашигладаг төрөл бүрийн хүчлүүрийн нөлөөгөөр вакцины үр нөлөө нь янз бүрийн хугацаатай байж болох юм. Ийм учраас худалдаанд гарсан вакцин тус бүрийн үүсгэх дархлааны үргэлжлэх хугацааг тухайн вакцинд тогтоочихсон хамгаалалтын хугацааны төгсгөл үеэр зориудын халдвар хийх аргаар тогтооно.

2.3.6. Тогтвортой чанар

ҮВДӨ-ий вакцины тогтвортой чанарыг шалгах батлагдсан зааварчилгаа байхгүй боловч сулруулсан амьд вакциныг (хөлдөөн хатаасан) 4°C-д хадгалбал наад зах нь 1 жил идэвхээ хадгална гэж үзэж болно. Идэвхгүйжүүлсэн вакцины хүчинтэй хугацаа 4°C-д илүү урт байна. Аль ч хэлбэрийн вакцины хүчинтэй хугацаа нам температурт уртсах боловч энэ нь үхүүлсэн вакцины хувьд хүчлүүрээс хамаарна. Бөөний эсрэгтөрөгчийг эцсийн бүтээгдэхүүний найрлагад оруулахаасаа өмнө нам температурт хөлдүүгээр нь найдвартай хадгалж байгаад үйлдвэрлэх вакцины цувралд ашиглахын өмнө чанарыг нь *in-vitro* аргаар хянаж шалгах хэрэгтэй.

Эш татсан эх сурвалж

BAKER J.C. (1995). The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. *Vet. Clin. North. Am. – Food Animal Practice*, **11**, 425–445.

BAUERMANN F.V., FLORES E.F. & RIDPATH J.F. (2012). Antigenic relationships between bovine viral diarrhea virus 1 and 2 and HoBi virus: possible impacts on diagnosis and control. *J. Vet. Diagn. Invest.* (official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians), **24**, 253–261.

BAUERMANN F.V., HARMON A., FLORES E.F., FALKENBERG S.M., REECY J.M. & RIDPATH J.F. (2013). *In vitro* neutralization of HoBi-like viruses by antibodies in serum of cattle immunized with inactivated or modified live vaccines of bovine viral diarrhea viruses 1 and 2. *Vet. Microbiol*., **166**, 242–245.

BOLIN S.R. & RIDPATH J.F. (1992). Differences in virulence between two noncytopathic bovine viral diarrhea viruses in calves. *Am. J. Vet. Res.,* **53**, 2157–2163.

BOLIN S.R. & RIDPATH J.F. (1995). Assessment of protection from systemic infection or disease afforded by low to intermediate titers of passively acquired neutralizing antibody against bovine viral diarrhea virus in calves. *Am. J. Vet. Res.*, **56**, 755–759.

BROWNLIE J. (1985). Clinical aspects of the bovine virus diarrhoea/mucosal disease complex in cattle. *In Practice,* **7**, 195–202.

BROWNLIE J. (1990). The pathogenesis of bovine virus diarrhoea virus infections. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.,* **9**, 43– 59.

BROWNLIE J., CLARKE M.C., HOOPER L.B. & BELL G.D. (1995). Protection of the bovine fetus from bovine viral diarrhoea virus by means of a new inactivated vaccine. *Vet. Rec.,* **137**, 58–62.

CHEN M., LIU M., LIU S. & SHANG Y. (2021). HoBi-like pestivirus infection leads to bovine death and severe respiratory disease in China. *Transbound. Emerg. Dis*., **68**, 1069–1074.

CORNISH T.E., VAN OLPHEN A.L., CAVENDER J.L., EDWARDS J.M., JAEGER P.T., VIEYRA L.L., WOODARD L.F., MILLER D.R. & O'TOOLE D. (2005). Comparison of ear notch immunohistochemistry, ear notch antigen-capture ELISA, and buffy coat virus isolation for detection of calves persistently infected with bovine viral diarrhea virus. *J. Vet. Diagn. Invest.,* **17**, 110–117.

DUFFELL S.J. & HARKNESS J.W. (1985). Bovine virus diarrhoea-mucosal disease infection in cattle. *Vet. Rec.*, **117**, 240– 245.

EDWARDS S. (1990). The diagnosis of bovine virus diarrhoea-mucosal disease in cattle. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz*., **9**, 115–130.

FRAY M.D., MANN G.E., BLEACH E.C.L., KNIGHT P.G., CLARKE M.C. & CHARLESTON B. (2002). Modulation of sex hormone secretion in cows by acute infection with bovine viral diarrhoea virus. *Reproduction,* **123**, 281-289.

FULTON R.W., SALIKI J.T., BURGE L.J., DOFFAY J.M., BOLIN S.R., MAES R.K., BAKER J.C. & FREY M.L. (1997). Neutralizing antibodies to type-1 and type-2 bovine viral diarrhea viruses – detection by inhibition of viral cytopathology and infectivity by immunoperoxidase assay. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.,* **4**, 380–383.

FUX R. & WOLF G. (2012). Transient elimination of circulating bovine viral diarrhoea virus by colostral antibodies in persistently infected calves: a pitfall for YBДӨB-eradication programs? *Vet. Microbiol*., **161**, 1.

GIVENS M.D., RIDDELL K.P., WALZ P.H., RHOADES J., HARLAND R., ZHANG Y., GALIK P.K., BRODERSEN B.W., COCHRAN A.M., BROCK K.V., CARSON R.L. & STRINGFELLOW D.A. (2007). Noncytopathic bovine viral diarrhea virus can persist in testicular tissue after vaccination of peri-pubertal bulls but prevents subsequent infection. *Vaccine,* **25**, 867–876.

HOFFMANN B., DEPNER K., SCHIRRMEIER H. & BEER M. (2006). A universal heterologous internal control system for duplex real-time RT-PCR assays used in a detection system for pestiviruses *J. Virol. Meth*ods, **136**, 200–209.

HOUE H., BAKER J.C., MAES R.K., RUEGG P.L. & LLOYD J.W. (1995). Application of antibody titers against bovine viral diarrhea virus (YBДӨB) as a measure to detect herds with cattle persistently infected with YBДӨB. *J. Vet. Diagn. Invest.,* **7**, 327–332.

HOWARD C.J., CLARKE M.C. & BROWNLIE J. (1989). Protection against respiratory infection with bovine virus diarrhoea virus by passively acquired antibody. *Vet. Microbiol.,* **19**, 195–203.

LETELLIER C. & KERKHOFS P. (2003). Real-time PCR for simultaneous detection and genotyping of bovine viral diarrhea virus. *J. Virol. Methods,* **114**, 21–27.

MCGOLDRICK A., BENSAUDE E., IBATA G., SHARP G. & PATON D. J. (1999). Closed one-tube reverse transcription nested polymerase chain reaction for the detection of pestiviral RNA with fluorescent probes. *J. Virol. Methods,* **79**, 85–95.

MCGOWAN M.R. & KIRKLAND P.D. (1995). Early reproductive loss due to bovine pestivirus infection. *Br. Vet. J*., **151**, 263– 270.

MEYLING A. (1984). Detection of BVD virus in viraemic cattle by an indirect immunoperoxidase technique. *In:* Recent Advances in Virus Diagnosis (CEC Seminar), McNulty M.S. & McFerran J.B., eds. Martinus Nijhoff, Belfast, UK, 37– 46.

MOENNIG V. & LIESS B. (1995). Pathogenesis of intrauterine infections with bovine viral diarrhea virus. *Vet. Clin. North. Am.,* **11**, 477–487.

MOENNIG V., HOUE H. & LINDBERG A. (2005). BVD control in Europe: current status and perspectives*. Anim. Health Res. Rev.,* **6**, 63–74.

NISKANEN R. (1993). Relationship between the levels of antibodies to bovine viral diarrhoea virus in bulk tank milk and the prevalence of cows exposed to the virus. *Vet. Rec.,* **133**, 341–344.

PARK B.K. & BOLIN S.R. (1987). Molecular changes of bovine viral diarrhea virus polypeptides treated with binary ethylenimine, beta-propiolactone and formalin. *Res. Rep. Rural Dev. Admin.* (*L&V*) *Korea,* **29**, 99–103.

PATON D.J., SANDS J.J. LOWINGS J.P., SMITH J.E., IBATA G., EDWARDS S. (1995). A proposed division of the pestivirus genus using monoclonal antibodies, supported by cross-neutralisation assays and genetic sequencing. *Vet. Res.,* **26**, 92– 109.

POSTLER T.S., BEER M., BLITVICH B.J., BUKH J., DE LAMBALLERIE X., DREXLER J.F., IMRIE A., KAPOOR A., KARGANOVA G.G., LEMEY P., LOHMANN V., SIMMONDS P., SMITH D.B., STAPLETON J.T. & KUHN J.H. (2023). Renaming of the genus Flavivirus to Orthoflavivirus and extension of binomial species names within the family Flaviviridae. *Arch. Virol.*, **168**, DOI: 10.1007/s00705-023-05835-1

READ A.J., GESTIER S., PARRISH K., FINLAISON D.S., GU X., O'CONNOR T.W. & KIRKLAND P.D. (2020). Prolonged Detection of Bovine Viral Diarrhoea Virus Infection in the Semen of Bulls. *Viruses*, **12**, 674. doi: 10.3390/v12060674. PMID: 32580423; PMCID: PMC7354483.

SCHWEIZER M., STALDER H., HASLEBACHER A., GRISIGER M., SCHWERMER H. & DI LABIO E. (2021). Eradication of bovine viral diarrhoea (BVD) in cattle in Switzerland: Lessons taught by the complex biology of the virus. *Front. Vet. Sci.,* **8**, 702730.

VILCEK S., PATON D.J., DURKOVIC B., STROJNY L., IBATA G., MOUSSA A., LOITSCH A., ROSSMANITH W., VEGA S., SCICLUNA M.T. & PALFI V. (2001). Bovine viral diarrhoea virus genotype 1 can be separated into at least eleven genetic groups. *Arch. Virol.,* **146**, 99–115.

VOGES H., HORNER G.W., ROWE S. & WELLENBERG G.J. (1998). Persistent bovine pestivirus infection localized in the testes of an immuno-competent, non-viremic bull. *Vet. Microbiol*., **61**, 165–175.

ZIMMER G., SCHOUSTRA W. & GRAAT E. A.M. (2002). Predictive values of serum and bulk milk sampling for the presence of persistently infected YBДӨB carriers in dairy herds. *Res. Vet. Sci.,* **72**, 75–82.

*

* *

ЖИЧ: Үхрийн вируст диарей өвчнийг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори бий.
(ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас мэдээлэл авна уу:
https://www.oie.int/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

Үхрийн вируст диарей өвчнийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудтай холбогдож авна уу.

ЖИЧ: 1990 ОНД АНХ, 2024 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

ХАВСРАЛТ 1: ҮХРИЙН ВИРУСТ ДИАРЕЙ

ШИНЖИЛГЭЭНИЙ ЗОРИЛГО: ПОПУЛЯЦИ ХАЛДВАРГҮЙГ ТОГТООХ

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	**Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн**	**Тохирол**	**Тохирлыг тооцоход ашигласан популяци**	**Баталгаажуулалтын тайлан**	**Давуу тал: шинжээчийн санал**	**Дутагдалтай тал: шинжээчийн санал**	**Эх сурвалж**
УТ-ПГУ-аар (бодит цагийн) нуклейн хүчил илрүүлэх +++	Чихний им (арьс), цус, сүү	Өвчинтэй тэмцэх томоохон арга хэмжээний хүрээнд аж ахуйн буюу практик нөхцөлд аргын гүйцэтгэлийг нотлон харуулсан.	Швейцар, Герман, Ирландын үхрийн бүх популяци	Эх сурвалжаас үзэх	- Мэдрэх чанар өндөр - Түргэн - Өндөр бүтээмжтэй - Олон улсын хэмжээнд сайн нэвтэрсэн - Шинжилгээний аргаас хамааран ҮВДӨВ-ийн бүх зүйлийг илрүүлнэ - Шинжилгээний аргаас хамааран ҮВДӨВ 1 ба 2-р хэвшлийг ялгаварлан оношлох боломжтой - Орогномол болон түр зуурын халдварыг илрүүлнэ - Ур чадварын сорилд ашиглах төрөл бүрийн пестивирусийн омгоос бүрдсэн багц/панель бэлэн байдаг. - Эхээс дамжсан эсрэгбиеэс үл хамааран, арьсны биопсийн дээжид вирусийн РНХ илрүүлэх учраас орогномол халдвартай малыг бага залуу байхад нь илрүүлнэ. - Өвчинтэй тэмцэх хэрэгжиж байгаа болон хэрэгжиж дууссан хөтөлбөрт амжилттай хэрэглэгдэж байна.	- Сорьц цуглуулах явцад эсхүл лабораторийн орчноос бохирдож улмаар хуурамч эерэг үр дүн үзүүлж болзошгүй - Тусгай багаж төхөөрөмж шаардагдана - Вирусийн РНХ илрүүлснээр халдвартай вирус байгаа гэж үзэж болохгүй	Presi & Heim (2010). *Vet. Microbiol.*, 142, 137–142 Schweizer нар, (2021) *Front. Vet. Sci.,* 8, 702730 Wernike нар, (2017). *Pathogens*, 6 (4) Graham нар, (2021) *Front. Vet. Sci*., 8, 674557
Эсрэгбие илрүүлэх ЕЛИЗА+++	Бөөний (танкны) сүү, цус	Эсрэгбие тодорхойлоход хэрэглэж байгаа ЕЛИЗА-аас (худалдааны/дотоодын) хамаарч ОМч болон ОӨч өөр өөр байна			- Хэрэглэхэд хялбар, өртөг бага - Сүүний дээж цуглуулах нь малд сөрөг нөлөөгүй арга бөгөөд багц/танктай сүүнээс дээж авч сүргийн түвшинд халдварыг илрүүлэх боломжтой. - Багц сүүг шинжлэн тухайн сүрэгт орогномол халдвар байгааг сайн мэдэрч илрүүлнэ	- Вакцины болон бусад пестивирусийн үүсгэсэн эсрэгбиетэй зарим солбицох урвал үзүүлж болзошгүй - Орогномол халдвартай мал ихэвчлэн ийлдсийн сөрөг урвал үзүүлнэ - Эр, сувай, ширгэсэн, залуу үхэргүй сүргээс бэлтгэсэн багц сүү	Beaudeau нар, (2001). *Vet. Microbiol.,* **80**, 329–337 Lanyon нар, (2013). *Aust. Vet. J*., **91**, 52–56.

Эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА+++	Ийлдэс, бүхэл цус, арьс биопси	Вирус ялгах аргатай харьцуулахад ОМч 67–100%, ОӨч 98.8–100% байсан байна.			Хэрэглэхэд харьцангуй хялбар, хурдан, өртөг багатай (вирус ялгах болон ПГУ-тай харьцуулахад) бөгөөд олон тооны дээжийг өндөр бүтээмжээр шинжлэхэд тохиромжтой. Эсийн өсгөврийн лаборатори шаардлагагүй.	Тугалын ийлдсэнд ЕЛИЗА-аар эсрэгтөрөгч илрүүлэхэд уураг сүүгээр тугалд дамжсан эхийн эсрэгбие саад болж болзошгүй. Чихний имний дээжид энэ нөлөө бага байна. Урагт орогномол халдвар илрүүлэх боломжгүй.	Lanyon нар, (2013). *Vet.. J.* **199**, 201–209;
Вирус ялгах +	Ийлдэс, бүхэл цус	Лавлагаа (уламжлалт) арга гэж үздэг; Бодит цагийн УТ-ПГУ-тай харьцуулахад ОМч <90%; ОӨч ~100%	Байхгүй	Албан ёсоор баталгаажаагүй түүхэн хуримтлагдсан мэдээлэл	- Өвөрмөц чанар өндөр - Халдвартай вирус байгаа эсэхийг ялган тогтооно	- Эс өсгөвөрлөх тусгайлсан чадвар, чадавх болон ҮВДӨВ агуулаагүй материал шаардлагатай. - Эхийн гаралтай эсрэгбие агуулагдаж байвал мэдрэх чанар буурна	Байхгүй
Вирус саармагжуулах урвал +	Ийлдэс	ОМч & ОӨч хоёул онцгой өндөр, >99%иас их. Ийлдэс судлалын уламжлалт лавлагаа арга	Байхгүй	Албан ёсоор баталгаажаагүй түүхэн хуримтлагдсан мэдээлэл	Мэдрэх чанар маш өндөр	- Ашиглаж байгаа вирусийн омгоос хамаарч АМч хэлбэлзэнэ - Эсийн өсгөвөр, сайн чанарын дээж шаардлагатай - Ажиллагаа ихтэй, үр дүн гаргахад 5 өдөр шаардагдана. - Өртөг өндөр	Байхгүй

ХАВСРАЛТ 2: ҮХРИЙН ВИРУСТ ДИАРЕЙ

ШИНЖИЛГЭЭНИЙ ЗОРИЛГО: ШИЛЖИЛТ ХӨДӨЛГӨӨНИЙ ӨМНӨ БОДГАЛЬ ХАЛДВАРГҮЙГ ТОГТООХ

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	**Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн**	**Тохирол**	**Тохирлыг тооцоход ашигласан популяци**	**Баталгаажуулалтын тайлан**	**Давуу тал: шинжээчийн санал**	**Дутагдалтай тал: шинжээчийн санал**	**Эх сурвалж**
Вирус ялгах ++	Ийлдэс, бүхэл цус.	Лавлагаа арга гэж үздэг; Бодит цагийн УТ-ПГУ-тай харьцуулахад ОМч <90%; ОӨч ~100%	Байхгүй	Албан ёсоор баталгаажаагүй түүхэн хуримтлагдсан мэдээлэл	- Өвөрмөц чанар өндөр - Халдвартай вирус байгаа эсэхийг ялган тогтооно	- Эс өсгөвөрлөх тусгайлсан чадвар, чадавх болон ҮВДӨВ агуулаагүй материал шаардлагатай. - Эхийн гаралтай эсрэгбие агуулагдаж байвал мэдрэх чанар буурна; ОМч дээд түвшинд хүргэхэд хэдэн долоо хоног шаардагдана	Edmonson нар, (2007); Toker & Yesilbag (2021)
Эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА +++	Ийлдэс, бүхэл цус, арьсны биопси (ж. нь: чихний им)	Вирус ялгах аргатай харьцуулж мэдээлснээр ОМч 67–100%, ОӨч 98.8–100%. Гэхдээ ОМч болон ОӨч ихэвчлэн маш өндөр байдаг.			Хэрэглэхэд харьцангуй хялбар, хурдан, өртөг багатай (вирус ялгах болон ПГУ-тай харьцуулахад) бөгөөд олон тооны дээж шинжлэхэд тохиромжтой. Эсийн өсгөврийн лаборатори шаардлагагүй.	Тугалын ийлдсэнд ЕЛИЗА-аар эсрэгтөрөгч илрүүлэхэд уураг сүүгээр тугалд дамжсан эхийн эсрэгбие саад болно Чихний имний дээжид энэ нөлөө бага байна. Урагт орогномол халдвар илрүүлэх боломжгүй.	Zimmer нар, (2004). *Vet. Microbiol.,* **100**, 145–149
УТ-ПГУ аар (бодит цагийн) нуклейн хүчил илрүүлэх +++	Чихний им (арьс), цус; хамрын эсхүл амны арчдас	-Шинжилгээнээс хамарч аналитизийн мэдрэх чанар нь нэг урвалд 10 геномын хувилбараас бага хэмжээтэй байх боломжтой - Чихний им болон ийлдэсний 5 дээжээс бүрдэх ур чадварын сорилын багцад үндэслэсэн тохирол 98.73%		Лавлах эх сурвалжаас үзэх	- Мэдрэх чанар маш өндөр - Түргэн - Өндөр бүтээмжтэй - Олон улсын хэмжээнд сайн нэвтэрсэн - Шинжилгээний аргаас хамааран ҮВДӨВ-ийн бүх зүйлийг илрүүлнэ - ҮВДӨВ 1 ба 2-р хэвшлийг шинжилгээний аргаас хамааран ялгаварлах боломжтой - Орогномол болон түр зуурын халдварыг илрүүлнэ - Ур чадварын сорилд ашиглах төрөл бүрийн пестивирусийн омгийн багц бэлэн бий. - Эхээс гаралтай эсрэгбиеийн	- Сорьц цуглуулах явцад эсхүл лабораторийн орчноос бохирдсны улмаас хуурамч эерэг үр дүн үзүүлж болзошгүй - Тусгай багаж төхөөрөмж шаардагдана.	

					нөлөө ордоггүй арьсны биопсийн дээжид вирусийн РНХ илрүүлнэ		
Вирус саармагжуулах урвал ++	Ийлдэс	ОМч & ОӨч хоёул онцгой өндөр буюу >99%-иас их. Ийлдэс судлалын уламжлалт арга.	Байхгүй	Албан ёсоор баталгаажаагүй түүхэн хуримтлагдсан мэдээлэл	- Мэдрэх чанар маш өндөр - Халдвар аваагүй мал вирус/эсрэгтөрөгчийг шинжлэхэд ерөнхийдөө сөрөг дүн үзүүлнэ - Хээлтэй биш бол эерэг урвалтай үнээнээс халдвар арилдаг. Бухын хувьд өөр. Хорио цээрийн хугацаанд ийлдэсний урвал арилсан ч үрийн шингэнд вирус байх эрсдэлтэй. Эерэг урвалтай цөөн бух олон сараар үргэлжлэх төмсөгний орогномол халдвартай болсон байж болзошгүй халдвар байхгүйг нотлоход хэд хэдэн удаа үрийн шингэнд бодит цагийн ПГУ-аар шинжлэх ёстой. Вирус хэрэв байвал эсрэгбие далдалчих учраас вирус ялган авах арга хангалттай бус байна.	- Ашиглаж байгаа вирусийн омгоос хамаарч АМч хэлбэлзэнэ - Эсийн өсгөвөр, сайн чанарын дээж шаардлагатай - Шинжилгээ хийхэд хугацаа их зарах буюу үр дүн гаргахад 5 өдөр шаардагдана - Ажиллагаа ихтэй - Вирусийн биологийн онцлогоос шалтгаалаад (орогномол халдвартай төрсөн тугал тухайн халдвар авсан вирусийн омогт өвөрмөц хариу урвал үзүүлэх боломжгүй байдаг) эсрэгбие илрээгүй үхэр орогномол халдвартай (ҮВДӨВ-ээр тайван бус популяцид) байдаг.	Байхгүй
Эсрэгбие илрүүлэх ЕЛИЗА++	Цус, мал тус бүрийн сүүний дээж	Эсрэгбие (жишээ нь бүтцийн (Е2) болон бүтцийн бус (NS2-3) уургийн эсрэгбие) тодорхойлоход хэрэглэж байгаа (худалдааны/дот оодын) ЕЛИЗА-аас хамаарч ОМч болон ОӨч өөр өөр байна			- Хэрэглэхэд хялбар, өртөг бага - Сүүний сорьц цуглуулах нь малд сөрөг нөлөөгүй арга юм. - Цочмог халдварыг батлах зорилгоор дээжийг хосоор шинжлэх боломжтой. - Солбицох бохирдол/хуурамч эерэг урвал үзүүлэхээс сэргийлж танктай сүүнээс бус харин дэлэнгээс шууд саасан сүү хэрэглэдэг.	- Тугалын ийлдсэнд ЕЛИЗА-аар эсрэгтөрөгч илрүүлэхэд уураг сүүгээр тугалд дамжсан эхийн эсрэгбие саад болж болзошгүй. Иймд тугалыг төрснөөс хойш 9 сар өнгөрч эхийн эсрэгбие арилсан үед шинжлэх ёстой. - Орогномол халдвартай мал ийлдэсний сөрөг урвал үзүүлэх ба өөр сүрэгт нийлүүлсэн тохиолдолд тухайн сүрэгт нөлөөлж болзошгүй - Сүүг шинжлэх нь зөвхөн сааж байгаа үнээгээр хязгаарлагдана.	Байхгүй

ХАВСРАЛТ 3: ҮХРИЙН ВИРУСТ ДИАРЕЙ

ШИНЖИЛГЭЭНИЙ ЗОРИЛГО: ӨВЧНИЙГ УСТГАХ БОДЛОГО ХЭРЭГЖҮҮЛЭХЭД ХЭРЭГЛЭХ

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	**Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн**	**Тохирол**	**Тохирлыг тооцоход ашигласан популяци**	**Баталгаажуулалтын тайлан**	**Давуу тал: шинжээчийн санал**	**Дутагдалтай тал: шинжээчийн санал**	**Эх сурвалж**
Эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА +++	Ийлдэс, бүхэл цус, арьсны биопси	ОМч 67%–100%, ОӨч 98.8–100% гэж мэдээлэгдсэн			Хэрэглэхэд харьцангуй хялбар, хурдан, өртөг багатай (вирус ялгах болон ПГУ-тай харьцуулахад) бөгөөд олон тооны дээж шинжлэхэд тохиромжтой. Эсийн өсгөврийн лаборатори шаардлагагүй.	Тугалын ийлдсэнд ЕЛИЗА-аар эсрэгтөрөгч илрүүлэхэд уураг сүүгээр тугалд дамжсан эхийн эсрэгбие саад болж болзошгүй. Чихний имний дээжид энэ нөлөө бага байна. Урагт орогномол халдвар илрүүлэх боломжгүй.	Zimmer нар, (2004). *Vet. Microbiol.,* **100**, 145–149
УТ-ПГУ -аар (бодит цагийн) нуклейн хүчил илрүүлэх +++	Чихний им (арьс), цус; сүү; хамрын эсхүл амны арчдас	Өвчинтэй тэмцэх томоохон арга хэмжээний хүрээнд аж ахуйн буюу практик нөхцөлд аргын гүйцэтгэлийг нотлон харуулсан.	Швейцар, Герман, Ирландын үхрийн бүх популяци	Лавлах эх сурвалжаас үзэх	- Маш мэдрэмтгий - Түргэн - Өндөр бүтээмжтэй - Олон улсын хэмжээнд сайн нэвтэрсэн - Шинжилгээний аргаас хамааран ҮВДӨВ-ийн бүх зүйлийг илрүүлнэ - ҮВДӨВ 1 ба 2-р хэвшлийг шинжилгээний аргаас хамааран ялгаварлана - Орогномол болон түр зуурын халдварыг илрүүлнэ - Ур чадварын сорилд ашиглах төрөл бүрийн пестивирусийн омгоос бүрдсэн багц бий. - Эхээс дамжсан эсрэгбиеэс үл хамааран, арьсны биопсийн дээжид вирусийн РНХ илрүүлэх учраас орогномол халдвартай малыг залуу байхад нь илрүүлнэ. - Өвчинтэй тэмцэх хэрэгжиж байгаа болон хэрэгжиж дууссан хөтөлбөрт амжилттай хэрэглэгдэж байна.	- Хуурамч эерэг дүн гарахад хүргэдэг бохирдлыг дээж цуглуулахдаа эсхүл лабораторид авах боломж - Тусгай багаж төхөөрөмж шаардагдана	- Presi & Heim (2010). *Vet. Microbiol.,* **142**, 137–142 Schweizer нар,. (2021). *Front. Vet. Sci.*, **8**, 702730 - Wernike нар, (2017). *Pathogens*, **6** (4) - Graham нар, (2021). *Front. Vet. Sci.,* **8**, 674557

Эсрэгбие илрүүлэх ЕЛИЗА++	Бөөний (танкны) сүү, цус	Эсрэгбие (жишээ нь бүтцийн (E2) болон бүтцийн бус (NS2-3) уургийн эсрэгбие) тодорхойлоход хэрэглэж байгаа (худалдааны/дотоодын) ЕЛИЗА-аас хамаарч ОМч болон ОӨч өөр өөр байна			- Хэрэглэхэд хялбар, өртөг бага - Сүүний сорьц цуглуулах нь малд сөрөг нөлөөгүй арга юм. - Цочмог халдварыг батлах зорилгоор дээжийг хосоор шинжлэх боломжтой. - Тодорхой насны мал ж.нь өвчнийг устгасны дараа төрсөн мал сонгож аваад бас саалийн үнээнд багц/танктай сүүг шинжлэх замаар саалийн популяци халдваргүй болохыг популяцийн түвшинд хянан-шинжилж байхад ашиглаж болно,	- Вакцины болон бусад пестивирусийн үүсгэсэн эсрэгбиетэй зарим солбицох урвал үзүүлж болзошгүй - Орогномол халдвартай мал ихэвчлэн ийлдсийн сөрөг урвал үзүүлнэ - Эр, сувай, ширгэсэн, залуу үхэргүй сүргээс бэлтгэсэн багц сүү	Laureyns нар, (2010)
Вирус ялгах ++	Ийлдэс, бүхэл цус.	Лавлагаа арга гэж үздэг; Бодит цагийн УТ-ПГУ-тай харьцуулахад ОМч <90%; ОӨч ~100%	Байхгүй	Албан ёсоор баталгаажаагүй түүхэн хуримтлагдсан мэдээлэл	- Өвөрмөц чанар өндөр - Халдвартай вирус байгаа эсэхийг ялган тогтооно - Ээдрээтэй тохиолдлын статусыг баталгаажуулах болон нуклейн хүчлийн дараалал тогтоох гэх мэт нарийвчилсан шинжилгээнд хэрэглэх өсгөвөр гаргахад хэрэглэнэ	- Эс өсгөвөрлөх тусгайлсан чадвар, чадавх болон ҮВДӨВ агуулаагүй материал шаардлагатай. - Эхийн гаралтай эсрэгбие агуулагдаж байвал мэдрэх чанар буурна	Байхгүй
Вирус саармагжуулах урвал ++	Ийлдэс	ОМч & ОӨч хоёул онцгой өндөр, >99%иас их. Ийлдэс судлалын уламжлалт лавлагаа арга	Байхгүй	Албан ёсоор баталгаажаагүй түүхэн хуримтлагдсан мэдээлэл	- Мэдрэх чанар маш өндөр - Өвчнийг устгасны дараа вирусгүй популяцийн статусыг баталгаажуулахад хэрэглэнэ - Тандалтад ЕЛИЗА урвалыг ашиглаж байгаа үед баталгаажуулах шинжилгээнд хэрэглэнэ	- Ашиглаж байгаа вирусийн омгоос хамаарч АМч хэлбэлзэнэ - Эсийн өсгөвөр, сайн чанарын дээж шаардлагатай - Үр дүнг гаргахад 5 өдөр шаардагдана.	Байхгүй

ХАВСРАЛТ 4: ҮХРИЙН ВИРУСТ ДИАРЕЙ

ШИНЖИЛГЭЭНИЙ ЗОРИЛГО: ЭМНЭЛ ЗҮЙН ТОХИОЛДЛЫГ БАТАЛГААЖУУЛАХ

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	**Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн**	**Тохирол**	**Тохирлыг тооцоход ашигласан популяци**	**Баталгаажуулалтын тайлан**	**Давуу тал: шинжээчийн санал**	**Дутагдалтай тал: шинжээчийн санал**	**Эх сурвалж**
Вирус илгах ++	Ийлдэс, бүхэл цус, эдийн хандмал	Лавлагаа арга гэж үздэг; Бодит цагийн УТ-ПГУ-тай харьцуулахад ОМч <90%; ОӨч ~100%	Байхгүй	Албан ёсоор баталгаажаагүй түүхэн мэдээлэл	- Өвөрмөц чанар өндөр - Халдвартай вирус байгаа эсэхийг ялган тогтооно - Эс эмгэгшүүлэгч омог байгаа эсэхийг ялган тогтоож салстын өвчнийг баталгаажуулахад чухалчлан хэрэглэх арга - Шинж чанарыг нь дэлгэрэнгүй тогтооход зориулсан вирусийн өсгөвөр гарна	- Эс өсгөвөрлөх тусгайлсан чадвар, чадавх болон ҮВДӨВ агуулаагүй материал шаардлагатай - Эхийн гаралтай эсрэгбие байвал мэдрэх чанар буурна - Бактерийн бохирдолгүй, өндөр чанарын дээж шаардагдана	– Meyling (1984)
Эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА+++	Ийлдэс, бүхэл цус, арьс биопси	Мэдээлэгдсэн ОМч 67–100%, ОӨч 98.8–100%			Хэрэглэхэд харьцангуй хялбар, хурдан, өртөг багатай (вирус ялгах болон ПГУ-ын аргатай харьцуулахад) бөгөөд олон тооны дээж шинжлэхэд тохиромжтой. Эсийн өсгөврийн лаборатори шаардлагагүй.	Тугалын ийлдсэнд ЕЛИЗА-аар эсрэгтөрөгч илрүүлэхэд уураг сүүгээр тугалд дамжсан эхийн эсрэгбие саад болж болзошгүй. Чихний имний дээжид энэ нөлөө бага байна. Урагт орогномол халдвар илрүүлэх боломжгүй.	
УТ-ПГУ аар (бодит цагийн) нуклейн хүчил илрүүлэх +++	Цус; хамар ам, нүдний салстын арчдас (амьсгалын замын өвчний тохиолдолд) эсхүл баасны арчдас (гэдэс дотрын өвчин)	- Шинжилгээнээс хамарч аналитизийн мэдрэх чанар нь нэг урвалд 10-аас бага геномын хуулбар.		Лавлах эх сурвалжаас үзэх	- Маш мэдрэмтгий - Түргэн - Өндөр бүтээмжтэй - Олон улсын хэмжээнд сайн нэвтэрсэн - Шинжилгээний аргаас хамаарч бүх ҮВДӨВ-ийг илрүүлнэ - ҮВДӨВ 1 ба 2-р хэвшлийг шинжилгээний аргаас хамааран ялгаварлана - Орогномол болон түр зуурын халдварыг илрүүлнэ - Ур чадварын сорилд ашиглах төрөл бүрийн пестивирусийн омгийн багцтай - Эхээс гаралтай эсрэгбиеийн нөлөө ордоггүй арьсны биопсийн дээжид вирусийн РНХ илрүүлнэ	- Сорьц цуглуулах явцад эсхүл лабораторийн орчноос бохирдож улмаар хуурамч эерэг үр дүн үзүүлж болзошгүй - Тусгай багаж төхөөрөмж шаардагдана.	- Hoffmann нар, (2006). *J. Virol. Methods*, **136**, 200–209.

ИГХ аргаар эсрэгтөрөгч илрүүлэх ++	Эсрэгтөрөгч илрүүлэх эсхүл *in-situ* эрлийзжүүлгийн арга хэрэглэж байгаа бол нуклеин хүчил иллрүүлэх бэхжүүлсэн эд эсхүл хөлдөөсөн зүсмэг	Бусад аргатай харьцуулахад ОМч бага; ОӨч өндөр	Байхгүй	Байхгүй	- Эдийн гэмтлийн тархалтыг үнэлэх, гэмтсэн хэсэг дэх вирусийн бүрэлдэхүүн хэсгийг дүрсжүүлэх боломжтой болгоно	- Техникийн хувьд шаардлага өндөр, формалинаар бэхжүүлсэн эдэд эсрэгтөрөгч илрүүлэхэд хэрэглэх урвалж цөөн	
Эсрэгбие илрүүлэх ЕЛИЗА+	Ийлдэс, цус, ургийн, үнхэлцгийн, цээжний хөндийн шингэний хос дээж	Эсрэгбие (жишээнь бүтцийн (E2) болон бүтцийн бус (NS2-3) уургийн эсрэгбие) тодорхойлоход хэрэглэж байгаа ЕЛИЗА - аас (худалдааны/до тоодын) хамаарч ОМч болон ОӨч өөр өөр байна			- Хэрэглэхэд хялбар, өртөг бага. - Цочмог халдварын үед ийлдэсний урвалын өөрчлөлтөөр-эерэгжилттийг нотлон харуулах замаар цочмог халдвар болон орогномол халдварыг ялгаварлахад ашиглаж болно - Зулбасан хээл, зулбадсанд эсрэгбие илрэх нь хээлийн хоёрдугаар хагаст ураг халдвар авсныг батална	- Вакцины болон бусад пестивирусийн үүсгэсэн эсрэгбиетэй зарим солбицох урвалд орж болзошгүй - Орогномол халдвартай мал ихэвчлэн иийлдэсний сөрөг урвал үзүүлнэ (хос дээжний хоёулд)	

ХАВСРАЛТ 5: ҮХРИЙН ВИРУСТ ДИАРЕЙ

ШИНЖИЛГЭЭНИЙ ЗОРИЛГО: ХАЛДВАРЫН ТАРХАЛТ – ТАНДАЛТ

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	**Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн**	**Тохирол**	**Тохирлыг тооцоход ашигласан популяци**	**Баталгаажуулалтын тайлан**	**Давуу тал: шинжээчийн санал**	**Дутагдалтай тал: шинжээчийн санал**	**Эх сурвалж**
Эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА+++	Ийлдэс, бүхэл цус	Мэдээлэгдсэн ОМч 67–100%, ОӨч 98.8–100%			Хэрэглэхэд харьцангуй хялбар, хурдан, өртөг багатай (вирус ялгах болон ПГУ-ын аргатай харьцуулахад) бөгөөд олон тооны дээж шинжлэхэд тохиромжтой. Эсийн өсгөврийн лаборатори шаардлагагүй.	Тугалын ийлдсэнд ЕЛИЗА-аар эсрэгтөрөгч илрүүлэхэд уураг сүүгээр тугалд дамжсан эхийн эсрэгбие саад болж болзошгүй. Чихний имний дээжид энэ нөлөө бага байна. Урагт орогномол халдвар илрүүлэх боломжгүй.	Sarrazin нар, (2013). *Prev. Vet. Med.,* **108**, 28– 37
УТ-ПГУ -аар (бодит цагийн) нуклейн хүчил илрүүлэх +++	Чихний им (арьс), цус; сүү		Швейцар, Герман, Ирландын үхрийн бүх популяци	Лавлах эх сурвалжаас үзэх	- Маш мэдрэмтгий - Түргэн - Өндөр бүтээмжтэй - Олон улсын хэмжээнд сайн нэвтэрсэн - Шинжилгээнээс хамаарч ҮВДӨВ-ийн бүх зүйлийг илрүүлнэ - ҮВДӨВ 1 ба 2-р хэвшлийг шинжилгээний аргаас хамааран ялгаварлана - Орогномол болон түр зуурын халдварыг илрүүлнэ - Ур чадварын сорилд ашиглах төрөл бүрийн пестивирусийн омгийн багц бий - Эхээс дамжсан эсрэгбиеийн нөлөө ордоггүй арьсны биопсийн дээжид вирусийн РНХ илрүүлнэ	- Хуурамч эерэг дүн гарахад хүргэдэг бохирдлыг дээж цуглуулахдаа эсхүл лабораторид авах боломж -Тусгай багаж төхөөрөмж шаардагдана	- Presi & Heim (2010). *Vet.* Microbiol., **142**, 137–142 - Schweizer нар, (2021). *Front. Vet. Sci.*, **8**, 702730 - Wernike нар, (2017) *Pathogens*, **6** (4) - Graham нар, (2021). F*ront. Vet. Sci.,* **8**, 674557

Эсрэгбие илрүүлэх ЕЛИЗА+++	Бөөний (танкны) сүү, цус	Эсрэгбие (ж. нь бүтцийн (E2) болон бүтцийн бус (NS2-3) уургийн эсрэгбие) тодорхойлоход хэрэглэж байгаа (худалдааны/дотоодын) ЕЛИЗА-аас хамаарч ОМч болон ОӨч өөр өөр байна			- Хэрэглэхэд хялбар, өртөг бага - Сүүний сорьц цуглуулах нь малд сөрөг нөлөөгүй арга юм. -	- Вакцины болон бусад пестивирусийн үүсгэсэн эсрэгбиетэй зарим солбицох урвалд орж болзошгүй - Орогномол халдвартай мал ихэвчлэн ийлдсийн сөрөг урвал үзүүлнэ - Эр, сувай, ширгэсэн, залуу үхэргүй сүргээс бэлтгэсэн багц сүү	Barrett нар, (2022) *BMC Vet Res.*, **18**, 210.
Вирус саармагжуулах урвал +	Ийлдэс	ОМч & ОӨч хоёул онцгой өндөр, >99%иас их. Ийлдэс судлалын уламжлалт лавлагаа арга	Байхгүй	Албан ёсоор баталгаажаагүй түүхэн хуримтлагдсан мэдээлэл	- Мэдрэх чанар маш өндөр - ҮВДӨВ-ийн зүйлд хамаарах эсрэгбиеийг ялгаварлана	- Ашиглаж байгаа вирусийн омгоос хамаарч АМч хэлбэлзэнэ - Эсийн өсгөвөр, сайн чанарын дээж шаардлагатай - Үр дүнг гаргахад 5 өдөр шаардагдана. Ажиллагаа их, хэт олон дээж шинжлэх боломжгүй, - Халдвартай болон вакцинжуулсан малыг хооронд нь ялгаварлахгүй	Байхгүй

ХАВСРАЛТ 6: ҮХРИЙН ВИРУСТ ДИАРЕЙ

ШИНЖИЛГЭЭНИЙ ЗОРИЛГО: БОДГАЛЬ ЭСХҮЛ ПОПУЛЯЦИЙН ДАРХЛААНЫ СТАТУСЫГ ТОГТООХ (ВАКЦИНЖУУЛАЛТЫН ДАРАА)

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	**Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн**	**Тохирол**	**Тохирлыг тооцоход ашигласан популяци**	**Баталгаажуулалтын тайлан**	**Давуу тал: шинжээчийн санал**	**Дутагдалтай тал: шинжээчийн санал**	**Эх сурвалж**
Эсрэгбие илрүүлэх ЕЛИЗА+++	Мал тус бүрийн сүү, багц сүү, цус (бүтцийн болон бүтцийн бус уургийн эсрэгбие)	Эсрэгбие (ж. нь бүтцийн (E2) болон бүтцийн бус (NS2-3) уургийн эсрэгбие) тодорхойлоход хэрэглэж байгаа (худалдааны/дотоодын) ЕЛИЗА-аас хамаарч ОМч болон ОӨч өөр өөр байна			- Хэрэглэхэд хялбар, өртөг бага - Сүүний сорьц цуглуулах нь малд сөрөг нөлөөгүй арга юм.	- Вакцины болон бусад пестивирусийн үүсгэсэн эсрэгбиетэй зарим солбицох урвалд орж болзошгүй - Халдвартайг вакцинжуулсан малаас ялгаварлах чадамжийг чухалчилдаг ч одоо байгаа вакцинууд болон ийлдэс судлалын аргыг ашиглаад түүнийг хэрэгжүүлэх маш хэцүү. Сулруулсан амьд вакцины тухайд ийлдэс судлалын шинжилгээгээр илрүүлж болох “маркер” генийг генетикийн өөрчлөлтөөр суулгасан эсхүл гээснээс бусад нөхцөлд ХАВАЯ арга байхгүй. - Орогномол халдвартай мал ийлдэсний сөрөг урвал үзүүлнэ - Эр, сувай, ширгэсэн, залуу үхэргүй сүргээс бэлтгэсэн багц сүү	Raue нар, (2011). *Vet. J.,* 187, 330–334; Gonzalez нар, (2014). *Vet J.,* **199**, 424–428. Sayers нар, (2015). *Vet. J.,* **205**
Вирус саармагжуулах урвал +++	Ийлдэс	ОМч & ОӨч хоёул онцгой өндөр, >99%иас их. Ийлдэс судлалын уламжлалт лавлагаа арга	Байхгүй	Албан ёсоор баталгаажаагүй түүхэн хуримтлагдсан мэдээлэл	- Мэдрэх чанар маш өндөр - Дархлааны түвшинтэй сайн шүтэлцээ-харилцан хамааралтай - ҮВДӨВ-ийн зүйл хоорондын солбицох бохирдлоос хамгаална	- Ашиглаж байгаа вирусийн омгоос хамаарч АМч хэлбэлзэнэ - Эсийн өсгөвөр, сайн чанарын дээж шаардлагатай - Ажиллагаа ихтэй, үр дүнг гаргахад 5 өдөр шаардагдана. Халдвартай болон вакцинжуулсан малыг хооронд нь ялгаварлахгүй	Байхгүй

ҮХРИЙН ЦЭЭЖ ӨВЧИН (*MYCOPLASMA MYCOIDES* SUBSP. *MYCOIDES* -ИЙН ХАЛДВАР)[1]

А. УДИРТГАЛ

Үхрийн цээж өвчин (ҮЦӨ) нь үхрийн овгийн амьтанд *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (*Mmm*)-оор үүсдэг амьсгалын замын хавьтал халдварт өвчин бөгөөд мал аж ахуйд ихээхэн хохирол учруулж богино хугацаанд тархана. Иймээс ҮЦӨ-ий халдвар бүхий улс олон улсын худалдаанд амьд мал гаргах боломжгүй болдог.

Mmm нь микоплазм буюу өөрөөр хэлбэл хивэгч амьтанд эмгэг төрүүлэгч болох “микоидесийн кластер” гэж нэрлэгдэх таван микоплазмын бүлэгт (Manso-Silvan нар, 2009) багтах эсийн ханагүй бактери (молликут) юм. Эдгээр таван микоплазм нь гадаад шинж чанар болон генийн хэвшлийн хувьд нийтлэг учраас оношилгооны энгийн шинжилгээнд солбицох урвал үзүүлнэ. *Mmm*-д хамгийн ойр хамааралтай нь ихэнхдээ ямаанаас олддог *M. mycoides* subsp *capri* (*Mmc*) юм.

Байгаль дээр *Mmm* нь зөвхөн *Bos* төрөлд багтах хивэгчдэд, өөрөөр хэлбэл ихэвчлэн үхэр болон бөхт үхэр, түүнчлэн сарлаг (*Bos grunniens*) болон усны одос үхэрт (*Bubalus bubalis*) ч халдварлана (Santini нар, 1992). Африк, Португал, Энэтхэгт хонь болон ямаанаас *Mmm*-ийг ялган авсан байна (Srivastava нар, 2000). Зэрлэг амьтдын дотроос Америкийн бизонд (*Bison bison*) уг өвчний нэг тохиолдол бүртгэгдсэн бөгөөд Африкийн одос үхэр (*Syncerus caffer*) болон бусад зэрлэг хивэгчдэд тохиолдоогүй байна. Өвчний эпидемиологид бог мал, зэрлэг амьтны оролцоо байхгүй ба ҮЦӨ хүнд халдварлахгүй.

Байгаль дээр халдвар авсан амьтанд өвчний нууц үе 3 долоо хоногоос 6 сар хүртэл үргэлжилнэ. Үхэрт эмнэл зүйн шинж тэмдэг хэт цочмогоос эхлээд цочмог болон (*Syncerus caffer*) архаг байдлаар илэрнэ.

Үүсгэгч нь түргэн тархдаг уг өвчний цочмог явцтай үед тэжээл усандаа дургүй болох, халуурах, амьсгал давчдах, амьсгаадах, ханиалгах, нус гоожих зэрэг амьсгалын хямралын шинж тэмдэг илэрдэг бол өвчин архагших шатад өвчний үүсгэгч удаан хугацаагаар орогнож болзошгүй. Цээжний гялтан хальсыг хамарсан нэг талын уушгины үрэвсэл нь энэ өвчний өвөрмөц хэв шинжит гэмтэл юм. Өвчин архагших үед эмнэл зүйн шинж тэмдэг улам бүдэрч халдвартай амьтныг олж тогтооход илүү төвөгтэй болно. Ийм тохиолдолд үхэжсэн эд гэж нэрлэгдэх гэржсэн хэв шинжит гэмтэл уушгинд үүсэж болно. Халдвартай байж болзошгүй эдгээр “чимээгүй” тээгч амьтан сүрэг дотор халдвар мэдэгдэлгүй орогноод байх шалтгаан болж өвчин үргэлжлэх болон тархахад чухал үүрэг гүйцэтгэнэ.

Европт ҮЦӨ-ийг 18 дугаар зуунаас эхлэн мадаггүй оношилдог болсон бөгөөд энэ өвчин 19 дүгээр зууны сүүлийн хагаст үхрийн худалдаагаар дамжин дэлхий даяар тархжээ. 20 дугаар зууны эхээр ихэнхдээ өвчний дэгдэлтийг дарах шаардлагаар устгах стратеги (Англи, Америк) эсхүл вакцинжуулаад дараа нь шаардлагаар устгах (Австрали) стратеги хэрэгжүүлсний үр дүнд энэ өвчнийг олон улс оронд устгасан байна. 1999 онд Португал улсад гарсан ҮЦӨ энэ өвчний Европт гарсан сүүлийн тохиолдол болсон бол эдүгээ Африкийн Сахарын цөлөөс урагш орших олон улс оронд ҮЦӨ энзоот тархалттай хэвээр байна. Азийн зарим улс оронд энэ өвчний байдал тодорхойгүй байна. Энэ өвчний хамгийн сүүлийн мэдээллийг ДМАЭМБ-ын WAHIS интерфеис[2] -ээр лавлана уу.

Практикт ҮЦӨ нь цусан халдвар эсхүл өөр бусад микоплазмоз зэрэг амьсгалын үйл ажиллагааг хямруулдаг бусад өвчинтэй андуурагдаж болзошгүй. ҮЦӨ дэгдэх үед онош баталгаажуулах аргагүй бол антибиотикийн эмчилгээ хийхэд хүргэж болзошгүй.

[1] *Mycoplasma mycoides* -ийн багцийг Мансо-Силван нар (2009) ангилал зүйн хувьд нягтлан хянаснаас хойш жижиг колони (ЖК) болон том колони (ТК) гэж цаашид нэрлэхээргүй болсон

[2] http://www.woah.org/en/animal-health-in-the-world/the-world-animal-health-information-system/the-world-animal- health-information-system/

Хүн *Mmm*-ийн халдвар авах эрсдэлтэй болох нь тогтоогдоогүй. Энэ гарын авлагын 1.1.4. Биоаюулгүй ажиллагаа ба биохамгаалал: *Мал эмнэлгийн лаборатори, туршилтын амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандарт* бүлэгт тодорхойлсны дагуу эрсдэлийн дүн шинжилгээгээр тусгаарлалтын арга хэмжээг тогтооно. ҮЦӨ-өөр тайван нутагт биоаюулгүйн II ангиллын лабораторид *Mmm*-тэй харьцаж ажиллах бол энэ өвчин энзоот тархалттай бүсэд биоаюулгүйн I ангиллын лаборатори хангалттай. Бүх арга ажиллагаандаа лабораторийн ажлын зохистой дадлыг мөрдөнө.

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Өвчний эхний шинж тэмдэг бүдэгхэн, огт илрэхгүй эсхүл уушгины хүндэрсэн үрэвслийнхээс ялгагдахааргүй байдаг учраас ҮЦӨ-ийг эмнэл зүйн шинж тэмдгээр оношлох нь найдваргүй. Ийм учраас ҮЦӨ-ийг эмгэг судлал, бичил амь судлал, молекулын болон ийлдэс судлалын оношилгооны аргаар судалж шинжилнэ. ҮЦӨ-ий үед илрэх эмгэг хувиралт илт ялгагдам, өвөрмөц учраас мал төхөөрөх үйлдвэр/цэг дээр амьтны уушгийг шалгаж үзэн ҮЦӨ-ийг тандах нь уг өвчний хяналт-шинжилгээний практик арга юм.

Өвчний дэгдэлтийг баталгаажуулахын тулд үүсгэгч бичил биетнийг ялган авч дүйн тогтоох нь зүйтэй. ҮЦӨ-ийг оношлоход хэрэглэдэг лабораторийн аргыг 1 дүгээр хүснэгтэд жагсаав.

Хүснэгт 1. ҮЦӨ-ийг оношлоход одоо хэрэглэж байгаа лабораторийн арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	**Зорилго**					
	Популяци халдваргүйг тогтоох	Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд	Эмнэл зүйн тохиолдлыг батлах	Халдварын тархалт тогтоох – тандалт	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгчийг илрүүлэх[(a)]						
In-vitro өсгөвөрлөн ялгах (зүйлийг ялган тогтоох арга дагалдана)	+	–	–	+++	–	–
Молекулын шууд шинжилгээ (ПГУ)	–	–	–	++	–	–
Дархлааны хариу урвалыг илрүүлэх						
ХХУ	+++	++	+++	++	+++	–
Иммунблот	++	++	++	++	++	–
ө-ЕЛИЗА	+++	++	+++	++	+++	–

*Жич: ОдоогийнТ1 омгоор вакцинжуулсны дараа амьтны дархлааны статусыг тогтоох боломжтой шинжилгээний аргыг өнөөгийн байдлаар энэ хүснэгтэд тодорхойлоогүй болно.

Түлхүүр үг:
+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
++ энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй;
ө-ЕЛИЗА=Энзим холбоост дархлааны өрсөлдөөнт урвал;
ПГУ = Полимеразагийн гинжин урвал;
ХХУ = Хавсарга холбох урвал

(a) Үүсгэгч илрүүлэх төрөл бүрийн шинжилгээг эмнэл зүйн нэг ижил сорьцод хийх нь зүйтэй.

1. Үүсгэгчийг илрүүлэх

1.1. Сорьц

Сайн чанарын сорьц цуглуулах нь үүсгэгчийг ялган авах гол нөхцөл юм. Амьд амьтнаас эсхүл задлан шинжилгээний үед сорьцоос *Mmm*-ийг ялгаварлана. Амьтнаас авах сорьц нь:

хамрын арчдас эсхүл хамрын гоождос, гуурсан хоолой-цулцангийн эсхүл мөгөөрсөн хоолойг зайлсан шингэн, түүнчлэн долоо болон наймдугаар хавирга хоорондуур цээжний хөндийн доод хэсгээр хатгаж үжил үл үүсгэх аргаар цуглуулсан цээжний хөндийн шингэн байна. Задлан шинжилгээний үеэр авах сорьцод: уушгины гэмтэлтэй хэсэг, цээжний хөндийн шингэн (тунгалгийн шингэн), гуурсан хоолой-уушгины тунгалгийн зангилаа, үений үрэвсэлтэй амьтны үеийн шингэн тус тус орно. Уушгинаас сорьцыг гэмтсэн болон эрүүл хэсгийн заагаас авна.

Хамрын арчдас цуглуулахдаа микоплазмаас хамгаалах, эсийн хана бүхий бактери болон мөөгөнцрөөс сэргийлэхийн тулд зөөвөрлөлтийн орчин (пептон, глюкоз агуулаагүй зүрхний инфузэн шөл, 10% хөрөнгийн ханд, 20% дулаанаар боловсруулсан ийлдэс (адуу эсхүл гахай), 0.3% агар, 500 олон улсын нэгж [ОУН]/мл пенициллин, 0.2 г/литр цуу хүчлийн талли) ашиглана.

Цуглуулсан бүх сорьцыг хөргөгчийн 4°C-д байлгаж байгаад 24 цагийн дотор лабораторид хүргэнэ. Тэднийг хөлдөөж эсхүл –20°C-ээс нам температурт удаан хугацаагаар хадгална.

1.2. *In-vitro* өсгөвөрлөх

Дээжид эмгэг төрүүлэгч агуулагдах эсэх нь эмгэг үүсэн хөгжих үе шатаас ихээхэн хамаарах ба ялангуяа антибиотикоор эмчилсэн тохиолдолд шинжилгээгээр сөрөг үр дүн гарвал өвчний халдваргүй гэж дүгнэж болохгүй.

Mmm-нь хялбар өсгөвөрлөгддөг микоплазм хэдий ч түүнийг өсгөвөрлөхөд сонгомол тэжээлт орчин шаардагдана. Лавлагааны төрөл бүрийн лабораторид янз бүрийн найрлагатай нэжгээд тэжээлт орчин хэрэглэж байгаа ба тэдгээр нь үндсэндээ зүрхний инфузэн шөл эсхүл PPLO (уушги гялтан хальсны үрэвсэл төст бичил биетэн) шөл, 1–2.5% хөрөнгийн ханд, 10–20% адууны идэвхгүйжүүлсэн ийлдэс, 0.1% глюкоз, 1% триптоз, 0.0024% ДНХ бүхий үндсэн тэжээлт орчин агуулна. Бусад бактерийг ургуулахгүй байх үүднээс тэжээлт орчинд микоплазм угаасаа тэсвэртэй байдаг пенициллиний төрлийн антибиотик (жишээ нь 500 ОУН/мл пенициллин Жи) оруулж болно. Шөл эсхүл хатуу тэжээлт орчин аль алийг ашиглаж болно. Бэлтгэсэн бүх тэжээлт орчны чанарыг шалгах ба уг орчин нь бичил биетний өчүүхэн тарьцад агуулагдах цөөн удаа зорчуулсан *Mycoplasma* spp-ийн ургалтыг дэмждэг байх ёстой. Шинжилгээг зөв явуулах үүднээс уг шинжилж байгаа сэжигтэй дээжтэй зэрэгцүүлэн жиших омгийг өсгөвөрлөнө.

Бохирдуулагч бактерийг цөөлөхийн тулд эдийн дээжийг шөлтэй холин нухаж жижиглэсний дараа арав дахин шингэлээд шөл хийсэн таван хуруу шилэнд, бас хатуу тэжээлт орчин цутгасан таван аяганд тус тус тарьж халдварлуулна. Бохирдуулагч бактеригүй байлгах болон дээж тус бүрд хэрэглэх хуруу шил, аягыг цөөлөхийн тулд нухаж жижиглэсэн дээжийг 0.45 сүвтэй 25 мм-ийн шүүлтүүрээр шүүж болно. Хэрэв халдвартай байгаа бол цээжний хөндийн шингэн *Mmm*-ийн бараг цэвэр өсгөвөр болдог тул түүнийг шингэлэлгүй эсхүл шүүлгүйгээр шууд тарин халдварлуулж болно. Микоплазм өсгөвөрлөгдөх хамгийн сайн нөхцөл бүрдүүлэхийн тулд хуруу шил болон аягыг 5% CO_2 бүхий агаартай нөхцөлд 37°C-д 10 хүртэл хоног өсгөвөрлөн өдөр бүр үзэж шалгана. Энэ хугацаа өнгөрсний дараа ургалт илрээгүй бол дээжийг сөрөгт тооцно. Хэрэв дээж эерэг бол ихэвчлэн 2-4 хоногийн дотор шингэн тэжээлт орчин “сүүлт од” хэмээгдэх торгомсог, хэврэг утаслаг, нэгэн жигдийн булингартай болж харагдана. Дараагийн өдрүүдэд нэгэн жигд бүүдэгшиж сэгсрэхэд эргүүлэг үүсгэнэ. Агарын орчинд “нүдэлж шарсан өндөг” шиг харагдах голдоо нягтарсан сонгомол жижиг (1 мм голчтой) колони үүнэ. Энэ үед биохимийн урвал, шууд бус флюоресцент эсрэгбиеийн урвал (ФЭБШБУ), полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ) ашиглан колонийг ялган тогтооно.

1.3. Ялган дүйх биохимийн болон дархлаа судлалын шинжилгээний арга

Өнгөрсөн хугацаанд биохимийн сорилыг тогтмол хэрэглэж ирсэн ч өдгөө түүнийг бусад арга, тухайлбал ПГУ орлох болов. Биохимийн сорилоор тогтоож болох цөөн хэдэн гадаад шинж нь өвчин үүсгэгчийн зүйлүүдэд адилхан илрэх учраас дан биохимийн сорилоор *Mycoplasma*-ын зүйлийг нарийн ялган тогтоох боломжгүй юм. Ийм учраас өсгөврийг ялган тогтооход ПГУ гэх мэт молекулын шинжилгээ хийх нь зүйтэй. Түүх өгүүлэх үүднээс биохимийн аргыг дор оруулав.

Антибиотик нэмээгүй тэжээлт орчинд сэлгэн өсгөвөрлөж уг өсгөвөр нь ургалт саатуулагч бодис агуулаагүй тэжээлт орчинд анхныхаа хэлбэрт эргэж орсон микоплазм эсхүл L-

хэлбэрийн бактерийн өсгөвөр мөн эсэхийг шалгана. Энэ шалгалтыг хийсний дараа биохимийн арга хэрэглэн бичил биетнийг ялган тогтооно (Freundt нар, 1979).

Mmm-ийн өсгөвөржилтөд холестрол шаардагддаг бөгөөд дигитонинд (бусад *Mycoplasmatales* овгийн бусад бүх гишүүдийн адилаар) мэдрэмтгий, “хальс болон толбо” үүсгэхгүй, глюкозыг задлахгүй, тетразолиумын давсыг (агаартай болон агааргүй нөхцөлд) багасгаж, аргининыг задлахгүй, фосфатазагийн идэвхгүй, ууараг задлах идэвх сул эсхүл идэвхгүй байна.

Эдгээр шинжилгээний аргад өмнөхтэй адилхан тэжээлт орчны үндсэн орц (зүрхний инфузэн шөл, эсхүл Bacto PPLO шөл, адууны ийлдэс, хөрөнгийн хандны 25% уусмал, 0.2% ДНХ уусмал) дээр глюкозын задралд шаардагдах 50% глюкозын уусмал 1%-иар, арганины задралтад хэрэгтэй 38% давсны хүчлийн арганины уусмал 4%-иар, тетрозолумын бууралтыг шалгахад трифенил тетразолум хлорид 2%-ийн уусмал 1%, мөн түүнчлэн pH заагч (ө.х. фенолын улаан) нэмсэн тусгай найрлага бүхий тэжээлт орчныг зохион бүтээсэн байна. (ЖИЧ: трифенил тетразолум хлорид агуулсан тэжээлт орчинд pH заагч нэмэхгүй). Ууараг задлалтыг харуулахын тулд казейн агар болон/эсхүл бүлэгнүүлсэн ийлдэстэй агар дээр өсгөвөрлөнө.

Биохимийн шинж чанарыг тодорхойлсны дараа бичил биетнийг ялган тогтоосон үр дүнгээ баталгаажуулахын тулд дархлаа судлалын дараах аль нэг аргаар шинжилнэ. Үүнд: бичил биетний ургалт саатуулах зээрэнцгийн арга (УСЗА) (Freundt нар, 1979), флюоресцэнт эсрэгбиеийн арга (ФЭБА), иммун флюресценцийн арга (ИФА), агарын гельд нэвчин тунадасжих урвал (АГНТУ) (Provost, 1972), эсхүл мембран шүүлтүүр дээр толбо үүсгэх дархлаа судлалын арга (МШ-толбо) (Brocchi нар, 1993) зэрэг болно.

Илүү өвөрмөц, мэдрэмтгий, түргэн, гүйцэтгэх болон стандартчилахад хялбар ПГУ-д суурилсан шинжилгээний арга хөгжсөнтэй холбоотойгоор эдүгээ *Mmm*-ийг ялган тогтооход иммунохимийн аргыг хэрэглэдэг лаборатори цөөрчээ.

1.4. Үүсгэгчийг ялган тогтоох болон түүний хэвшил тогтоох молекулын арга-полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ)-д суурилсан шинжилгээний ага

ПГУ-д суурилсан шинжилгээ хийх, баталгаажуулах дэлгэрэнгүй аргыг 1.1.6 *Газрын амьтны халдварт өвчний оношлох шинжилгээний баталгаажуулалт* бүлгээс үзнэ үү.

Эмнэл зүйн сорьцоос бичил биетнийг өсгөвөрлөн ялгаж аваад *Mmm* байгааг түргэн, өвөрмөцөөр ялган тогтооход ПГУ-ыг сонгон хэрэглэх болов. Хөндлөн болон дамжмал бохирдол гаргахгүйн тулд ПГУ-д хэрэглэх урвалж бодис бэлтгэх, тэдгээртэй харьцахад ашигладаг лабораторийн өрөө тасалгааг ямагт тус тусад нь байлгана. *Mmm*-ийг ялган тогтоох ПГУ-ын аргыг олон мэргэжилтэн хөгжүүлсний дотроос хэдийгээр угсраа ПГУ илүү мэдрэмтгий боловч ч ПГУ-ын эхний шатны бүтээгдэхүүн дараагийн шатанд дамжин хэрэглэгддэгээс үүдэн хуурамч эерэг дүн үзүүлэх өндөр эрсдэлтэй байдаг учраас энэ урвалыг хэрэглэхгүй байхыг чухалчилна. Доторх бичил биетний эсийн тоо нь янз бүр, бас ПГУ-ыг саатуулагч бодис агуулж болзошгүй байдаг шинжилгээний дээжээс бус, харин өсгөврөөс зорилтот ДНХ-г олшруулах учраас шинжилгээний аргын мэдрэх чанар гол чухал асуудал биш юм. *Mmm*-ийн геномын *lppA* ген болон 16S rРНХ генийн CAP-21 мужийн ДНХ-д хамжаа болж холбогдохоор праймеруудыг өөр өөр мэргэжилтнүүд зохион бүтээж ПГУ-д ашиглан улмаар уг урвалаар олшруулсан бүтээгдэхүүн (ампликон)-ийг таслагч эндонуклеаза энзимээр боловсруулах (ПГУ-ТЭБ) эсхүл олшруулалтыг угсран хийх (угсраа-ПГУ) хийх замаар шинжилж байна (Хүснэгт2).

Хүснэгт 2. *Mmm*-ийг ялган тогтооход хэрэглэх энгийн ПГУ-ын арга

Зорилтот ДНХ бүхий муж*	Ампликон (х.с.)	Таслагч энзим	Бүтээгдэхүүний гидролиз (х.с.)	Өвөрмөц чанар	Лавлагаа
CAP-21 (байршил: 181628)	574	*Asn*I	379, 178 220, 178, 153	*Mmm Mmc*	Bashiruddin нар,1994
(байршил: 443115)	275		43	*Mmm*	Dedieu нар, 1994**

Ген *lppA* (угсраа)	717	–	*Mmm*	Miserez нар, 1997***
(байршил: 20061)	503			

**Mmm* PG1 дарааллыг олж үзэхээр Ген банкинд нэвтрэх дугаар: NC005364
**Прамерийн дараалал: MSC1: ATA-CTT-CTG-TTC-TAG-TAA-TAT-G; MSC2: CTG-ATT-ATG-ATG-ACA-GTG-GTC-A
*** Прамерийн дараалал:
SC3NEST1-L: ACA-AAA-AGA-AGA-TAT-GGT-GTT-GG болон SC3NEST1-R: ATC-AGG-TTT-ATC-CAT-TGG- TTG-G;
SC3VII: ATT-AGG-ATT-AGC-TGG-TGG-AGG-AAC болон SC3IV-S: TCT-GGG-TTA-TTC-GAA-CCA-TTA-T

Mmm-ыг ялган тогтооход тогтмол хэрэглэдэг ПГУ-ын жишээ болгон Баширудин нарын боловсронгуй болгосон ПГУ-ТЭБ аргачлалыг дор сийрүүлэв.

1.4.1. ДНХ ялган авах

ДНХ ялгах аливаа батлагдсан аргыг хэрэглэнэ. Энгийн бөгөөд үр дүнтэй арга нь: дан колони сонгоод ПГУ-ын зэрэглэлийн 100 мкл усанд уусган сэргээж эсийг задлан ДНХ-ийг чөлөөлөхийн тулд 15 минут буцалгаад дараа нь 8000 *g* хурдаар 1 минут хурилдуурдана. ДНХ агуулсан дээд талын шингэнийг 1/10 харьцаагаар ПГУ-ын зэрэглэлийн усаар шингэлж ПГУ-д хэрэглэнэ. Дан колониос авч 4 хоног өсгөвөрлөсөн шөлөн өсгөвөөс 500 мкл авч 8000 *g* хурдаар 1 минут хурилдуурдаад тунашийг ПГУ-ын зэрэглэлийн 100 мкл усанд уусган сэргээж дээр дурдсаны дагуу буцалгах ба хурилдуурдана. Дээд талын шингэнийг 1/10 харьцаагаар шингэлсний дараа 1 мкл авч ПГУ-ын темплат болгон ашиглана.

1.4.2. ПГУ-аар олшруулах

i) Мастер холимог бэлтгэх

Нийлэгжүүлсэн олигонуклеотидийг TE buffer (Трис-ЭТДА [этилен диамин тетра цууны хүчил]) буферт уусган 100 мкМоль төвшрүүлэгтэй болгоно. Энэхүү нөөц уусмал –20°C-д наад зах нь 4 жил тогтвортой байна. Нөөц уусмалыг ½ -оор шингэлэн 50 мкМоль эцсийн төвшрүүлэгтэй ажлын уусмал бэлтгэнэ. ПГУ-ын 25 мкл эцсийн эзлэхүүнд дараах бодис агуулагдана:

	Төвшрүүлэг	Нэгж урвалын эзлэхүүн (нийт эзлэхүүн 25 мкл)	Урвал дахь эцсийн төвшрүүлэг
ПГУ зэрэглэлийн ус	–	16 мкл	–
Урвалын $MgCl_2$ агуулаагүй буфер	10 ×	2.5 мкл	1×
$MgCl_2$	25 мМ	3 мкл	3 мМ
dNTPs	10 мМ	1 мкл	400 мкМ
Праймер MM450*	50 мкМ	0.5 мкл	1 мкМ
Праймер MM451**	50 мкМ	0.5 мкл	1 мкМ
Taq полимераза	5U/мкл	0.5 мкл	2.5 U
ДНХ темплат	1 мкл		

*дараалал: 5’-GTA-TTT-TCC-TTT-CTA-ATT-TG-3’
**дараалал: 5’-AAA-TCA-AAT-TAA-TAA-GTT-TG-3’

ii) Олшруулалтын нөхцөл

Шинжлэх дээжийн ДНХ темплатаас 1 мкл эсхүл эерэг хяналт (*Mmm*-хэвшлийн PG1 омгийн ДНХ) эсхүл сөрөг хяналт (ус)-ыг холимогт нэмнэ. Дараах нөхцөлийг мөрдөн олшруулна: 94°C-д 1 минутаар 30 мөчлөг, 50°C-д 1 минут, 72°C-д 2 минут, дараа нь 4°C-д орхино.

iii) Олшруулсан бүтээгдэхүүнийг илрүүлэх

ДНХ-г олшруулсны дараа тусдаа өрөөнд оруулж ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг 1.5%-ийн агарозын гельд ачаалж 90 V-д 2 цаг электрофорез явуулна. Гэрэл цацаргадаг тохирох будгаар будсаны дараа UV гэрлээр харахад эерэг дээж болон эерэг хяналтад 574 хос суурь бүтээгдэхүүн харагдах бол сөрөг хяналтад байхгүй байна.

1.4.3. Таслагч эндонуклеазагаар үйлчлэх шинжилгээний арга (REA)

ПГУ-ын урвалын холимог 2 мкл, 5 нэгж *Asn*I (2 мкл), 1х буфер агуулсан 10 мкл урвалын орчныг 37°C-д 1 цаг байлган ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг энзимээр үйлчлүүлэн тасална. 2%-ийн агарозын гельд 100 V-д 1 цаг электрофорез явуулж гарсан үр дүнг дээрхийн адилаар харна.

Энзимээр таслагдсан бүтээгдэхүүний хэмжээг 2 дугаар хүснэгтэд үзүүлсэн хэмжээг үндэслэн бичил биетнийг ялган тогтооно.

Жич: Эмнэл зүйн сорьцод ПГУ-аар *Mmm*-ийг шууд илрүүлэх, ялган тогтоох аргыг хараахан баталгаажуулаагүй байгаа бөгөөд дээжид ПГУ саатуулагч байх, бичил биетний тоо нь цөөдөх, бусад бактери агуулагдсанаас шалтгаалан мэдрэх болон өвөрмөц чанар нь буурдаг учраас дээрх зорилгыг энгийн ПГУ хангахгүй байж магадгүй. ПГУ-ын бүтээгдэхүүн нийлэгжин бий болохын хэрээр геномоос өвөрмөц ген олширч байгааг илтгэх гэрэл цацаргалтыг мэдрэн хэмждэг, ийм ч учраас энгийн ПГУ-тай харьцуулахад *Mmm*-ийг илрүүлэх мэдрэх чанараар 2– 3 log илүү бодит цагийн ПГУ-ыг хэрэглэх замаар дээрх асуудлыг гаргахгүй байж болно (Lorenzon нар, 2008). Цээжний хөндийн шингэн зэрэг дээж шинжлэхдээ дээжийг буцалган дараа нь хурилдуурдаж дээд талын шингэн хэсгээс ДНХ-ийг ялгаж аваад ПГУ явуулна. Уушгины эдийн тухайд ДНХ ялгах цомог эсхүл фенолхлорформоор ДНХ-ийг ялган авсны дараа ПГУ явуулна.

1.4.4. *Mmm* омгийн хэвшил тогтоох

ДНХ-ийн дараалал тогтооход гарсан дэвшил *Mmm* омгийн хэвшил тогтооход ихээхэн ахиц авчрав. Эдүгээ хэд хэдэн *Mmm*-ийн геномын мэдээллийг цахимаар[3] авч ашиглах боломжтой байна. Гэвч *Mmm*-ийн геном олон удаа дахин эмхэрдэг эсхүл оруулга ДНХ үүсдэг учраас бүтэн геномыг харьцуулахад төвөгтэй. Энэ асуудлыг гаргахгүйн тулд омгуудыг маш нарийн ялгаварлахаас гадна олон локусын урт дараалал тогтоох (MLST) арга боловсруулсан нь омгийг өвөрмөцөөр ялган тогтоох, омгийн түүхэн хөгжлийг шинжлэх, генийн дараалалд орсон өөрчлөлтийн цаг хугацааг тоймлох боломж олгоно (Dupuy нар, 2012).

2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ

Ийлдэс судлалын аргаар бодгаль амьтныг шинжлэхэд хуурамч эерэг болон хуурамч сөрөг үр дүн үзүүлж болзошгүй учраас ҮЦӨ-ий ийлдэс судлалын шинжилгээг бодгалийг шинжлэхэд бус харин тодорхой нэг сүргийн эсхүл бүс нутгийн мал, амьтны бүлгийн түвшинд хэрэглэж үр дүнг боловсруулна. Бодгаль амьтныг шинжлэх нь тухайн амьтан үүсгэгчийн өвөрмөц эсрэгбие үүсэхээс өмнө хэдэн сараар үргэлжилдэг өвчний эхний үе шатад байгаа, аль эсхүл маш цөөн хувьд нь ийлдсийн эерэг урвал хадгалагддаг архаг өвчтэй байгаа аль нь болохыг тогтоох аргагүй болгодог. Хуурамч эерэг үр дүн (2%) гарах гол шалтгаан нь бусад микоплазмтай, ялангуяа *M. mycoides* кластерт багтах бусад микоплазмтай ийлдэс судлалын солбицох урвалд орох явдал юм. Шинжилгээний үр дүнг задлан шинжилгээ, бактери судлалын шинжилгээгээр болон амьтныг төхөөрөх үед авсан цусанд хийх ийлдэс судлалын шинжилгээгээр баталгаажуулна.

Халдвар илрүүлэх тандалт, өвчнийг устгах хөтөлбөр хэрэгжүүлэхэд хавсарга холбох урвал (ХХУ), энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА) хэрэглэхийг зөвлөдөг. Өвөрмөц чанар өндөр иммунблотын арга өргөн хүрээний тандах шинжилгээнд хэрэглэхэд тохиромжгүй бол харин баталгаажуулах шинжилгээнд ач холбогдолтой.

[3] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/GenomesGroup.cgi?taxid=656088

2.1. Хавсарга холбох урвал (өвчнөөр тайван болсныг тогтооход хэрэглэхийг зөвлөдөг)

Кэмпбелл болон Турнер нарын өөрчилсөн ХХУ-ын арга нь зөвлөмж болгодог арга хэвээр байгаа бөгөөд өвчний халдвар гардаг улс орнуудад өргөнөөр ашиглагддаг (Provost нар, 1987). ХХУ-ыг бичил таньцын үүр бүхий хавтан ашиглан тавих нь хамгийн тохиромжтой бөгөөд үүнийг Европын холбооны улсууд стандарт болгон нийтлэг хэрэглэж байна (Европын холбоо, 2001).

Мэдрэх чанар 63.8%, өвөрмөц чанар 98% (Bellini нар, 1998) байдаг ХХУ нь цочмог халдварын эмгэг хувиралтай бараг бүх өвчтэй амьтныг илрүүлэх боломжтой боловч харин өвчний эхэн үед байгаа эсхүл архаг халдвартай амьтны багахан хувийг илрүүлнэ.

2.1.1. Урвалж

ХХУ-ыг баталгаажуулах, итгэмжлэхэд шаардагдах бүх урвалж, тэдгээрийг хэмжих хуваарилахад ашиглах соруур, түүний хошуунд хийх чанарын хяналт, стандартчилал онцгой чухал байдаг. Итгэмжлэгдэх үйл ажиллагаанд (ISO/IEC[4] 17025) шаардагдах тохирох эсрэгтөрөгч болон ийлдсийг ДМАЭМБ-ын ҮЦӨ-ий лавлах лабораториос авах боломжтой.

Шинжилгээний эцсийн үр дүнд нөлөөтэй учраас урвалжийн дараах шинж чанарыг харгалзвал зохино.

i) Үлэмж цэвэр, ариутгасан ус. Урвалын явцад усны чанар онцгой чухал.

ii) *Лавлагааны эерэг ийлдэс:* шинжилгээг харилцан уялдуулахад зориулсан үхрийн эерэг стандарт ийлдэс (ЭСИ)-ийг ДМАЭМБ-ын Португал, Итали улс дахь лавлах лабораториос авах боломжтой бөгөөд түүнийг оношилгооны лабораторид тогтмол хэрэглэх, эсрэгтөрөгчийг таньцлахад хэрэглэнэ. ЭСИ-ийг цээж өвчний байгалийн халдвартай үхрээс бэлтгэсэн бөгөөд *Brucella*, *Mycobacterium paratuberculosis*, *Chlamydia*, *Coxiella burnetii*, *Leptospira*, үхрийн вируст диарейн вирус, амьсгалын замын синцитиал вирус, үхрийн халдварт мөгөөрсөн хоолойн хамар үрэвслийн вирус, аденовирус, үхрийн херпес вирус 4, шүлхий өвчний вирус, үхрийн лейкозын вирус, параинфюлюэнза 3 вирус болон гаднын бусад вирусийн эсрэг сөрөг урвалтай байдаг. ЭСИ нь 1/160 шингэлэлтэд цус задлахгүй, 1/320 шингэлэлтэд 50% задална. Олон дахин хөлдөөж гэсгээж ийлдсийн чанарыг муутгахгүйн тулд ЭСИ-ийг жижиглэн тасалж хуваагаад –20°C-д хадгална.

iii) *Лавлагааны сөрөг ийлдэс:* сөрөг хяналтын ийлдэс (СХИ)-ийг мөн адил ДМАЭМБ-ын Португал, Итали улс дахь лавлах лабораториос авах боломжтой бөгөөд үхрийн тархи сархиатах өвчнөөр тайван гарал үүслийн улсын эрүүл үхрээс бэлтгэсэн байна. Уг ийлдэс нь ҮЦӨ болон дээр дурдсан бичил биетүүдийн эсрэг сөрөг урвалтай. СХИ-ийг жижиглэн тасалж хуваагаад –20°C-д хадгална.

iv) *Эсрэгтөрөгч:* Энэ шинжилгээнд урьдчилан шинжлэн судалж 110, 98, 95, 62/60, 48 kDa масстай эсрэгтөрөгчийн таван өвөрмөц толбо үүсгэж байгааг тогтоон сонгож авсан *Mmm* омгийн цийдмэгээс бэлтгэсэн эсрэгтөрөгчийг хэрэглэх ёстой. Урьдчилан шатрын хөлгөн аргаар таньцалсан эсрэгтөрөгчийг хавсарга холбох 2 нэгж (ХХН) тунгаар хэрэглэх ба ЭСИ-ийн 1/320 шингэлэлтэд 50% холболт өгч байхаар стандартчилна. Эсрэгтөрөгчийг 4°C ±3°C-д хадгалах ба хөлдөөж болохгүй. Түүнийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораторид үйлдвэрлэж стандартчилаад нийлүүлж байна. ДМАЭМБ-ын лавлагааны ийлдэс хэрэглэн стандартчилсан эсрэгтөрөгчийг ашиглах нь оношлох шинжилгээг олон улсын хэмжээнд харилцан уялдуулах ач холбогдолтой.

v) *Буфер:* pH 7.2 ±1 бүхий вероналын буфержүүлсэн физиологийн уусмал нь ХХУ-ын стандарт шингэлэгч юм. Вероналын буферийг худалдаанд гаргасан бэлэн шахмалаар эсхүл 1 литр нэрмэл усанд натрийн хлорид (42.5 г), барбитурын хүчил (2.875 г), натрийн диэтил барбитурат (1.875 г), магнийн хлорид ($MgCl_2 \times 6\ H_2O$ – 0.501 г), кальцийн хлорид ($CaCl_2 \times 6\ H_2O$ – 0.18 г) уусгаж бэлтгэсэн нөөц

[4] ISO/IEC: Стандартчиллын олон улсын байгууллага/Олон улсын цахилгаан техникийн комисс

уусмалаас бэлтгэнэ. Хэрэглэхийн өмнө нөөц өтгөн уусмалыг дахин нэрсэн усаар 1/5-аар шингэлж бэлтгэнэ.

vi) *Цус задлуур (амбоцептор*): цус задлуур нь туулайд ХЦУЭ (хонины цусны улаан эс)-ээр хэт дархлаа хийж үүсгэсэн ийлдэс юм. Хэрэглэх тунгийн тоо: 50% эцсийн цэгийн шингэлэлтэд (HD50 [50% цус задлах тун]) ашиглах цус задлах 6 тун байна. Гүрээний хураагуур судсыг үжил үл үүсгэх аргаар хатгаж ХЦУЭ бэлтгэнэ. Эсийг Алсеверийн шингэн эсхүл нимбэг хүчлийн натрид хадгалааслана. Эдгээрийг 6%-ийн цийдмэг болгон хэрэглэнэ. Худалдаанд гарсан цус задлуур бий.

vii) *Цус задлах систем* (*ЦЗС*): ЦЗС-ийг Вероналын буферт шингэлэн 12 HD_{50} тунтай болгон бэлтгэнэ. ХЦУЭ-ийн эсрэгбиеийн 6% цийдмэгээс тэнцүү хэмжээгээр авч нэмээд системийг усан халаагуурын 37°C-д 30 минут үе үе зайлж мэдрэгжүүлнэ.

viii) *Хавсарга*: хавсаргыг ердийн усан гахайн ийлдэснээс бэлтгэнэ. Түүнийг хөлдөөн хатаах ба үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу дахин нэрсэн усаар уусган сэргээнэ. Уусган сэргээсний дараа түүнийг -20ºC-д хадгалаа. Худалдаанд гарсан хавсаргыг үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу хэрэглэж болно. Түүнийг шинжилгээнд хэрэглэхэд тохирох хэмжээний эсрэгтөрөгч агуулсан Вероналын буферт харьцаа нь ойрхон байхуйц дараалан шингэлэлт хийх замаар таньцлана. 37°C-д 30 минут байлгасны дараа мэдрэгжсэн ХЦУЭ-ээс шаардагдах хэмжээгээр авч шингэлэлт тус бүрд нэмнэ. Тогтмол дулаанд дахин 30 минут байлгасны дараа таньцыг уншиж тогтооно. ХЦУЭ-ийг бүрэн задалсан хамгийн өндөр шингэлэлт нь хавсаргын 1 нэгжтэй тэнцэх ба үүнийг ашиглан 25 мкл-д 2.5 нэгж байхад шаардагдах шингэлэлтийг тооцоолно.

2.1.2. Шинжилгээний аргачлал (бичил хавтан ашиглах)

ХХУ-д хэрэглэх урвалжийн хяналт, түүнчлэн шинжилгээг туршлагатай, мэргэшсэн ажилтан хийх нь ХХУ-ын гүйцэтгэлд нөлөөлөх хамгийн гол хүчин зүйлс юм. Тогтмол дулаанд байлгах температур, хугацааг бас нарийн хянах хэрэгтэй. Үндсэн урвалыг 21°C ±3°C-д тохируулсан температурын зохицуулалттай өрөөнд явуулна.

Урвалд нөлөөлдөг учраас бохирдсон эсхүл задарсан цустай ийлдсийг шинжилж болохгүй. Шинжлэх шингэлээгүй ийлдэсний дээж, шаардагдах ажлын стандартыг усан халаагуурын 56°C ±2°C-д 30 минут идэвхгүйжүүлнэ. Ингэснээр ийлдэсний хавсарга устаж хавсаргын эсрэг идэвхи (ХЭИ)-ийг бууруулах ба эсхүл арилгана.

Ердийн үед ийлдсийг ихэвчлэн нэг удаа шингэлээд шинжилдэг бол эерэг хяналтын ийлдсийг (ЭСИ) дараалан шингэлэх ёстой. Дугуй (U) ёроолтой, 96 үүртэй, бичил таньцын стандарт хавтан ашиглан дараах байдлаар шинжилгээ хийнэ:

i) Идэвхгүйжүүлээд Вероналын буферт 1/10-аар шингэлсэн 25 мкл шинжлэх ийлдсийг нэг дэх болон хоёр дахь мөрний үүрнүүдэд хийнэ. Эхний мөр нь ийлдэс тус бүрийн хавсаргын эсрэг идэвхийн хяналт болно.

ii) 2 тун ХХН бүхий 25 мкл эсрэгтөрөгчийг хавсаргын эсрэг идэвхийн хяналтын үүрнүүдээс бусад бүх үүрэнд нэмнэ. Хавсаргын эсрэг идэвхийн хяналтын үүрнүүдэд эсрэгтөрөгчийн эзлэхүүнийг орлуулан 25 мкл Вероналын буфер нэмнэ.

iii) 2.5 нэгж бүхий 25 мкл хавсаргыг нэмнэ. Болгоомжтой зайлаад тогтмол дулаантай газар үе үе (тогтмол дулаанд байлгах үедээ наад зах нь хоёр удаа) эсхүл тасралтгүй зайлж байлгана.

iv) Цус задлах системээс 25 мкл нэмнэ. Болгоомжтой зайлаад 37°C дулаан тогтоогуурт 30 минут байлгана. Бичил таньцын хавтанг тогтмол дулаанд байлгах үедээ хоёр удаа зайлна.

v) Дараах нөхцөлийг бүрдүүлэх шаардлагатай:

   а. Хавсарга: 0.5 нэгж, 1 нэгж болон 2.5 нэгж

   б. ЦЗС: Веронал буфер 75 мкл + 25 мкл ЦЗС.

   в. Эсрэгтөрөгч: 2 ХХН эсрэгтөрөгч 25 мкл + 2.5 нэгж хавсарга 25 мкл + 25 мкл ЦЗС = 25 мкл Веронал буфер.

Эдгээр хяналтыг эерэг хяналтын ийлдэс (ЭСИ) болон сөрөг хяналтын ийлдэстэй хамт бичил хавтан бүрд эсхүл ижил цувралын урвалж хэрэглэж байгаа бичил хавтангуудад ямагт оруулж эерэг хяналтын ийлдэс (ЭСИ) болон сөрөг хяналтын ийлдэстэй хамт шинжилнэ:

vi) *Үр дүнг тайлах*

Бичил хавтанг 125 *g* хурдаар 5 минут хурилдуурдсаны дараа ажиглагдсан хавсарга холболтын хувийг үндэслэн үнэлнэ:

Эерэг: 1/10 шингэлэлтэд 100% холбогдсон

Эргэлзээтэй: 1/10 шингэлэлтэд 25, 50, эсхүл 75% холбогдсон

vii) *Үр дүнгийн баталгаажуулалт*

Хавтан дахь хяналтууд дараах үр дүн үзүүлэх ёстой:

а. ЭСИ: таамагласан таньцтай.

б. СХИ: 100% цус задарна

в. Ийлдсийн дээж дэх ХЭИ-ийн хяналт: 100% цус задарна

г. Эсрэгтөрөгчийн хяналт: 100% цус задарна

д. Хавсаргын нэгжийн хяналт: 2.5 нэгж байхад 100% цус задарна.

е. Хавсарга байхгүй байхад ЦЗС хяналт: цус задрал 0%

Ийлдсийн 1/10 шингэлэлтэд үзүүлсэн ХХУ-ын аливаа үр дүнг, үүний дотор эргэлзээтэй гарсан үр дүнг (25, 50, 75%) ч оруулаад тэдгээрийг иммунблот, эмгэг бие бүтцийн задлан шинжилгээ, бактери судлалын шинжилгээ гэх мэт аль тохирох аргаар нэмэлт судалгаа шинжилгээ хийж баталгаажуулна.

2.2. Энзим холбоост дархлааны өрсөлдөөнт урвал.

Халуун бүсийн улс орнуудад мал, амьтны өвчнийг оношлох, тэмцэх чиглэлээр ажилладаг ДМАЭМБ-ын Хамтын ажиллагааны төвд өрсөлдөөнт ЕЛИЗА (ө-ЕЛИЗА) аргыг боловсруулж[5] ДМАЭМБ-ын стандартын дагуу олон улсын хэмжээнд баталгаажуулсан байна (Amanfu нар, 1998). Ө-ЕЛИЗА аргыг Франц улсын итгэмжлэлийн байгууллага 2009 онд бас баталгаажуулжээ.

ХХУ-тай харьцуулахад ө-ЕЛИЗА нь мэдрэх чанараар ижилхэн, өвөрмөц чанараар хамаагүй илүү юм. ДМАЭМБ-ын ҮЦӨ-ий лавлах лаборатори эсхүл ДМАЭМБ-ын Мал, амьтны өвчнийг оношлох ЕЛИЗА болон молекулын аргын талаар хамтран ажилладаг төвөөс стандарт заавар, урвалжийн олдцын талаар зөвлөгөө авч болно (Г*азрын амьтны өвчний оношилгоо, вакцины энэхүү гарын авлага*-ын 4 дэх хэсгийн хүснэгтийг үзэх).

Африк, Европын хэд хэдэн улсад хийсэн баталгаажуулах шинжилгээгээр: i) ө-ЕЛИЗА аргын бодит өвөрмөц чанар 99.9%-иас доошгүй; ii) ө-ЕЛИЗА болон ХХУ-ын мэдрэх чанар ижилхэн iii) халдвар авсан сүрэгт ХХУ-аар эсрэгбие илэрч мэдрэгдсэнээс хойш тун удалгүй ө-ЕЛИЗА шинжилгээгээр илрүүлж чадаж байгаа болон ө-ЕЛИЗА аргаар илэрдэг эсрэгбие удаан хугацаагаар хадгалагдаж байгааг тус тогтоосон байна (Niang нар, 2006).

Шинжилгээний үр дүнг таарц сайтай, найдвартай байлгах үүднээс одоо ө-ЕЛИЗА шинжилгээнд шаардлагатай бүх урвалж бодис, тэр дундаа үүрнийх нь ханыг урьдчилан бүрээд хулдан битүүмжилсэн хавтан бүхий, хэрэглэхэд бэлэн цомог гаргаж байна. Энэ цомгийг худалдан авч болох ба түүний олдцыг ДМАЭМБ-ын Франц улс дахь лавлах лабораториос лавлаж болно. Энэхүү цомгийг найдвартай, таарц сайтай үр дүн гаргадаг байхаар зориуд зохион бүтээсэн байна. Ийлдсийг дан үүрэнд шинжилнэ. Өнгө үүсгэгч нь шингэн буферт уусгасан тетраметил бензидин бөгөөд гэрлийн нягтыг 450 нм-д уншина. Өнгө нь эхний шатад цайвар ногооноос хөх өнгөнд хувираад улмаар зогсоогч уусмал нэмснээр шар өнгөтэй болно. ИГЭб хяналтын өнгө улам бараантах бол илт эерэг хяналтын ийлдэс тунгалагшина. Босго утгыг 50% д тохируулах ба бүх улсад адилхан хэрэглэнэ. Гэвч

[5] нннnн

лаборатори бүр ISO 17025 шаардлагыг баримтлан хэмжлийн үл тохирлын байдлыг тогтоох хэрэгтэй. Бүлэг 2.2.4 *Хэмжлийн тодорхойгүй байдал* үзэх.

2.3. Иммунблотын шинжилгээний арга

Иммунблотын шинжилгээ нь ХХУ болон ЕЛИЗА шинжилгээний эргэлзээтэй үр дүнг баталгаажуулах зорилгоор хөгжүүлсэн, дархлааны энзимт урвал юм. Үйлдвэрлэлд хэрэглэж үзэхэд өвөрмөц чанараар ХХУ-аас өндөр буюу ХХУ-аар хуурамч эерэг урвалтай дээжийг магадлах боломжтой нь харагджээ (Gonçalves нар, 1998).

2.3.1. Урвалж бодис

i) Эсрэгтөрөгчийн тууз (доорх Б.2.3.2 бүлэг үзэх).

ii) *Эерэг хяналтын ийлдэс:* ҮЦӨ-ий халдварыг байгалийн замаар авсан амьтнаас авсан ийлдсийг Вероналын буферт 1/100-аар шингэлж хэрэглэнэ. Энэ хяналт ХХУ-д 1/80 шингэлэлтдээ 50% холболт үзүүлэх ба *Mmm*-ийн эсрэгтөрөгчийн 110, 98, 95, 62/60, 48 kDa бүхий таван өвөрмөц иммунблотын зурвас илэрнэ. Ийм ийлдэс Португал дахь ДМАЭМБ-ын лавлах лабораторид бий.

iii) *Шингэлэгч буфер:* 0.1% тослоггүй сүү, 0.1% өндөгний альбумин агуулсан, 7.2 pH бүхий фосфатын буфержүүлсэн физиологийн уусмал. Урвалын мэдрэх чанарт нөлөөлөх тул тослоггүй хуурай сүүний чанар онцгой чухал байдаг. Иймд тосгүй жирийн хуурай сүү бус харин тослоггүй болгон стандартчилсан сүү хэрэглэнэ (Gaurivaud & Poumarat, 2012).

iv) *IgG*-ийн (H + L гинж) эсрэг коньюгатласан пероксидаза: энэ бэлдмэл худалдаанд байдаг бөгөөд таван өвөрмөц зурвасыг тод харагдуулахад тохирох шингэлэлтийг сонгохын тулд эерэг хяналтын ийлдэс ашиглан шатрын хөлгөн загвараар урьдчилан таньцлана (Gaurivaud & Poumarat, 2012).

v) *Субстрат*: 10 мл метанолд 30 мг 4-хлор 1-нафтол уусгаад 50 мл ФБУ(pH 7.2) болон 30 мкл H_2O_2 дээр нэмж субстрат бэлтгэнэ. Субстратын өөр нэг хувилбар нь BCIP/NTB (5-бром-х4-лор-3-индолил фосфаттай хольсон хлорт нитратетразолиумын хөх) байж болно.,

2.3.2. Эсрэгтөрөгчтэй тууз бэлтгэх

i) Эсрэгтөрөгч бэлтгэхэд ашиглах омог онцгой чухал. Эсрэгтөрөгчийн 110, 98, 95, 62/60, 48 kDa масстай таван өвөрмөц зурвас үүсгэдгийг нь шинжилж тогтоосон *Mmm* омгоос эсрэгтөрөгчийг бэлтгэнэ. Эсрэгтөрөгч нь 48 цагийн өсгөврөөс бэлтгэж ФБУ-д бэлтгэсэн 7.2 pH бүхий *Mmm* эсийн цийдмэг байна.

ii) Уламжлан хэрэглэж ирсэн 5–15% полиакриламидын үелүүлэгч гелийг Gonçalves нар, 1998) вестерн блотын шинжилгээнд хэрэглэхэд үр дүнгийн таарц хангалтгүй байдаг. Шуберт (2011) болон Гоураваид, Пумарад нарын (2012) зөвлөснөөр полиакриламидын гелийг 7.5%-иар хэрэглэхэд эсрэгтөрөгч болох бүх таван уургийг сайн салгаж байснаас гадна удаа дараагийн электрофорезоор салгасан уургийн зурвасуудын хоорондын таарц сайн байсан байна.

iii) Салгасан уургуудыг шилжүүлэх буферт (20% метанол, 193 мМоль глицин, 25 мМоль Трис/HCl, pH 8.3) хийн 70 V-оор 14 × 14 см 0.45 мкм-ийн нитроцеллюоз хальсанд шилжүүлнэ. Хэр зэрэг үр дүнтэй, нэгэн жигд шилжиж байгаа эсэхийг шалгана. Үүнийг худалдаанд гарсан будагч уусмал эсхүл цомог ашиглан уургийн толбыг цааш ашиглахын өмнө эргэж арилахаар хөнгөхөн будаж харах замаар хялбархан шалгана.

iv) Хальсыг хатаагаад уурагт электрофорез хийсэн тал дээр нь тэмдэглэгээ хийнэ. Нитроцеллюозын хальсыг саатуулагч буферт (5% тослоггүй хуурай сүү, 1 М глицин, 1% өндөгний альбумин агуулсан ФБУ) хийж тасалгааны хэмд 2 цаг байлгана. Нитроцеллюоз хальсыг тасалгааны хэмд 0.1% (э/э) Твин 20 агуулсан ФБУ-д тус бүр 15 минутаар гурван удаа угаасны дараа уг хальсыг цаашид ФБУ-д угаана. Хальсыг дараа нь хатаагаад нэг тууз таслан авч түүнд 110, 98, 95, 62/60, 48 kDa масстай таван өвөрмөц зурвас илэрч байгаа эсэхийг шалгаж тогтооно.

v) Нитроцеллюозын хальсыг зүсэж 0.4 см см өргөн тууз бэлтгэнэ. Туузын цуврал

бүрийг лавлагааны эерэг болон сөрөг ийлдэс ашиглан шалгаж эсрэгтөрөгчийн чанартай таван өвөрмөц уураг байгаа, харин тэдгээрийг тогтооход саад болох толбо байхгүй болохыг тогтооно.

2.3.3. Шинжилгээний аргачлал

Жич: шинжилгээ хийх явцад туузын эсрэгтөрөгчтэй талыг дээш харуулсан байх ёстой.

i) Шинжлэх ийлдэсний дээжийг 1/3-аар шингэлэгч буферээр шингэлнэ (Бүлэг Б.2.3.1.iii үзэх)

ii) Шинжлэх дээж бүрд болон эерэг болон сөрөг хяналтын ийлдсэнд эсрэгтөрөгчтэй туузыг дүрж 37°C-д тасралтгүй зайлан 2 цаг байлгана. Туузыг гаргаж 0.1% (э/э) Твин 20 агуулсан ФБУ-д тус бүр 15 минутаар тасалгааны хэмд гурван удаа угаасны дараа уг хальсыг цаашид ФБУ-аар нэг удаа угаана

iii) *IgG*-ийн (H + L гинж) эсрэг коньюгатласан пероксидазад тохирох шингэлэлт хийгээд туузтай хамт тасалгааны хэмд тасралтгүй зайлан 2 цаг байлгана. Дээрхийн дагуу угаана.

iv) Субстратыг (Бүлэг Б.2.3.1.v үзэх) тууз дээр нэмж дараа нь туузаа харанхуй газар тавин уургийн толбо харагдтал тасралтгүй зайлж байлгана (30–40 минутаас хэтрэхгүй). Нэрмэл ус хэрэглэн урвалыг зогсооно.

v) *Шинжилгээний үр дүн*: туузыг хатааж түүнд хяналтын эерэг ийлдсэнд харагдаж байгаачлан 110, 98, 95, 62/60, 48 kDa масс бүхий эсрэгтөрөгчийн таван өвөрмөц толбоор IgG-ны иммунблотын зурвас илэрсэн эсэхийг шалгана. Эерэг хяналтынхтай ижилхэн иммунблотын толбо үүссэн дээжийг ҮЦӨ-д эерэг гэж үзнэ.

Жич: иммунблотын шинжилгээгээр төгсгөлд нь илрэх толбоны байдалд олон хүчин зүйл нөлөөлдөг учраас уг аргыг стандартчилахад нэлээд хэцүү (Gaurivaud & Poumarat, 2012). Нөлөөлөх гол хүчин зүйл нь *Mmm* өсгөврийн үе шат болон сонгосон омог байдаг. Европын гарал үүсэлтэй саяхны омог 98 kDa толбо үүсгэдэггүй. Үүний улмаас ийм омгоор халдварласан амьтан шинжлэхэд эргэлзээтэй үр дүн гарна. Португал улс дахь ДМАЭМБ-ын ҮЦӨ-ий лавлах лабораторит хүсэлт тавьж эсрэгтөрөгчийн тууз мөн түүнчлэн эерэг, сөрөг ийлдэс авах боломжтой.

Б. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

1. Удиртгал

20 дугаар зууны эхнээс ҮЦӨ-ий эсрэг олон төрлийн вакцин боловсруулсан ч (жишээ нь үхүүлсэн вакцин, гетеролог вакцин) нэг нь ч хангалттай үйлчлэлтэй, эдийн засгийн хувьд ашигтай байсангүй. Эдүгээ зөвхөн сулруулсан *Mmm* омгоор үйлдвэрлэсэн вакциныг нийтлэг хэрэглэж байна.

Өнгөрсөн хугацаанд сулруулсан янз бүрийн, KH3J, V5 гэх мэт *Mmm* омог хэрэглэж ирсэн ч тэдгээрийг одоо хэрэглэхээ больсон байна. Одоо ҮЦӨ вакцин үйлдвэрлэхэд 1952 онд Танзани улсад Шериф, Пирси нарын ялган авсан, байгалийн сул буюу хоруу чанар багатай омог болох T1/44 (Sheriff & Piercy, 1952) болон түүний уламжлал болох T1sr (Wesonga & Thiaucourt, 2000; Yaya нар, 1999) гэсэн хоёр омог ашиглаж байна. T1/44 гэж нэрлэгдэх, өндгөнд 44 удаа зорчуулсан T1 омог үхэрт вакцинжуулалтын дараах хүнд хэлбэрийн хариу урвал үүсгэхгүйгээр дархлаа тогтооход хангалттай түвшинд суларсан байдаг байна. Гэвч хүнд хэлбэрийн хариу урвал хээрийн нөхцөлд хэдийгээр ховор ч тохиолддог бөгөөд түүний давтамжийг таамаглах аргагүй ажээ. Өргөн хүрээтэй вакцинжуулалтын өмнө тухайн вакцинд үхрийн үүлдрийн мэдрэмтгий чанарыг тогтоох хэрэгтэй. Вакциныг амьсгалын замаар олгоход ҮЦӨ-ий эмгэг шинж үүсгэдэг (Mbulu нар, 2004), харин түүнийг арьсан дор тарихад ноцтой эрсдэл учруулдаггүй (Hubschle нар, 2002) байна.

T1/44 болон T1sr омгийн вакцинаар тогтмол вакцинжуулах нь (жишээ нь T1/44 вакцинаар жилд нэг, T1sr-ээр жилд хоёр удаа) үхэр сүргийг халдвараас сайн хамгаална. Эдгээр вакциныг ҮЦӨ-тэй өргөн хүрээнд (үндэсний болон бүс нутгийн) тэмцэх ажилд хэрэглэж болох ч дан вакцинжуулалтаар ҮЦӨ-ийг устгаж чадахгүй.

Вакцинжуулах амьтны зүйл нь *Bos* болон *Bubalus* төрлийн өвчлөмтгий үхэр байна.

Шинээр гаргах сулруулсан вакцин нь T1/44 омгийн вакциныхаас үлдэгдэл хоруу багатай байхын хамт дархлаа үргэлжлэх хугацаа (1 жил) болон дархлаа төрүүлэх шинж чанараар ижил эсхүл сайжруулсан байх ёстой.

Идэвхгүйжүүлсэн дараагийн вакцин нэлээд урт хугацаагаар (1 жилээс илүү) дархлаа тогтоодог ҮЦӨ-ий дэгдэлтийг далдалдаггүй, олон цэнт вакцин үйлдвэрлэхэд бусад эсрэгтөрөгчтэй харшилдаггүй байх хэрэгтэй. 1.1.8. *Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зарчим* бүлэгт мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зааварчилгааг оруулав. Энэ хэсэгт болон 1.1.8 дугаар бүлэгт оруулсан зааварчилгаа нь ерөнхий агуулгатай бөгөөд үйлдвэрлэгч Европын фармакопей, АНУ-ын ХАА-н департамент эсхүл тухайн улсын болон бүс нутгийн бусад шаардлагыг хангах үүрэг хүлээсэн байж болох юм.

2. Үйлдвэрлэлийн тойм, вакцинд тавих наад захын шаардлага

2.1. Эх омгийн шинж чанар

2.1.1. Үндсэн эх омгийн биологийн шинж чанар

Эдүгээ ҮЦӨ-ий эсрэг T1/44 болон T1sr гэсэн *Mmm*-ийн сулруулсан зөвхөн хоёр омгийг хэрэглэхийг зөвлөдөг. T1/44 нь хөврөлжүүлсэн өндгөнд 44 удаа зорчуулж сулруулсан хээрийн аядуу омог юм. Энэ аргаар омгийг сулруулахдаа түүний дархлаа төрүүлэх шинж чанарыг хэвээр хадгалдаг. Гэвч энэ омогт хоруу чанарын үлдэц зарим талаар илэрсэн бөгөөд түүнд хариу урвал үзүүлсэн амьтны эзлэх хувь бүс нутаг бүрээр ихээхэн ялгагдана. Ийм урвал ихэвчлэн анх удаа вакцинжуулсан амьтанд ажиглагдана. Омгийг сулруулах явц лавшрахын хэрээр дархлаа төрүүлэх чанар буурдаг нь ажиглагдсан байна. T1sr омог нь T1/44 омгийн шууд уламжлал бөгөөд төвшрүүлгийг ихэсгэсэн стрептомицинтэй тэжээлт орчинд дараалан дөрвөн удаа зорчуулж стрептомицинд тэсвэртэй болгож дасгасан омог юм. T1sr-нь үлдэц хоруу чанаргүй боловч богино хугацаатай (6 caps) дархлаа тогтооно.

Вакцины үйлдвэрлэлд ашигладаг үндсэн эх омог нь вакцины жинхэнэ эх омогтой аль болохоор ойр хамааралтай байх хэрэгтэй. Эдгээр омгийн өвөг омгийн нөөц Франц улс дахь ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори болон Этиоп улс дахь ДМАЭМБ-ын мал эмнэлгийн вакцины чанарын хяналтын талаар Хамтран ажиллах төвд тус тус хадгалагдаж байна.

T1/44 омгийн геномын дараалал 2016 онд нийтлэгджээ (Gourgues нар, 2016).

2.1.2. Чанарын шалгуур (ариун чанар, цэвэршилт, гаднын зүйл агуулаагүй байх)

Үндсэн эх омог цэвэр болохыг харуулахын тулд түүнийг антибиотик гэх мэт аливаа нэмэлтгүй, шаардлага хангах тэжээлт орчинд өсгөвөрлөнө. Гаднын үүсгэгч агуулаагүй болохыг олон улсын болон тухайн улсын зааварын дагуу шалгана. Биологийн материалын ариун чанар, бохирдолгүй болохыг тогтоох шалгалтын талаар 1.1.9. дүгээр бүлгээс танилцаж болно.

Үндсэн эх омгийн цэвэршилт болон ялгагдах чанарыг бичил амь судлалын ердийн аргаар тогтооход хэцүү. Хатуу тэжээлт орчинд ургасан микоплазмын колони хэлбэр зүйн хувьд өвөрмөц хэв шинжээ гээдэг ба энэ нь тэжээлт орчны найрлагаас хамаарч (жишээ нь ийлдэс болон агарын эзлэх хувь) янз бүр байдгийг тэмдэглэх нь зүйтэй. Үүнээс гадна маш их хувьсдаг эсрэгтөрөгчтэй холбоотойгоор T1/44 үндсэн эх омгоос өөр өөр шинж чанартай колони ургахад хүргэдэг байж болохыг тэмдэглэжээ. Үндсэн эх омгийн цэвэршилтийг шүүлтүүрээр колони ялган авах (filter-cloning) аргачлал хэрэглэсний дараа салангид 10-аас доошгүй колонийг нарийвчлан ялган дүйх замаар тогтооно. T1 омгийг түүнд өвөрмөц ПГУ-аар ялган тогтоодог бол (Lorenzon нар, 2000) T1sr-ийн колонийг стрептомицинтэй орчинд ургах чадвараар нь T1/44 омгоос ялгаварлана.

2.1.3. Вакцины омог болгон баталгаажуулах

Молекулын маш нарийн маркер ашиглан *Mmm* омгийн дэд хэвшлийг тогтоодог болсон ч вакцины дан омгоор одоо эргэлдэж байгаа бүх омгийн эсрэг хамгаалалт тогтоож чадахгүй гэсэн нотолгоо одоохондоо гараагүй байна.

i) Хоргүй чанарын шалгалт

Дээр дурдсанчлан T1/44 омог нь тухайн нутгийн нөхцөлөөс хамааран өөр өөр байх үлдэц хоруу чанартай болох нь тогтоогдсон. Вакцинжуулалтын дараах хариу урвал нь вакцин тарьсан хэсэг газрын байршмал үрэвслээр илэрнэ (Шилмийн урвал). Энэ урвал вакцинжуулснаас хойш 1 долоо хоногийн илэрнэ. Ихэнхдээ хэсэг газрын энэ урвал аяндаа арилах боловч зарим тохиолдолд энэ нь хүндэрч тохирох антибиотикоор эмчлэхгүй л бол үхэлд ч хүргэж магадгүй. Энэ урвал вакцинжуулсан амьтны хэдэн хувьд илрэхийг таамаглах аргагүй бөгөөд цөөн хэдэн амьтанд эхэлж туршаад ч уг бүтээгдэхүүний хоргүй болохыг бүрэн баталж чадахгүй.

Уусган сэргээсний дараа үндсэн эх омгийг хоёр хулганын арьсан дор, хоёр хулганын хэвлийн хөндийд, бас хоёр эр усан гахайн хэвлийн хөндийд халдварлуулна. Үүнээс хойш нэг сарын дотор ямар ч амьтан үхэхгүй, усан гахайн төмсөг үрэвсэхгүй байх ёстой. Хоргүй чанарын шалгалтыг хоёроос цөөнгүй үхэр эсхүл бөхт үхэрт хийнэ. Тэдэнд тус бүрд вакцины 10 тун тариад гаж нөлөөг 4 долоо хоногоос багагүй хугацаанд ажиглана.

ii) Дархлаа төрүүлэх чанар

ҮЦӨ-ий вакцины тухайд түүний идэвхийг хялбархан тогтооход ашиглаж болохоор лабораторийн мэдрэмтгий амьтан байдаггүй. Мөн вакцинжуулсны дараа үүсэх эсрэгбиеийн таньц болон жинхэнэ бодит хамгаалалтын хооронд авцалдах нарийн шүтэлцээ байдаггүй. Өвчлөмтгий амьтныг “хавьтал халдвар”-т өртүүлж байгалийн халдвар хийх аргаар вакцины идэвхэд хяналт тавих нэг арга бий. Вакцины өвөг омгийн идэвхийг тогтоодог байв. Шаардагдах хамгийн бага тунгаар эхлэн вакцинжуулахад 40–60%-иар хамгаалж байжээ. Давтан вакцинжуулсны дараа хамгаалалтын хувь хамгийн өндөр байсан байна.

2.2. Үйлдвэрлэх арга

2.2.1. Арга ажиллагаа

Үндсэн эх омгийг гурваас илүүгүй дараалан зорчуулж вакцин үйлдвэрлэх бөөний өсгөвөр бэлтгэнэ. Үүнд эрчимтэй өсгөвөрлөгдөлтийнх нь үед өсгөврийг 1/100 шингэлэхийг зорчуулалт гэж энд тооцно. Жишээ нь эх омгийн 0.5 мл өсгөвөр авч шинэхэн 50 мл тэжээлт орчинд хийгээд булингар үүсэхээр нь түүнийгээ 5000 мл тэжээлт орчны эх өсгөвөр болгох ба таньц нь хамгийн оновчтой түвшинд хүрэхээр эцсийн бүтээгдэхүүн болно. Вакцин үйлдвэрлэгч дараа нь вакцины омгийг тэжээлт орчноос хурааж авах оновчтой үеийг тооцоход ашигладаг вакцины омгийн ургалтын хурдыг шалгаж тогтооно.

Хөлдөөн хатаахаас өмнө эцсийн өсгөвөрт тогтворжуулагч нэмж болно. Үйлдвэрлэгч вакциныг цодон шилэнд нэгэн жигд савлаж хөлдөөн хатаалтын төгсгөлд бүх цодон дахь таньц ижилхэн байхаар зөв хөлдөөн хатаасан байх үүрэгтэй.

2.2.2. Найрлагад орох орцод тавих шаардлага

Вакцины омгийг шаардагдах таньцтай болтол өсгөвөрлөх шаардлага хангасан ариун, шингэн тэжээлт орчин хэрэглэнэ. Үүнд ихэвчлэн автоклавдаж ариутгасны дараа микоплазмын ургалтыг хангах нэмэлтийг хольдог тэжээлт орчны “суурь”-иас бүрдэнэ. Суурь нь боловсруулсан мах агуулна. Үүнийг дотооддоо бэлтгэж болохоос гадна нунтаг хэлбэрээр (жишээ нь тархи-зүрхний инфузэн орчин, PPLO шөл гэх мэт) худалдан авч болно. Нэмэлт нь голдуу амьтны ийлдэс (ихэвчлэн адууны 10%-ийн төвшрүүлэгтэй ийлдэс), хөрөнгийн шинэхэн ханд (5–10%), глюокоз, глицерин, ДНХ, тосны хүчил гэх мэт бусад орцоос бүрдэнэ. Гэвч тэжээлт орчны найрлагад тусгайлсан шаардлага тавьдаггүй бөгөөд харин бүх орц 1.1.8 бүлэгт дурдсан чанарын шалгалтад тэнцсэн нь баталгаажсан, ингэхдээ биологийн гаралтай бүтээгдэхүүн мөн түүнчлэн тухайн улсын шаардлагыг хангахад онцгой анхаарсан байх хэрэгтэй.

Ихэнхдээ тэжээлт орчинд пенициллин эсхүл адилтгах антибиотик гэх мэт хадгалааслагч бодис нэмэхгүй байх нь зүйтэй. Гэвч стрептомицинд эргэж тэсвэртэй болохоос сэргийлж T1sr омгийг 1 мг/мл стрептомицин агуулсан тэжээлт орчинд ургуулна.

2.2.3. Явцын хяналт

Үйлдвэрлэлийн явцад бүтээгдэхүүний цэвэршилтийг шалгаж байх нь зүйтэй. Жишээ нь вакциныг хөлдөөн хатаахын өмнө түүнийг дамжмал гэрлийн фазыг тодосгогч микроскопын ×40 өсгөлтөөр харж цэвэршилтийг хурдавчилсан аргаар шалгана. Микоплазм нь маш жижигхэн саарал цэг маягтай харагдах ба заримдаа Брауны хөдөлгөөн бүхий гинж үүснэ. Ердийн бактери хэмжээгээрээ илүү том, тод, заримдаа илт хөдөлгөөнтэй харагдана.

2.2.4. Эцсийн бүтээгдэхүүний цувралын шалгалт

i) Ариун чанар

Мал эмнэлэгт хэрэглэх биологийн материалын ариун чанар, бохирдолгүй болохыг тогтоох шалгалтыг Г*азрын амьтны өвчний оношилгоо, вакцины энэхүү гарын авлага*-д (Бүлэг 1.1.9) оруулсан зөвлөмж болон тухайн улсын зохицуулалтын дагуу гүйцэтгэнэ.

ii) Ялгагдах чанар

Б.2.1.2. хэсгийг үзэх

iv) Тогтвортой чанар

Хөлдөөн хатаасан бүтээгдэхүүнийг –20°C-д тогтвортой (ө.х. хэд хэдэн жил) гэж үдэг

Хөлдөөн хатаасан бүтээгдэхүүнийг 4°C-д хадгалбал тогтвортой байх чанар нь буурна. Тогтвортой чанар хэд хэдэн шалтгаанаас тухайлбал цодон шил, бөглөө болон хөлдөөн хатаалтын чанараас хамаарна. Бүтээгдэхүүнд байвал зохих таньц түүний хүчинтэй хугацаа дуусах үед ч хадгалагдаж байх баталгааг хангах нь вакцин үйлдвэрлэгчийн үүрэг юм.

Үүнтэй холбоотойгоор бүтээгдэхүүнд байх үлдэц чийгшил 3%.-иас хэтрэхгүй байхыг зөвлөдөг.

v) Цувралын идэвх

Жич: зардлыг багасгах үүднээс ашигламаар байв ч идэвх шалгахад тохирдог лабораторийн амьтан байдаггүй учраас бүтээгдэхүүний цувралын идэвхийг тогтмол шалгаад байдаггүй. Түүнчлэн зардлаас шалтгаалаад вакцины идэвхийг үхэрт шалгадаггүй. Идэвхийг шалгахад өмнө нь халдвар болон вакцины нөлөөнд өртөөгүй 50-иас доошгүй амьтан ашиглавал хамгаалалтын хувийг статистикийн магадлалтай гаргана.

Өмнө нь дархлаа төрүүлэх идэвхийг шалгасан, гарал үүсэл нь тодорхой үндсэн эх омгийн бэлдцийг ашиглах, үйлдвэрлэлийн стандарт зааврыг (олон удаа зорчуулахгүй байх) хатуу мөрдөх замаар болон эцсийн таньцыг зөв барьснаар бэлэн бүтээгдэхүүний идэвхийг хангана.

Хамгийн бага таньц нь вакцины тун бүрд 10^7 амьд микоплазм байх ёстой боловч вакцин үйлдвэрлэснээс хойш амьтанд тарих хүртэл таньц буурах учраас вакциныг үүнээс өндөр таньцтай үйлдвэрлэх нь зүйтэй. Хөлдөөн хатаасан вакциныг вакцинжуулалтад хэрэглэдэг шингэлэгчээр уусган сэргээсний дараа таньцыг тогтоох ба үйлдвэрлэгчийн зөвлөсөн шингэлэгч хэрэглэхийг чухалчилна. Таньцлалтад цуврал бүрээс гурваас доошгүй цодон вакциныг ашиглана. Таньцыг ±0.25 logs нарийвчлалтай таньцлах арга хэрэглэн тогтооно. Санамсаргүй сонголтоор авсан гурван цодон тус бүрийн вакцины тун бүр 10^7 амьд микоплазмаас доошгүй таньцтай бол тухайн цуврал вакцин хэрэгцээнд тэнцэнэ. Үйлдвэрлэгч үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаагаараа нэг цувралын

цодон бүр хоорондоо бараг ялгаагүй нэгэн жигд байх баталгааг хангах ёстой. Ингэсэн тохиолдолд цувралын таньцыг тогтооход гурван цодон хангалттай. Үгүй бол вакцины цувралыг төлөөлөхөд хангалттай дээжийн тоог тогтоож өгөх түүвэрлэлтийн тооцооллыг ашиглана. Тогтоосон температурт хадгалахад уг бүтээгдэхүүн хүчинтэй хугацаа дуусах хүртэл байвал зохих таньцаа хадгалах баталгааг үйлдвэрлэгч хангана.

2.3. Зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага

2.3.1. Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаа

Вакциныг албан ёсоор бүртгүүлэхийн тулд бүтээгдэхүүн үйлдвэрлэлийн болон чанарын хяналтын шалгалтад (Б.2.2.1 болон Б.2.2.) хамаарах бүх дэлгэрэнгүй бичиг баримтыг эрх бүхий холбогдох байгууллагад хүргүүлнэ. Энэ нь үйлдвэрлэлийн ердийн цувралын эзлэхүүний 1/3-аас багагүй хэмжээгээр гурав дараалан үйлдвэрлэсэн бүтээгдэхүүний цувралын мэдээлэл байна.

Явцын хяналт нь үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны нэг хэсэг мөн.

2.3.2. Аюулгүй чанарт тавих шаардлага

I) Вакцин хэрэглэх зааллтай болон үл хэрэглэх амьтанд аюулгүй байх чанар

Аюулгүй чанарыг зөвхөн уг вакциныг хэрэглэх зааллтай амьтанд (ө.х. *Bos* genus) баталгаажуулсан байх ёстой

II) Сулруулсан/амьд вакцин эргэж хоруу чанартай болох болон хүрээлэн буй орчны асуудал

Анх удаа вакцинжуулсан зарим амьтанд T1/44 омог вакцинжуулалтын дараах урвал үзүүлдэг нь тогтоогдсон. Энэ вакцины танилцуулгад холбогдох анхааруулга, түүний дотор хэрэглэж болох антибиотикийн эмчилгээний талаар оруулсан байх ёстой. Өмнө нь халдвар болон вакцины нөлөөнд өртөөгүй амьтны хэсэг газрын арьсан дор илэрч болох, вирус гадагшлуулдаггүй хариу урвалыг аюултайд тооцдоггүй. Гэвч энэ талаар лавтай баримт мэдээлэл байдаггүй учраас вакцинжуулалтын дараа илрэх урвалыг үхэр сүрэгт тандан судалдаг байх нь зохистой.

iii) Сэрэмжлүүлэг (аюултай нөхцөл)

T1/44 болонT1sr омгийн ҮЦӨ-ий чанарын шаардлага хангасан вакцин хүнд аюулгүй.

2.3.3. Үр нөлөөнд тавих шаардлага

ҮЦӨ-ий вакцины үр нөлөөг үхэрт шалгахад маш их зардал гарах учраас түнийг шууд бус аргаар үнэлдэг. Вакцин үйлдвэрлэгч вакцины цуврал бүрийг гарал үүсэл болон шинж чанар нь тогтоогдсон, лавлагаа болох эх өвөг омгийн нөөцөөс ашиглан үйлдвэрлэлийн зохистой дадлыг баримтлан үйлдвэрлэсэн, хамгийн чухал нь эцсийн бүтээгдэхүүн болготлоо үндсэн эх омогт аажим хувьсал үүсгэчихээр арга аргачлал ашиглаагүй болох нь баталгаажсан байх ёстой.

Үхэр сүргийг дахин давтан вакцинжуулснаар энэ өвчнөөс бүрэн хамгаална гэдгийг санууулах нь зүйтэй

2.3.4. ХАВАЯ (халдвар авсан, вакцинжуулсан амьтныг ялган илрүүлэх) стратегид нийцэх вакцин

ҮЦӨ-ий вакцинд энэ асуудал хамаарахгүй

2.3.5. Дархлаа үргэлжлэх хугацаа

ҮЦӨ-ий вакцинд энэ хугацааг шаардахгүй.

2.3.6. Тогтвортой байдал

Үйлдвэрлэгч уг бүтээгдэхүүнд зөвшөөрөл авах ажлын нэг хэсэг болгон вакцины таньц түүний хүчинтэй хугацаа дуусах үед ч тогтвортой хадгалагдаж байгаа болохыг нотлон харуулах шаардлагатай. Хөлдөөн хатаасан бүтээгдэхүүн болон тохирох шингээгчид уусган сэргээсэн эцсийн бүтээгдэхүүн аль алинд хадгалах температурыг нь зааж өгнө. Үл тохирох температурт вакциныг хадгалснаас бүтээгдэхүүн гэмтэж муудсан бол хэрхэхийг анхааруулсан байх хэрэгтэй.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

AMANFU W., SEDIADIE S., MASUPU K.V., BENKIRANE A., GEIGER R. & THIAUCOURT F. (1998). Field validation of a competitive ELISA for the detection of contagious bovine pleuropneumonia in Botswana. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop*., **51**, 189– 193.

BASHIRUDDIN J. B., NICHOLAS R. A. J., SANTINI F. G., READY R. A., WOODWARD M.J. & TAYLOR T. K. (1994). Use of the

polymerase chain reaction to detect *Mycoplasma* DNA in cattle with contagious pleuropneumonia. *Vet. Rec.,* **134**, 240–241.

BELLINI S., GIOVANNINI A., DI FRANCESCO C., TITTARELLI M. & CAPORALE V. (1998). Sensitivity and specificity of serological and bacteriological tests for contagious bovine pleuropneumonia. *Rev. sci. tech. OIE Int. Epiz.,* **17**, 654–659.

BROCCHI E., GAMBA D., POUMARAT F., MARTEL J.L. & DE SIMONE F. (1993). Improvements in the diagnosis of contagious bovine pleuropneumonia through the use of monoclonal antibodies. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz*., **12**, 559–570.

DEDIEU L., MADY V. & LEFEVRE P.C. (1994). Development of a selective polymerase chain reaction assay for the detection of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC (contagious bovine pleuropneumonia agent). *Vet. Microbiol.*, **42**, 327–339.

DUPUY V., MANSO-SILVAN L., BARBE V., THEBAULT P., DORDET-FRISONI E., CITTI C., POUMARAT F., BLANCHARD A., BRETON M., SIRAND-PUGNET P. & THIAUCOURT F. (2012). Evolutionary history of contagious bovine pleuropneumonia using next generation sequencing of *Mycoplasma mycoides* Subsp. *mycoides* “Small Colony”. *PLoS ONE*, **7**(10):e46821.

EUROPEAN COMMISSION (2001). Health & Consumer Protection Directorate-General. Diagnostic tests for contagions bovine pleuropneumonia. Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare. Adopted 17 October 2001. SANCO/AH/R25/2001.

FREUNDT E.A., ERNO H. & LEMCKE R.M. (1979). Identification of mycoplasmas. *In:* Methods in Microbiology, Vol. 13, Bergen T. & Norris J.R., eds. Academic Press, London, UK, 377–434.

GAURIVAUD P. & POUMARAT F. (2012). Serodiagnosis of contagious bovine pleuropneumonia by immunoblotting. Euroreference, winter 2012, N°8, http://www.ansespro.fr/euroreference/Documents/ER08-Meth-PeripneumoEN.pdf

GONÇALVES R., REGALLA J., NICOLET J., FREY J., NICHOLAS R., BASHIRUDDIN J., DE SANTIS P. & PENHA GONÇALVES A. (1998). Antigen heterogeneity among *Mycoplasma mycoides* subsp *mycoides* SC isolates*:* discrimination of major surface proteins*. Vet. Microbiol.*, **63**, 13–28.

GOURGUES G., BARRÉ A., BEAUDOING E., WEBER J., MAGDELENAT G., BARBE V., SCHIECK E., JORES J., VASHEE S., BLANCHARD A., LARTIGUE C. & SIRAND-PUGNET P. (2016). Complete Genome Sequence of *Mycoplasma mycoides* subsp. *Mycoides* T1/44, a Vaccine Strain against Contagious Bovine Pleuropneumonia. *Genome Announc*., **4**, e00263-00216.

HUBSCHLE O., LELLI R., FREY J. & NICHOLAS R.A.J. (2002). Contagious bovine pleuropneumonia and vaccine strain T1/44. *Vet. Rec*., **150**, 615.

ISO/IEC (2005). ISO/IEC 17025:2005. General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories. International Organization for Standardization (ISO), www.iso.org.

LE GOFF C. & THIAUCOURT F. (1998). A competitive ELISA for the specific diagnosis of contagious bovine pleuropneumonia (CBPP). *Vet. Microbiol*., **60**, 179–191.

LORENZON S., DAVID A., NADEW M., WESONGA H. & THIAUCOURT F. (2000). Specific PCR identification of the T1 vaccine strains for contagious bovine pleuropneumonia. *Mol. Cell. Probes*, **14**, 205–210.

LORENZON S., MANSO-SILVÁN L. & THIAUCOURT F. (2008). Specific real-time PCR assays for the detection and quantification of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC and *Mycoplasma capricolum* subsp. *capripneumoniae*. *Mol. Cell. Probes*, **22** (5-6), 324–328.

MANSO-SILVÁN L., VILEI E.M., SACHSE K., DJORDJEVIC S.P., THIAUCOURT F. & FREY J. (2009). *Mycoplasma leachii* sp. nov. as a new species designation for *Mycoplasma* sp. bovine group 7 of Leach, and reclassification of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* LC as a serovar of *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*., **59** (Pt 6), 1353–1358.

MBULU R.S., TJIPURA-ZAIRE G., LELLI R., FREY J., PILO P., VILEI E.M., METTLER F., NICHOLAS R.A. & HUEBSCHLE O.J. (2004). Contagious bovine pleuropneumonia (CBPP) caused by vaccine strain T1/44 of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC. *Vet. Microbiol.,* **98**, 229–234.

MISEREZ R., PILLOUD T., CHENG., NICOLET J., GRIOT C. & FREY J. (1997). Development of a sensitive nested PCR method for the specific detection of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC. *Mol. Cell. Probe,* **11**, 103–111.

NIANG M., DIALLO M., CISSE O., KONE M., DOUCOURE M., ROTH J.A., BALCER-RODRIGUES V. & DEDIEU L. (2006). Pulmonary and serum antibody responses elicited in zebu cattle experimentally infected with *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC by contact exposure. *Vet. Res*., **37**, 733–744.

PROVOST A. (1972). Recherches immunologiques sur la péripneumonie. XIV. Description de deux techniques applicables sur le terrain pour le diagnostic de la maladie. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop*., **25**, 475–496.

PROVOST A., PERREAU P., BREARD A., LE GOFF C., MARTEL J.L. & COTTEW G.S. (1987). Péripneumonie contagieuse bovine. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz*., **6**, 565–624.

SANTINI F.G., VISAGGIO M., FARINELLI G., DI FRANCESCO G., GUARDUCCI M., D'ANGELO A.R., SCACCHIA M. & DI GIANNATALE E. (1992). Pulmonary sequestrum from Mycoplasma mycoides var. mycoides SC in a domestic buffalo; isolation, anatamo-histopathology and immuno-histochemistry. *Veterinaria Italiana*, **4**, 4–10.

SCHUBERT E., SACHSE K., JORES J. & HELLER M. (2011). Serological testing of cattle experimentally infected with *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* Small Colony using four different tests reveals a variety of seroconversion patterns. *BMC Vet. Res*., **7**, 72.

SHERIFF D. & PIERCY S.E. (1952). Experiments with an avianised strain of the organism of contagious bovine pleuropneumonia. *Vet. Rec.,* **64**, 615–621.

SRIVASTAVA N.C., THIAUCOURT F., SINGH V.P., SUNDER J. & SINGH V.P. (2000). Isolation of *Mycoplasma mycoides* small colony type from contagious caprine pleuropneumonia in India. *Vet. Rec*., **147**, 520–521.

WESONGA H.O. & THIAUCOURT F. (2000). Experimental studies on the efficacy of T1sr and T1/44 vaccine strains of *Mmm*SC against a field isolate causing contagious bovine pleuropneumonia in Kenya – Effect of a revaccination. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop*., **53**, 313–318.

YAYA A., GOLSIA R., HAMADOU B., AMARO A. & THIAUCOURT F. (1999). Essai comparatif d'efficacité des deux souches vaccinales T1/44 et T1sr contre la péripneumonie contagieuse bovine. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop*., **52**, 171–179.

*
* *

ЖИЧ: Үхрийн цээж өвчнийг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори бий.
(ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас мэдээлэл авна уу:
https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

Үхрийн цээж өвчнийг өвчнийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудтай холбогдож авна уу.

ЖИЧ: 1991 ОНД АНХ, 2021 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ

БҮЛЭГ 27 (3.4.9)

ҮХРИЙН ЭНЗООТ ЛЕЙКОЗ ӨВЧИН

А. УДИРТГАЛ

1. Өвчний тодорхойлолт, нөлөө

Үхрийн энзоот лейкоз (ҮЭЛ) өвчин нь *Retroviridae* овогт хамаарах үхрийн цусны цагаан эсийн хавдрын вирус (ҮЦЭХВ)-ээр үүснэ.

Халдвар ихэвчлэн эмнэл зүйн шинж тэмдгийн илрэлгүй байх ба халдвар авсан үхрийн зөвхөн 30-70%-д лимфоцитын тоо тогтмол олширч 0.1–10%-д нь хавдар (лимфосаркома) үүснэ. Амьтан аль ч насандаа халдвар авч болох ч хавдар ихэвчлэн соёолон наснаас хойш илэрнэ. Эмнэл зүйн шинж тэмдэг хавдрын байршлаас хамаарах ба тэжээл боловсруулалт хямрах, идэш тэжээлийн дуршил муудах, амьдын жин буурах, сульдах эсхүл биеийн байдал доройтох, заримдаа мэдрэлийн үйл ажиллагаа хямрах байдлаар илэрнэ. Тунгалгийн өнгөц зангилаа илт томорч арьсан дээр дарах, шулуун гэдсээр үзлэг хийхэд тэмтрэгдэнэ. Задлан шинжилгээгээр тунгалгийн зангилаа болон төрөл бүрийн эдэд шинэ гаж эсийн нэвчрэлтэй болсон нь харагдана. Жинхэнэ ходоод, зүрхний баруун тосгуур, дэлүү, гэдэс, элэг, бөөр, сархинаг, уушги, сав хамгийн ихээр нэрвэгдэнэ. Үхэрт лимфоцитын тоо тогтмол олшрох, улмаар хавдарт мэдрэмтгий байх нь удамшилтай холбоотой.

Малын дархлааны үйл ажиллагаа хямрах, сүргээс заазлагдах малын эзлэх хувь нэмэгдэхэд вирус нөлөөлдөг болохыг нотлох баримт бий. ҮЛВ-ийн шинжилгээгээр эерэг дүн үзүүлсэн сүргийн үнээний сааль сүү татрах дундаж хувийг сөрөг дүн үзүүлсэн сүргийн дундажтай харьцуулахад бараг адилхан буюу эерэгт 2.5%, сөрөгт 2.7% байгааг өргөн хүрээг хамарсан хоёр ч судалгаагаар тогтоогджээ (Emanuelsson нар, 1992; Ott нар, 2003). Эдгээр судалгааны үр дүн сүүлийн үеийн судалгаагаар дахин батлагдсан байна (Nekouei нар, 2016; Norby нар, 2016). Үүнээс гадна ҮЛВ-ий шинжилгээгээр эерэг дүн үзүүлсэн үнээний хээл авалт сөрөг урвалтай үнээнийхээс 7% бага байсныг тогтоожээ. ҮЛВ-ийн шинжилгээгээр эерэг сүрэгт зааз малын эзлэх хувь ихэсдэгээс гадна дэлэнгийн үрэвсэл, диарей, уушгины үрэвсэл зэрэг халдвараас шалтгаалдаг бусад өвчинд илүү мэдрэмтгий байдаг нь харагджээ (Emanuelsson нар, 1992). ҮЛВ-ийн халдвартай үхэрт хийсэн вакцинжуулалтын дараах дархлааны хамгаалалт бага байсныг бас мэдээлсэн байна (Frie нар, 2016; Puentes нар, 2016). Ийм учраас эмнэл зүйн өвчлөлгүй халдварын үе үргэлжлэх хугацаанд эмнэл зүйн илэрхий шинж тэмдэг үзүүлэхгүй ч ҮЛВ-ийн халдвар орогносоор байвал эдийн засагт хохирол учирсаар байна.

19-р зууны үед Европт ҮЭЛ гарч, тэндээсээ 20-р зууны эхний хагаст Америк тивд тархсан байх магадлалтай. Өвчин буцаад Америкаас Европт тархаж Хойд Америкаас үхэр импортолсон бусад улс оронд шинээр нэвтэрсэн байж болзошгүй (Johnson & Kaneene, 1992). ҮЛВ дэлхий даяар тархсан гэж үздэг ч олон жилийн тандах судалгааны хөтөлбөр хэрэгжүүлсний үр дүнд хэд хэдэн улс, ялангуяа Баруун Европын орнууд ҮЛВ халдвараас тайван болохоо албан ёсоор хүлээн зөвшөөрүүлжээ.

2. Эмгэг төрүүлэгчийн төрөлх чанар, ангилал

ҮЭЛ өвчнийг делта ретровирус болох ҮЦЭХВ-ээр үүсгэнэ. Бусад ретровирусийн адилаар ҮЦЭХВ-нь халдвар авсан амьтны эсийн геномтой нэгддэг (провирус) учраас насан туршдаа халдвартай болоход хүргэнэ. Уг вирусийг зориуд халдаахад хэд хэдэн зүйлийн амьтан халдвар авдаг ч байгалийн халдвар зөвхөн үхэр (*Bos taurus* болон *Bos indicus*), усны одос үхэр, капибара мэрэгчид тохиолдоно. Зориудын халдвар хийхэд хонь маш их мэдрэмтгий бөгөөд үхрийг бодвол өсвөр насанд нь хавдар үүснэ. Буга, туулай, харх, усан гахай, муур, нохой, хонь, резус сармагчин, шимпанзе, зээр, гахай, ямаа, одос үхэрт зориудын халдвар хийсний дараа эсрэгбиеийн орогномол хариу урвал илэрнэ.

3. Хүнд халдварлах боломж, биохамгаалал, био аюулгүй ажиллагааны шаардлага

ҮЛВ, ялангуяа халдвартай үнээний сүү хэрэглэснээр хүнд өвчин үүсгэдэг эсэхийг тодорхойлох зорилгоор хэд хэдэн судалгаа хийсэн байна (Burmeister нар, 2007; Perzova нар, 2000). Хүний хөхний хавдар үүсэхэд ҮЛВ холбоотой гэсэн таамаглал байсан (Buehring нар, 2015) боловч түүнийг бусад судлаачид баталсан нь үгүй байна (Gillet & Willems, 2016; Zhang нар, 2016). Иймхүү энэ өвчнийг малаас

хүнд халдварладаг гэж дүгнэхээр нотолгоо бүрдээгүй учраас өдгөө ҮЛВ хүнд аюул учруулахгүй гэж ерөнхийдөө үздэг болжээ. ҮЦЭХВ захын цусны дан бөөмт эс (ЗЦДБЭ) болон хавдрын эсэд оршино. Биеийн янз бүрийн шингэн (хамар, гуурсан хоолойн шүүрэл, шүлс, сүү) дэх эс бүхий хэсэгт бас агуулагдана. Байгалийн замаар халдвар дамжих эсэх нь халдвар тээсэн эсийн дамжилтаас, жишээ нь төллөх үеийн дамжилтаас хамаарна. Цусны бохирдсон зүү, мэс заслын багаж, шулуун гэдэсний үзлэгийн бээлий гэх мэт эд материалаар дамжин халдварлана. Эдгээр гол хүчин зүйлийн нөлөө үгүй бол өөр замаар дамжин халдварлах нь голдуу ховор (Monti нар, 2005). Вирусийг цус сорогч шавж, ялангуяа хөх түрүү механикаар дамжуулах боломжтой. Вирусийн эсрэгтөрөгч болог провирусийн ДНХ-г халдвартай амьтны үр, сүү, уураг сүүнээс илрүүлэн ялган тогтоож болно (DusSantos нар, 2007; Romero нар, 1983). Гэхдээ эдгээр шүүрлээр байгалийн халдвар дамждаг эсэх нь тодорхой тогтоогдоогүй.

4. Ялгаварлан оношлох

Үхэрт лимфосарком үүсгэх цөөнгүй шалтгаан байж болох ч эдгээрээс тодорхой тогтоогдсон нь зөвхөн ҮЦЭХВ юм. Үхрийн тохиолдлын лейкоз (ҮТЛ) гэсэн нэр томьёог ихэвчлэн өсвөр амьтанд (тугал), мөн түүнчлэн лимфомын арьсны болон сэрээ булчирхайн хэлбэрийн үед хэрэглэгдэх ба ҮТЛ нь амьтны нас болон хавдрын тархалтаар тодорхойлогдоно. ҮТЛ-ын шалтгаан нь тодорхойгүй. Бас ҮТЛ болон ҮЭЛ аль алинд орохгүй лимфосарком маягийн эмгэг, ө.х. шалтгаан нь тодорхойгүй тунгалгийн олон зангилааны лимфома тохиолдож болзошгүй. Зөвхөн ҮЦЭХВ-ийн халдвараар үүсдэг лимфомыг лейкоз эсхүл үхрийн энзоотик лейкоз гэж нэрлэнэ. (Gillet нар, 2007).

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Үхрийн энзоот лейкоз өвчнийг оношлох шинжилгээний арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүйг батлах[b]	Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох[a] [b]	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд[b]	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах[a] [b]	Халдварын тархалт тогтоох - тандалт[b]	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгчийг илрүүлэх[c]						
Вирус ялгах[c]	☐☐☐	☑☐☐	☐☐☐	☑☐☐	☐☐☐	☐☐☐
ПГУ	☑☐☐	☑☑☐	☑☐☐	☑☑☐	☑☐☐	☐☐☐
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
АГНТУ	☑☑☐	☑☑☐	☑☑☐	☑☑☐	☑☑☐	☐☐☐
ЕЛИЗА	☑☑☑	☑☑☑	☑☑☑	☑☑☑	☑☑☑	☐☐☐

Түлхүүр үг:
☑☑☑ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
☑☑☐ = энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
☑☐☐ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
☐☐☐ = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй;
ПГУ -полимеразагийн гинжин урвал;
ЕЛИЗА = энзим холбоост дархлааны урвал;
АГНТУ = агарын гельд нэвчин тунадасжих урвал

[a] Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 1-р хавсралтаас үзэх
[b] Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 2-р хавсралтаас үзэх
[c] Эмнэл зүйн нэг ижил дээж дээр үүсгэгч илрүүлэх хэд хэдэн аргуудыг хослуулан хэрэглэхийг зөвлөдөг.

1. Үүсгэгчийг илрүүлэх, ялган таних

ҮЛВ нь хөндлөн дамжих халдвар үүсгэдэг ретровирус бөгөөд *Retroviridae* овгийн *Orthoretrovirinae* дэд овогт багтдаг *Deltaretrovirus* төрөлд хамаардаг. Энэ вирус бүтэц, үйл ажиллагаагаараа бичний Т лимфоцитийн 1, 2, 3 вирус (STLV-1, -2, -3), хүний Т лимфоцитийн 1, 2 вирус (HTLV-1, -2)-тэй хамааралтай. ҮЛВ-ийн гол бай эс нь В лимфоцит юм (Beyer нар, 2002; Gillet нар, 2007). Вирусийн нэгж хэсэг нь нуклео уураг p12, капсидийн уураг p24, трансмембраны глико уураг gp30, дугтуйн глико уураг

gp51, түүнчлэн хэд хэдэн энзим, түүний дотор урвуу-транскриптаза энзимийг кодлодог эерэг утгат дан утаслаг хоёр РНХ-ээс бүрдэнэ. Вирусийн геномын урвуу транскрипцийн дараа үүсдэг провирусийн ДНХ эзэн эсийн ДНХ-тэй тохиолдлоор холбогдон орших ба тэнд вирусийн үржил явагдахгүй. Халдвар авсан эсийг *in-vitro* орчинд ихэвчлэн захын цусны дан бөөмт эс (ЗЦДБЭ)-ийг илрүүлэгч эстэй хамт өсгөвөрлөхөд халдварлах чадвартай вирус үүсэх бөгөөд митогенээр өдөөгдвөл илүү хурдан үүсдэг байна.

1.1. Вирус ялгах

Этилен диамин тетра цууны хүчил (ЭДТА)-д авсан захын 1.5 мл цуснаас ЗЦДБЭ-ийг нягтын үеийн зөрүүгээр үелүүлэгч фиколл/натрийн метризоатын уусмал ашиглан салгаж, үнээний хээлийн уушги (ҮХУ)-ны 2 x 10^6 эсэд өсгөвөрлөсний дараа үнээний хээлийн 20%-ийн ийлдэс агуулсан 40 мл МЕМ орчинд 3-4 хоног ургуулна. Вирус ҮХУ-ны эсийн дан үед нийлмэл эс (синцити) үүсгэнэ. ЗЦДБЭ-ийг ҮХУ-ны эсгүйгээр 24 үүртэй хавтанд 3 өдөр өсгөвөрлөх замаар богино хугацааны өсгөвөр бэлтгэж болно (Miller нар, 1985). Үүний дараагаар өсгөврийн дээд шингэнд p24 ба gp51 эсрэгтөрөгчийг радио идэвхт дархлаа судлал (РИДС), энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА), иммунблот эсхүл агар гельд нэвчин тунадасжих урвал (АГНТУ)-ын аргаар илрүүлэх боломжтой бөгөөд ҮЛВ-ийн өчүүхэн хэсэг эсхүл ҮЛВ-ийн провирусийг электрон микроскоп эсхүл ПГУ-аар тус тус илрүүлж болно.

1.2. Полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ)-аар нуклеин хүчил илрүүлэх

ҮЛВ-ийн провирусийг илрүүлэхэд полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ)-ыг хэрэглэх талаар хэд хэдэн судлагчид тодорхойлсон байдаг (Fechner нар, 1996; Rola-Łuszczak нар, 2013). Геномын *gag, pol, env* мужид тохируулан бүтээсэн праймеруудыг хэрэглэхэд янз бүрийн үр дүн үзүүлж байжээ. Өнөөг хүртэл бодит цагийн ПГУ хамгийн мэдрэмтгий бөгөөд хурдан арга байсаар байна. Энд тайлбарласан аргууд нь gp51-ийг кодлогч env генийн праймерийн дараалалд суурилсан энгийн ПГУ болон pol генийг илрүүлэхэд суурилсан бодит цагийн ПГУ юм. Шинжилгээний үр дүнгийн баталгаатай байдлыг хангахын тулд урьдчилан сэргийлэх ерөнхий арга хэмжээ, хяналтын журмыг дагаж мөрдөнө (1.1.6 *Халдварт өвчнийг оношлох шинжилгээг баталгаажуулах зарчим, арга* бүлгийг үз).

ПГУ-ыг голчлон ийлдэс судлалын баталгаажуулах шинжилгээнд нэмэлт болгон хэрэглэдэг. ҮЛВ-ийн халдварыг ПГУ-аар дараах нөхцөлд бодгаль амьтанд илрүүлэх нь тохиромжтой:

i) Уураг сүүгээр дамжсан эсрэгбие агуулж буй нялх тугал шинжлэх;

ii) Шаардлага гарвал тохиолдлын лимфомаг халдварт лимфомагаас ялгаварлах;

iii) Мал төхөөрөх газарт илэрсэн сэжигтэй тохиолдлоос цуглуулсан хавдрын эд шинжлэх;

iv) ҮЛВ-ийн халдварын эсрэгбие хараахан үүсгээгүй байгаа тохиолдлыг шинжлэн илрүүлэх;

v) ЕЛИЗА-аар сул эерэг эсхүл тодорхойгүй дүн үзүүлсэн тохиолдлыг шинжлэх;

vi) Үнээнд удам зүйн үнэлгээний тогтмолжсон тандах шинжилгээ хийхэд (зохиомол хээлтүүлгийн төвд нэвтрүүлэхээс өмнө);

vii) Вакцин үйлдвэрлэхэд ашиглаж байсан үхэрт ҮЛВ байхгүй болохыг баталгаажуулах.

1.2.1. Аргын мэдрэх чанарын тохирол

i) *Анализийн мэдрэх чанар*
Хэдийгээр ПГУ-ын шинжилгээний онолын хувьд тооцоолсон мэдрэх чанар нь нэг бай молекул боловч практикт аналитик мэдрэх чанар нь провирусийн ДНХ-ийн 5-10 орчим бай молекул байх боломжтой.

ii) *Хуурамч-эерэг дүн*
Дээж хоорондын бохирдлын улмаас угсраа (nested) ПГУ-ын өндөр мэдрэх чанар нь хуурамч-эерэг дүн үзүүлж болзошгүй (Belak & Ballagi-Pordany, 1993). Үүнийг багасгахын тулд угсраа ПГУ тавих явцад агаарын урсгалын хөшигт төхөөрөмж буюу татах шүүгээ, арга зүйн өөр өөр үе шатанд зориулсан тусдаа өрөө, шинжлэх дээж болон сөрөг хяналт (жишээ нь хоосон дээж болгон хэрэглэх ус) нэг бүртэй ажиллахдаа шинэ бээлий эсхүл тусгай зориулалтын цодон онгойлгогч ашиглах зэрэг хэд хэдэн тусгай зааврыг мөрдөнө.

iii) *Хуурамч-сөрөг дүн*
ЗЦДБЭ-ийн зөвхөн багахан хэсэг вирусээр халдварлах боломжтой гэдгийг онцлон дурдах нь зүйтэй бөгөөд энэ нь шинжилгээний мэдрэх чанарыг хязгаарлахад хүргэдэг. Зарим дээжид агуулагдах саатуулагч бодис хуурамч-сөрөг дүн үзүүлж болзошгүй. Үүнийг баталгаажуулахын тулд урвал тавих бүрдээ олшруулалтын дотоод нэгээс доошгүй хяналт хэрэглэнэ. Үүнээс гадна дээж бүрд нэмэх дотоод хяналтыг шинжилгээнд ашиглаж болно.

1.2.2. Дээж бэлтгэх

Нягтаар нь салган хурилдуурдах аргаар ЭДТА-тай цусны дээжээс ЗЦДБЭ-ийг салгана. Зарим тохиолдолд, тухайлбал дээжийг хөлдөөсөн зэрэг тохиолдолд хөвмөл (бафи коат), эсхүл бүхэл цусыг орлуулан хэрэглэж болно.
Хавдар эсхүл бусад эдийг жижиглэн нэгэн жигд болгосон 10%-ийн цийдмэг болгосон байна.

1.2.3. ДНХ ялган авах

Мэдрэх чанарыг дээд түвшинд хүргэхийн тулд нийт ДНХ-ийг урьдчилан цэвэршүүлэх шаардлагатай. Шинжилгээнд тохирсон, цэвэршүүлэх олон тооны бэлэн цомог худалдаанд гарсан байгаа.

Бохирдох эрсдэлийг багасгахын тулд шинжилгээний бүх шатанд хамгаалалтын тохирсон арга хэмжээ авна (Belak & Ballagi-Pordany, 1993).

1.2.4. Ердийн угсраа ПГУ-ын арга зүй)

ҮЛВ-ийн провирусийн дарааллыг илрүүлэхэд зориулсан ПГУ-ын хэд хэдэн арга зүй нийтлэгдсэн ба Фехнер нарын (1996) боловсруулсан шинжилгээний аргыг жишээ болгон энд дэлгэрэнгүй оруулав.

Үүсгэгч/ Бай ген	Праймер/проб (5'–3')	Төвшрүүлэг	Дулаан сэлгэх мөчлөг[a]
Fechner нар, (1996); Ген банкинд нэвтрэх No.: K02120; 595х.с. эхний ПГУ, 444х.с. 2 дахь ПГУ			
ҮЦЭХВ / env ген	BLV-env-1: TCT-GTG-CCA-AGT-CTC-CCA-GAT-A BLV-env-2: AAC-AAC-AAC-CTC-TGG-GAA-GGG BLV-env-3: CCC-ACA-AGG-GCG-GCG-CCG-GTT-T BLV-env-4: GCG-AGG-CCG-GGT-CCA-GAG-CTGG	500 nM	30 мөчлөгө: 95°C/30 сек; 58°C/30 сек; 72°C/60сек Дараа нь 72°C/4 мин

[a] Дулаан сэлгэлтийн өмнөх денатурацийн шат ороогүй.

Ердийн ПГУ-аар гарсан үр дүнг баталгаажуулахад ашиглах аргыг товч тодорхойлов (агарозын гель электрофорезийг дэлгэрэнгүй тайлбарлах шаардлагагүй).

i) Үр дүнг үнэлэх

   а. ПГУ бүтээгдэхүүн нь эерэг хяналттынхтай адил, 444 bp хэмжээний гарцтай
   б. байвал сорьцыг эерэг гэж үзнэ.
   в. Сөрөг сорьцод 444 bp хэмжээний гарцтай ПГУ бүтээгдэхүүн байх ёсгүй.
   г. Хэрэв эерэг хяналт сөрөг, эсхүл сөрөг хяналт эерэг дүн үзүүлбэл шинжилгээг давтана.

ii) Баталгаажуулах шинжилгээ
ПГУ-ын бүтээгдэхүүний дарааллыг тогтоож баталгаажуулна

1.2.5. Бодит цагийн ПГУ-ын аргачлал

ҮЛВ-ийн провирусийн дарааллыг илрүүлэхэд зориулсан бодит цагийн ПГУ-ын хэд хэдэн арга зүй нийтлэгдсэн (Jaworski нар, 2018; Pluta нар, 2024). Rola-Łuszczak нарын (2013) боловсруулсан аргыг жишээ болгон энд дэлгэрэнгүй оруулав.

Үүсгэгч/ Бай ген	Праймер/проб (5'–3')	Төвшрүүлэг	Дулаан сэлгэх мөчлөг[a]
Rola-Łuszczak нар, (2013); Ген банкинд нэвтрэх I No.: K02120			
ҮЦЭХВ /pol ген	MRBLVL: CCT-CAA-TTC-CCT-TTA-AAC-TA MRBLVR: GTA-CCG-GGA-AGA-CTG-GAT-TA Проб: 6FAM GAA-CGC-CTC-CAG-GCC-CTT-CA BHQ1	400 nM 400 nM 200 nM	Тус бүр 50 мөчлөгөөр 94°C/60 секунд болон 60°C/60 секунд

i) Үр дүнг үнэлэх

а. Бүх хяналт нь байвал зохих үр дүнгээ заах буюу эерэг хяналт нь тогтоосон хязгаарт багтаж, сөрөг ряналт, темплатгүй хяналт хоёул Ct (босго мөчлөг) утга өгөхгүй байх ёстой

б. Шинжилсэн дээж
1) 40-өөс бага эсхүл тэнцүү мөчлөгийн босго (Ct) утгатай дээжийг эерэг гэж үзнэ.

2) Мөчлөгийн босго утга гараагүй эсхүл 40-өөс их утгатай дээжийг сөрөг гэж үзнэ.

в. Эерэг хяналт сөрөг үр дүн үзүүлэх эсхүл темплатгүй хяналт эерэг дүн Ct утга үзүүлбэл шинжилгээг давтана. Эргэлзээтэй буюу босго утгатай ойролцоо (жишээ нь: мөчлөгийн босго утга нь 40) дээжийг дахин шинжлэн баталгаажуулна.

г. Баталгаажуулах шинжилгээ: шаардлагатай бол ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг түүний дараалыг тогтоон баталгаажуулна.

2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ

ҮЛВ-ийн халдвар үхэрт амьдралынх нь турш хадгалагдах учир эсрэгбиеийн хариу урвал тогтмол үүснэ. Эсрэгбиеийг халдвар авснаас хойш 3-16 долоо хоногт илрүүлэх боломжтой. Эхээс дамжсан эсрэгбие арилах хүртлээ 6 эсхүл 7 сар хадгалагдана. Эхээс дамжсан буюу идэвхгүй эсрэгбиеийг жинхэнэ халдварын улмаас үүссэн эсрэгбиеэс ялгаварлах боломжгүй. Харин ҮЛВ-ийн провирусийг ПГУ-аар илрүүлэх замаар идэвхтэй буюу жинхэнэ халдвар болохыг баталгаажуулж болно. Эхээс дамжсан идэвхгүй эсрэгбие тугалыг халдвараас хамгаалж байдаг. Эсрэгбие цуснаас уураг сүү рүү шилждэг төллөхийн өмнөх ба дараах үед үнээний ийлдсэнд эсрэгбие АГНТУ-аар илрэхгүй байх боломжтой. Тиймээс энэ үед (төллөхийн өмнөх 2-6 долоо хоногт болон төллөсний дараах 2-6 долоо хоногт) авсан ийлдсийг АГНТУ-аар шинжлэхэд сөрөг дүн үзүүлсэн бол түүнийг үнэмшилгүй гэж үзэн дахин шинжилнэ. Харин энэ үед АГНТУ-аар гал уургийг шинжлэх боломжтой.

ҮЛВ-ийн gp51 болон p24 уурагт чиглэсэн эсрэгбиеийг илрүүлэхэд хамгийн хялбар байдаг. Глико уургийн gp51-ийн эсрэгбие эрт үүсдэг тул тогтмол хэрэглэгддэг ихэнх АГНТУ болон ЕЛИЗА урвалаар илэрнэ. Эдгээр урвалыг тавих арга нийтлэгдсэн (Dimmock нар, 1987; European Commission, 2009) бөгөөд АГНТУ-тай харьцуулахад мэдрэх чанарааraa ЕЛИЗА ихэвчлэн илүү байна.

ХБНГУ-ын үндэсний лавлах лабораториос (FLI Reims)[52] ЕЛИЗА урвалд хэрэглэх цацраг туяагаар боловсруулж, хөлдөөн хатаасан лавлагааны ийлдсийг авах боломжтой. Төрөл бүрийн АГНТУ болон ЕЛИЗА урвалыг хэрэглэн өмнөх лавлагааны ийлдэс болох Е4-тэй харьцуулан баталгаажуулсан "Е05" гэгдэх тохируулсан болно.

2.1. Энзим холбоост дархлааны урвал

Шууд бус эсхүл саатуулагч ЕЛИЗА-г хэрэглэж болно. Энэ хоёр аргад суурилсан шинжилгээний цомог худалдаанд бэлэн гарсан бөгөөд ийлдэс эсхүл сүүний дээж шинжлэхэд өөр өөр цомог шаардлагатай. Нийлүүлсэн дээж шинжлэхэд зарим ЕЛИЗА-ийн мэдрэх чанар хангалттай байдаг. ЕЛИЗА урвалыг хатуу фазат бичил хавтанд явуулна. Хавтангийн үүрийн ханыг ҮЛВ-ийн эсрэгтөрөгчөөр шууд бүрсэн эсхүл олон гарлын эсхүл ижил гарлын баригч эсрэгбие ашиглан бүрсэн байдаг. Эсрэгтөрөгчийг ҮЛВ-ээр халдварлуулсан дамжмал эсийн өсгөврийн дээд шингэн хэсгээс бэлтгэнэ. Худалдаанд гарсан цомогт хонины хээлийн бөөр (ХХБ)-

ний эсийг хамгийн түгээмэл ашигласан байдаг (Van der Maaten & Miller, 1976). Элдэв янзын вирусийн халдваргүй, Бельги дэд хэвшлийн провирус агуулсан РО714 шинэ дамжмал эсийг 2004 оноос хойш хэрэглээнд гаргажээ (Beier нар, 2004). Эсрэгтөрөгчийг нь урьдчилан тогтоосны дагуу фосфат буферийн давсны уусмалд шингэлэн (жишээ нь 1/10) хэрэглэнэ. Зарим тохиолдолд хавтангийн үүрний ханыг урьдчилан эсрэгтөрөгчөөр бүрээд цомогт оруулан худалдаалдаг. Сүүний дээжийг гашлахаас хамгаалж хадгалааслагч зарим бодис нэмж болно. Ийм дээжийг 4°C-д 6 долоо хоног хүртэл хугацаагаар хадгалахад тэр бүр гашилж муудахгүй.

2.1.1. Энзим холбоост дархлааны саатуулагч урвал - Ийлдэсний дээж шинжлэх ЕЛИЗА

Дан эсхүл нийлүүлсэн ийлдэсний сорьцод эсрэгбие илрүүлэхэд дараах арга тохиромжтой.

2.1.1.1. Шинжилгээний аргачлал

i) Хавтангийн үүрийг бүрэх

Хавтангийн бүх үүрийн ханыг бүрэгч буферт урьдчилан шингэлсэн ҮЛВ-ийн эсрэгбие (100 мкл/үүр)-ээр бүрж, хавтанг битүүлэн 4°C-д 18 цаг байлгана. Угаагч уусмалаар хавтангийн үүрийг дүүргэж 3 минут байлгасны дараа үүрийг хоослох замаар гурван удаа угаах стандарт угаалтыг гүйцэтгэнэ. Угаагч буферт шингэлсэн ҮЛВ-ийн эсрэгтөрөгч (100 мкл/үүр) нэмж, хавтанг битүүлэн 37°C хэмийн дулаан тогтоогуурт 2 цаг байлгана. Стандарт угаалтыг гүйцэтгэнэ.

ii) Дээж болон хяналтыг бэлтгэх, нэмэх

Эерэг болон сөрөг хяналтын ийлдсийг угаагч буферт (1/2) урьдчилан шингэлж, хяналт тус бүрийг дөрвөн үүрэнд (100 мкл/үүр) нэмнэ. Нийлүүлсэн сорьц шинжлэх бол ийлдэсний 80 сорьцыг нийлүүлсний дараа угаагч буферээр 1/2 харьцаагаар шингэлэн бэлтгэж, нэг сорьцыг хоёр үүрэнд (100 мкл/үүр) нэмнэ. Дан ийлдэсний сорьц шинжлэх бол сорьцыг угаах буферээр 1/100 харьцаагаар шингэлж, нэг сорьцыг хоёр үүрэнд (100 мкл/үүр) нэмнэ. Дээжийг хавтангийн бүх үүрэнд нэмсний дараа хавтанг битүүлэн 4°C-д 18 цаг байлгана. Угаагч уусмалаар үүрийг дүүргэсэн даруйдаа хоослох маягаар угаалтыг түргэн хийнэ.

iii) Коньюгат болон субстрат бэлтгэх, нэмэх

Үнээний хээлийн 10%-ийн ийлдэс нэмсэн угаагч буферээр урьдчилан шингэлж биотинжүүлсэн эсрэгбиеийг бүх үүрэнд (100 мкл/үүр) нэмж, хавтанг битүүлэн зайлагч дээр тавьж 37°C-д 1 цаг байлгана. Стандарт угаалтыг өмнө дурдсантай адил хийнэ. Пероксидазагаар коньюгатласан авидиныг угаагч буферт урьдчилан шингэлж үүр бүрд (100 мкл/үүр) нэмнэ. Хавтанг битүүлэн зайлагч дээр тавьж 37°C- д 30 минут байлгана. Стандарт угаалт хийнэ. Үүр бүрд 100 мкл ортофениламин диамины субстрат нэмж, хавтанг бүрхэн 9 минут харанхуй газар тавина. Үүр бүрд 100 мкл 0.5 М хүхрийн хүчил нэмж урвалыг зогсооно.

2.1.2. Үр дүнг унших, үнэлэх

Хавтан уншигчийн заалтыг тэглэж, гэрэл шингээлтийг 490 нм-д уншина. Давхар долгионы урттай уншигч ашиглах бол 620-650 нм-ийн лавлагааны шүүлтүүрийг хэрэглэнэ. Зогсоогч уусмал нэмснээс хойш 60 минутын дотор урвалын үр дүнг уншина.

Сөрөг хяналтын гэрэл шингээлт 1.1 ±0.4 орчим байна; хэрэв гэрэл шингээлт 0.7- ооc бага байвал дээрх iii дахь шат (коньюгат болон субстрат бэлтгэх, нэмэх)-д өнгө үүсгэх хугацааг уртасгана. Харин гэрэл шингээлт 1.5-аас их байвал энэ хугацааг богиносгоно. Эерэг хяналтын гэрэл шингээлт сөрөг хяналтынхаас х 0.25-аар бага байна.

Хосоор шинжилсэн сорьцын үүр тус бүрийн гэрэл шингээлтийн утга сөрөг дөрвөн үүрний гэрэл шингээлтийн дунджийн х 0.5 утгатай тэнцүү эсхүл бага байвал дээжийг эерэг гэж үзнэ.

Хосоор шинжилсэн дээжийн үүр тус бүрийн гэрэл шингээлтийн утга сөрөг хяналтын дөрвөн үүрний гэрэл шингээлтийн дунджийн х 0.65 утгатай тэнцүү эсхүл илүү байвал дээжийг сөрөг гэж үзнэ.

Дээжийн гэрэл шингээлтийн утга сөрөг хяналтын гэрэл шингээлтийн х 0.5- аас х 0.65 хооронд байвал тухайн амьтнаас 1 сарын дараа дахин сорьц авч шинжлэхийг зөвлөдөг.

2.1.3. Энзим холбоост дархлааны урвалын мэдрэх чанар

Нийлүүлсэн сүү шинжлэх ЕЛИЗА урвалын мэдрэх чанарыг ДМАЭМБ-ын лавлагааны Е05 ийлдэс ашиглан үнэлж болно. Нийлүүлсэн дан сүүний нийт тооноос 250 дахин их сөрөг сүүгээр шингэлсэн Е05 ийлдэс шинжилгээгээр эерэг дүн үзүүлэх ёстой (Европын холбооны 88/406 тоот удирдамж). Жишээ нь сүүний 60 сорьцыг нийлүүлсэн бол Е05 ийлдэсний шингэлэлт 1/250 х 60 = 1/15,000 байна. Сүүний дан сорьцын тухайд сөрөг сүүнд 1/250 харьцаагаар шингэлсэн ДМАЭМБ-ын лавлагааны Е05 эерэг ийлдэс эерэг дүн үзүүлнэ.

Нийлүүлсэн ийлдэсний дээжийг шинжлэх тохиолдолд ДМАЭМБ-ын лавлагааны Е05 ийлдсийг нийлүүлсэн дан ийлдэсний нийт тооноос 10 дахин шингэлж шинжлэхэд эерэг дүн үзүүлэх ёстой. Жишээ нь ийлдэсний 50 сорьцыг нийлүүлсэн бол сөрөг ийлдсэнд 1/500 харьцаагаар шингэлсэн ДМАЭМБ-ын лавлагааны ийлдэс эерэг дүн үзүүлнэ. Дангаар нь шинжлэх ийлдэсний дээжийн шинжилгээнд 1/10 харьцаагаар шингэлсэн ДМАЭМБ-ын лавлагааны Е05 ийлдэс эерэг дүн үзүүлнэ.

Зарим ЕЛИЗА урвалын цомгийн тухайд зөвхөн эерэг дүнд үндэслэн бодгаль малын өвчний статусыг тодорхойлохыг зөвлөдөггүй бөгөөд хоёрдогч аргаар магадлан баталгаажуулахыг зөвлөдөг.

2.1.4. Энзим холбоост дархлааны шууд бус урвал – Сүүний дээж шинжлэх ЕЛИЗА

Нийлүүлсэн сүүний сорьцод эсрэгбие илрүүлэхэд дараах арга тохиромжтой.

2.1.5. Хяналт

Шинжилгээ бүрд хүчтэй эерэг, сул эерэг, сөрөг сүү болон шингэлэгчийн хяналтыг оруулан шинжилнэ. Хүчтэй эерэг хяналтыг ДМАЭМБ-ын лавлагааны Е05 ийлдсийг сөрөг сүүнд 1/25 харьцаагаар шингэлж бэлтгэнэ. Сул эерэг хяналтыг ДМАЭМБ-ын лавлагааны Е05 ийлдсийг нийлүүлсэн дан сүүний сорьцын нийт тооноос 25 дахин их сөрөг сүүнд шингэлж бэлтгэнэ. ДМАЭМБ-ын лавлагааны ийлдсийг халааж боловсруулаагүй, цөцгийгүй, хадгалааслагчгүй сүүгээр шингэлнэ.

2.1.6. Шинжлэх аргачлалын жишээ

i) Сүүний сорьцыг өрөм тогтох хүртэл хөргөгчид хөдөлгөөнгүй хадгалах (24–48 цаг), эсхүл үүний оронд 2000 эрг/мин -аар 10 минут хурилдуурдах бөгөөд тогтсон өрмийг нь шинжилгээний өмнө авна.

ii) ҮЛВ-ийн эсрэгтөрөгч болон хяналтын сөрөг эсрэгтөрөгчийг урьдчилан хавтангийн үүрнийх нь ханыг багана баганаар сөөлжин бүрсэн. Хавтангийн үүрэнд хийсэн 100 мкл угаагч буфер дээр 100 мкл шинжлэх дээжийг нэмж, 1/2 шингэлэлттэй болгоно. 2 үүрэнд хяналтын эсрэгтөрөгч, 2 үүрэнд ҮЛВ-ийн эсрэгтөрөгч тус тус нэмнэ.

iii) Хавтанг битүүлж, зайлагч дээр тавьж холино.

iv) Хавтанг 2–8°С-д 14-18 цаг байлгана.

v) Үүр бүрд 300 мкл угаах шингэлэгчийг нэмж буцаан асгасны дараа үүр бүрд 200 мкл угаах шингэлэгчийг нэмж 10 секунд зайлсны дараа үүрийг хоосолно. Эцэст нь үүр бүрд 300 мкл угаах шингэлэгчийг нэмж 3 минут байлгасны дараа үүрийг хоосолно.

vi) Угаах шингэлэгчид шингэлж бэлтгэсэн үхэр-эсрэг IgG-тунхууны пероксидазагаар цэвэршүүлсэн 200 мкл коньюгатыг үүр бүрд нэмж хавтанг тасалгааны хэмд 90 минут байлгана..

vii) Үүр бүрд 300 мкл угаах шингэлэгч нэмж хавтанг угаана. Угаах шингэлэгчийг асгасны дараа дахин 300 мкл угаах шингэлэгч нэмж 3 минут байлгасны дараа үүрийг хоосолно. Энэ шатыг давтана.

vii) ABTS (2,2'-азино-бис-[3-этилбензотиазол-6-сульфоны хүчил]) субстратаас 200 мкл-ийг нэмж хавтанг тасалгааны хэмд 90 минут харанхуй газар байлгана. Зогсоогч уусмалаас 50 мкл-ийг нэмж урвалыг зогсооно.

2.1.7. Үр дүнг унших, үнэлэх

Хавтан уншигчийн заалтыг тэглэж, гэрэл шингээлтийг 405 нм-т уншихаар тохируулна. Бичил хавтангийн бүх үүрийг зогсоогч уусмал нэмснээс хойш 2 цагийн дотор уншина. Сөрөг эсрэгтөрөгч агуулж байгаа үүрний гэрэл шингээлтийн утгыг эерэг эсрэгтөрөгч агуулж байгаа үүрний утгаас хасна. Шинжилсэн дээж бүрийн үүрний цэвэр гэрэл шингээлтийг хоёр хэмжиж дундчилна. Зэрэгцүүлж бэлтгэсэн сул эерэг хяналтыг мөн үүний адилаар хэмжиж дундчилна. Эдгээр хоёр үүрний гэрэл шингээлтийн утга бие биеэсээ 0.1 нэгж дотор багтаж байх ёстой.

Сул эерэг хяналтын нийт гэрэл шингээлтийн дунджилсан утга 0.2-0.6 нэгж байвал шинжилгээг хүчинтэй гэж үзнэ. Хүчтэй эерэг хяналтын нийт гэрэл шингээлтийн утга >1.0 нэгж байна. Сөрөг болон шингэлэгчийн хяналтын нийт гэрэл шингээлтийн утга нь үр дүн нь тодорхойгүй гэж үзэх утгын доод хязгаараас бага байна.

Дээрх шалгуурыг хангасан гэж үзвэл:

i) Шинжилсэн дээжийн нийт гэрэл шингээлтийн утга сул эерэг хяналтын утгаас их эсхүл тэнцүү байвал эерэг гэж үзнэ.

ii) Шинжилсэн дээжийн нийт гэрэл шингээлтийн утга сул эерэг хяналтын нийт гэрэл шингээлтийн утгаас 75% эсхүл түүнээс доош байвал тодорхойгүй гэж үзнэ.

жишээ нь:

хэрэв сул эерэг хяналтын нийт шингээлтийн утга = 0.40 байвал

тодорхойгүй гэж үзэх утгын доод хязгаар = 0.40 x 0.750 = 0.30 байх

ба

энэ жишээний хувьд тодорхойгүй гэж үзэх хэмжээ нь 0.30–0.39 хооронд буюу ≥0.40 утгатай дээжийг эерэг гэж үзнэ.

iii) Шинжилсэн дээжийн нийт гэрэл шингээлтийн утга "тодорхойгүй" гэж үзэх хэмжээний доод хязгаараас бага (дээрх жишээний хувьд <0.30) байвал сөрөг гэж үзнэ.

2.2. Агар гельд нэвчин тунадасжих урвал

АГНТУ нь бодгаль малаас авсан ийлдсэнд эсрэгбие илрүүлэхэд өвөрмөц боловч мэдрэх чанар тааруу шинжилгээний арга юм. Энэ урвалаар сүүний дээж (гал уургаас бусад)-ыг шинжлэхэд мэдрэх болон өвөрмөц чанар муу байдаг учир тохиромжгүй. АГНТУ нь хэрэглэхэд энгийн, хялбар арга бөгөөд өвчнийг устгах хөтөлбөрийг энэ аргад суурилан хэрэгжүүлэх нь маш тохиромжтой, үр нөлөөтэй болох нь харагдсан байна. Худалдаанд гарсан АГНТУ-ын шинжилгээний цомогт лавлагааны ийлдэс оруулсан байдаг.

2.2.1. Агар гель

Агар эсхүл агарозын 0.8–1.2%-ийн уусмалыг pH 7.2-той, 8.5% NaCl бүхий 0.2 М Трис буферт бэлтгэнэ. Агар бэлтгэх нэг арга нь нэрмэл 1 л усанд 24.23 г Трис метиламин уусгаж, 2.5 М HCl-оор pH-ийг нь 7.2 болгон тохируулна. 250 мл Трис/HCl-ийн уусмалд 85 г натрийн хлорид уусгасны дараа Трис/HCl-ийн уусмалыг 1 л хүртэл нэмнэ. 8 г агароз нэмж, холимгийг даралттай битүү чанагч эсхүл автоклавт 4.55 кг/кв. см-т 10 минут халаана. Холимгийг 15 мл-ээр хувааж 4°C-д ойролцоогоор 6 долоо хоног хадгалж болно.

2.2.2. Эсрэгтөрөгч

Эсрэгтөрөгч нь ҮЛВ-ийн өвөрмөц gp51 глико уураг агуулсан байх ёстой. Эсрэгтөрөгчийг хонины хээлийн бөөр (ХХБ)-ний халдварлуулсан эсийн дан үе эс

зэрэг эсийн өсгөврийн тохиромжтой системд бэлтгэнэ. ҮЛВ-ийн эсрэгтөрөгч үйлдвэрлэхэд ашигласан эс нь эс эмгэгшүүлэх нөлөөгүй үхрийн диарейн вирус, үхрийн ретровирус, үхрийн дархлаа хомсдол-төст вирус (лентивирус), үхрийн синцитиал вирус (спумавирус) тус тус агуулаагүй байна. 37°C-д 3-4 хоног өсгөвөрлөсний дараа ургуулах тэжээлт орчныг хадгалах орчноор солино. 7 хоногийн дараа стандарт трипсин/версений уусмал ашиглан эсийг хураана. Эсийн цийдмэгийг 500 g хурдаар 10 минут хурилдуурдана. Эсийг ургуулах тэжээлт орчинд уусган дахин сэргээнэ; эсийн 30%-ийг өсгөвөрлөх саванд буцаан хийж, үлдсэнийг нь устгана. Бүх өсгөврийн дээд хэсгийг цуглуулж авна. Цуглуулсан дээд хэсгийг тохирох аргаар 50-100 дахин өтгөрүүлнэ. Энэ өтгөрүүлгийг полиэтилен гликолд дүрсэн Вискингийн гуурсанд өтгөрүүлэх замаар, эсхүл аммонийн сульфатаар тунадасжуулсны дараа маш нарийн шүүлтүүрээр шүүх (*ultra-filtration*) замаар, эсхүл полиэтилен гликолд тунадасжуулсны дараа давсгүйжүүлэн полиакриламидын үрлэн багана ашиглан хэмжээгээр нь салгах замаар хийж болно. Эсрэгтөрөгч нь зонхилон gp51-ийг агуулах боловч p24-ийг бас агуулж болно.

ДМАЭМБ-ын лавлагааны Е05 ийлдэсний эсрэг таньцалж дараах байдлаар эсрэгтөрөгчийг gp51 глико уургаар нь стандартчилж болно: хоёр дахин шингэлсэн эсрэгтөрөгчийн бэлдмэлийг бэлтгэнэ. ДМАЭМБ-ын лавлагааны Е05 шингэлээгүй ийлдэсний эсрэг шинжлэхэд эсрэгтөрөгч болон ийлдэсний хооронд тэнцүү зайтай тунадасжилтын шугам үүсгэх хамгийн өндөр шингэлэлт нь 1 нэгж байна. 2 нэгж эсрэгтөрөгчийг шинжилгээнд хэрэглэнэ.

2.2.3. Эерэг нь тогтоогдсон хяналтын ийлдэс

Байгалийн халдвартай эсхүл зориудаар халдварлуулсан амьтан (үхэр эсхүл хонь)-аас эерэг хяналтын ийлдсийг бэлтгэнэ. Үүсэх тунадасжилтын шугам нь эсрэгтөрөгч болон хяналтын ийлдэсний үүрний хооронд тод ялгарах шугам байна. Сул эерэг дүн үзүүлдэг хяналтын эерэг ийлдэсний шингэлэлтийг урвалын мэдрэх чанарын илтгүүр болгон шинжилгээнд хамт хэрэглэнэ.

2.2.4. Сөрөг болох нь мэдэгдсэн сөрөг хяналтын ийлдэс

Халдваргүй амьтан (үхэр, хонь)-аас авсан ийлдсийг хэрэглэнэ.

2.2.5. Шинжлэх ийлдэс

Ямар ч зүйлийн мал, амьтны ийлдэс шинжлэхэд тохиромжтой.

2.2.6. Шинжлэх аргачлал

i) Агарыг усан халаагуурт халааж хайлуулсны дараа Петрийн аяганд цутгана (нэг бүр нь 15 мл хэмжээтэй, 8.5 см голчтой Петрийн аяга). Аяганд цутгасан агарыг цоолж үүр гаргахын өмнө 4°C-д 1 цаг байлгаж хөргөнө. Цоологч ашиглан төвдөө нэг, түүнийг тойрсон зургаан үүрийг зургаан өнцөгт хэлбэрээр гаргана. Янз бүрийн голчтой үүр гаргаж болно; үүрийг 6.5 мм голчтой, хоорондоо 3 мм зайтай гаргаад урвал тавихад хамгийн тохиромжтой хэв загвар болж байжээ. Агартай аягыг үүр гаргасан өдөртөө хэрэглэвэл үр дүн хамгийн сайн байна.

ii) Зургаан өнцөгт хэлбэрээр гаргасан үүрнүүдийн төвийн үүрэнд эсрэгтөрөгчийг хийнэ. Шинжлэх ийлдэс, эерэг хяналтын ийлдсийг гаднах үүрнүүдэд сөөлжүүлэн хийнэ. Аяга тус бүрд эерэг хяналтын ийлдэс, сул эерэг хяналтын ийлдэс, сөрөг хяналтын ийлдсийг шинжлэх ийлдэсний оронд хийж хяналт болгон шинжилнэ.

iii) Аягыг чийгээ барьдаг хайрцагт хийн тасалгааны хэм (20–27°C)-д байлгаж байгаад үр дүнг 24, 48, 72 цагт тус тус уншина.

iv) *Үр дүнг үнэлэх:* Шинжилсэн ийлдэс хэрэв эсрэгтөрөгчтэй тунадасжилтын өвөрмөц шугам, хяналтын ийлдэстэй ижил зурвас үүсгэвэл эерэг гэж үзнэ. Харин шинжилсэн ийлдэс эсрэгтөрөгчтэй тунадасжилтын өвөрмөц зурвас үүсгээгүй, түүнчлэн хяналтын ийлдэсний зурвас руу махийгаагүй бол сөрөг гэж үзнэ. Өвөрмөц бус зурвас үүсэж болно: эерэг хяналтын үүсгэсэн зурвастай нийлээгүй эсхүл зурвасаас хазайсан байж болно. Шинжилсэн ийлдэс нь эсрэгтөрөгчтэй тунадасжилтын мэдэгдэхүйц зурвас үүсгэхгүйгээр хяналтын

ийлдэсний зурвасыг эсрэгтөрөгч рүү махийлгасан байвал сул эерэг гэж үзнэ. Ийм урвалыг хэрэв сөрөг эсхүл эерэг аль нэгт нь ангилж чадахгүй бол тодорхойгүй гэж үзнэ. Хяналтууд үүсгэх ёстой тунадасжилтын зурвас үүсгэхгүй байвал урвалыг хүчингүйд тооцно. Тодорхойгүй эсхүл сул эерэг дүн үзүүлсэн ийлдсийг өтгөрүүлэн давтан шинжилж болно.

В. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

Туршилтын вакцины судалгааны ажил ахицтай байгаа хэдий ч ҮЭЛ өвчинтэй тэмцэх вакцин худалдаанд хараахан гараагүй байна.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

BEIER D., RIEBE R., BLANKENSTEIN P., STARICK E., BONDZIO A. & MARQUARDT O. (2004). Establishment of a new bovine leucosis virus producing cell line. J. Virol. Methods, 121, 239–246.

BELAK S. & BALLAGI-PORDANY A. (1993). Experiences on the application of the polymerase chain reaction in a diagnostic laborato- ry. Mol. Cell. Probes, 7, 241–248.

BEYER J., КЦLLNER B., TEIFKE J.P., STARICK E., BEIER D., REIMANN I., GRUNWALD U. & ZILLER M. (2002). Cattleinfected with bovine leukaemia virus may not only develop persistent B-cell lymphocytosis but also persistent B- cell lymphopenia. J. Vet. Med. [B], 49, 270–277.

BUEHRING G.C., SHEN H.M., JENSEN H.M., JIN D.L., HUDES M. & BLOCK G. (2015). Exposure to bovine leukemia virus is associated with breast cancer: a case-control study. PLoS One, 10, e0134304.

BURMEISTER T., SCHWARTZ S., HUMMEL M., HOELZER D. & THIEL E. (2007). No genetic evidence for involvement of Deltaretroviruses I adult patients with precursor and mature T-cell neoplasms. Retrovirology, 4, 11.

DIMMOCK C.K., RODWELL B.J. & CHUNG Y.S. (1987). Enzootic bovine leucosis. Pathology, Virology and Serology. Australian standard diagnostic techniques for animal disease. No. 49. Australian Agricultural Council.

DUS SANTOS M.J., TRONO K., LAGER I. & WIGDOROVITZ A. (2007). Development of a PCR to diagnose BLV genome in frozen semen samples. Vet. Microbiol., 119, 10–18.

EMANUELSSON U., SCHERLING K. & PETTERSSON H. (1992). Relationships between herd bovine leukemia virus infection status and reproduction, disease incidence, and productivity in Swedish dairy herds. Prev. Vet. Med., 12, 121–131.

EUROPEAN COMMISSION (2009). Commission Decision of 15 December 2009 amending Annex D to Council Directive 64/432/EEC as regards the diagnostic tests for enzootic bovine leucosis (2009/976/EU): Official Journal of the European Union L 336, 36-41.

FECHNER H., KURG A., GEUE L., BLANKENSTEIN P., MEWES G., EBNER D. & BEIER D. (1996). Evaluation of polymerasechain reaction (PCR) application in diagnosis of bovine leukaemia virus (BLV) infection in naturally infected cattle. Zentralbl. Veterinarmed. B, 43, 621–630.

FRIE M.C., SPORER K.R., WALLACE J.C., MAES R.K., SORDILLO L.M., BARTLETT P.C. & COUSSENS P.M. (2016).Reduced humoral immunity and atypical cell-mediated immunity in response to vaccination in cows naturally infected with bovine leu- kemia virus. Vet. Immunol. Immunopathol., 182, 125–135.

GILLET N., FLORINS A., BOXUS M., BURTEAU C., NIGRO A., VANDERMEERS F., BALON H., BOUZAR A.-B., DEFOICHE J.,

BURNY A., REICHERT M., KETTMANN R. & WILLEMS L. (2007). Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. Retrovirology, 4, 18.

GILLET N.A. & WILLEMS L. (2016). Whole genome sequencing of 51 breast cancers reveals that tumors are devoid of bovine leuke- mia virus DNA. Retrovirology, 13, 75.

JAWORSKI J.P., PLUTA A., ROLA ŁUSZCZAK M., MCGOWAN S.L., FINNEGAN C., HEENEMANN K., CARIGNANO H.A., ALAVAREZ I.MURAKAMI K., WILLEMS L., VAHLENKAMP T.W., TRONO K.G. CHOUDHURY B. & KUZMAK J. (2018). Interlaboratory Comparison ofSix Real-Time PCR Assays for Detection of Bovine Leukemia Virus Proviral DNA. J. Clin. Microbiol., 56, 10.

JOHNSON R. & KANEENE J.B. (1992). Bovine leukaemia virus and enzootic bovine leukosis. Vet. Bull., 62, 287–312.

KHUDHAIR Y.I., AL-SHAMMARI A.M., HASSO S.A. & YASEEN N. (2021). Isolation of Bovine leukemia virus from cows withpersistent lymphocytosis in Iraq. Veterinary and Animal Science, 14.

KUCZEWSKI A., ORSEL K., BARKEMA H.W., KELTON D.F., HUTCHINS W.A. & VAN DER MEER F.J.U.M. (2018). Short communication:Evaluation of 5 different ELISA for the detection of bovine leukemia virus antibodies. J. Dairy Sci., 101, 2433–2437.

MILLER L.D., MILLER J.M., VAN DER MAATEN M.J. & SCHMERR M.J.F. (1985). Blood from bovine leukaemia virus- infected cattle: antigen production correlated with infectivity. Am. J. Vet. Res., 46, 808–810.

MONTI G.E., SCHRIJVER R. & BEIER D. (2005). Genetic diversity and spread of bovine leukaemia virus isolates in Argentine dairy cattle. Arch. Virol., 150, 443–458.

NEKOUEI O., VAN LEEUWEN J., STRYHN H., KELTON D. & KEEFE G. (2016). Lifetime effects of infection with bovine leukemia virus on longevity and milk production of dairy cows. Prev. Vet. Med., 133, 1–9.

NORBY B., BARTLETT P.C., BYREM T.M. & ERSKINE R.J. (2016). Effect of infection with bovine leukemia virus on milk production in Michigan dairy cows. J. Dairy Sci., 99, 2043–2052.

OTT S.L., JOHNSON R. & WELLS S.J. (2003). Association between bovine-leukosis virus seroprevalence and herd- level productivity on US dairy farms. Prev. Vet. Med., 61, 249–262.

PERZOVA R.N., LOGHRAN T.P., DUBE S., FERRER J., ESTEBAN E. & POIESZ B.J. (2000). Lack of BLV and PTLV DNAsequences in the majority of patients with large granular lymphocyte leukaemia. Br. J. Haematol., 109, 64–70.

PUENTES R., DE BRUN L., ALGORTA A., DA SILVA V., MANSILLA F., SACCO G., LLAMBH S. & CAPOZZO A.V. (2016).Evaluation of serological response to foot-and-mouth disease vaccination in BLV infected cows. BMC Vet. Res., 12, 119.

ROLA-ŁUSZCZAK M., FINNEGAN C., OLECH M., CHOUDHURY B. & KUŹMAK J. (2013). Development of an improved real time PCR for the detection of bovine leukaemia provirus nucleic acid and its use in the clarification of inconclusive serological test results. J. Virol. Methods, 189, 258–264.

ROMERO C.H., CRUZ G.B. & ROWE C.A. (1983). Transmission of bovine leukaemia virus in milk. Trop. Anim. Health Prod., 15, 215–218.

TRONO K.G., PEREZ-FILGUEIRA D.M., DUFFY S., BORCA M.V. & CARRILLO C. (2001). Seroprevalence of bovine leukemia virusin dairy cattle in Argentina: comparison of sensitivity and specificity of different detection methods. Vet. Microbiol., 83, 235–248.

VAN DER MAATEN M.J. & MILLER J.M. (1976). Replication of bovine leukaemia virus in monolayer cell cultures. Bibl. Haematol., 43, 360–362

YONEYAMA S., KOBAYASHI S., MATSUNAGA T., TONOSAKI K., LENG D., SAKAI Y., YAMADA S., KIMURA A., ICHIJO T., HIKONO H. &MURAKAMI K. (2022). Comparative Evaluation of Three Commercial Quantitative Real-Time PCRs Used in Japan for BovineLeukemia Virus. Viruses, 14, 1182.

ZHANG R., JIANG J., SUN W., ZHANG J., HUANG K., GU X., YANG Y., XU X., SHI Y. & WANG C. (2016). Lack ofassociation between bovine leukemia virus and breast cancer in Chinese patients. Breast Cancer Res., 18, 101. No abstract available.

*

* *

ЖИЧ: Үхрийн энзоот лейкозыг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори бий.
(ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас мэдээлэл авна уу: https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

Үхрийн энзоот лейкозыг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудтай холбогдож авна уу.

Хавсралт 1: Үхрийн энзоот лейкоз өвчин

Шинжилгээний зорилго: Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох; эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Шинжилсэн популяци	Баталгаажуулсан тайлан	Давуу тал	Сул тал	Эх сурвалж
Вирус ялган авах ☑☐☐ Үхэр	ЗЦДБЭ ЗЦДБЭ тарьсан эсийн өсгөвөр	Лавлах шинжилгээнд Угсраа ПГУ болон ЕЛИЗА аргуудыг ашигласан. Эсийн 6 өсгөврийн 2-т нь ЭЭН илэрсэн (ОМч=33%)	Байхгүй: Энэ аргыг ердийн тогтмолжсон оношилгоонд хэрэглэхийг зөвлөдөггүй. Харин энэ аргыг ж.нь *in vivo* нөхцөлд хийх дараагийн шинжилгээнд вирус ялган авах шаардлагатай тохиолдолд хэрэглэнэ.	Эх сурвалжийг үзэх	Ялган авсан вирусийг цааш *in-vitro* эсхүл *in-vivo* нөхцөлд шинж чанарыг нь нарийн тодорхойлох эсхүл бусад шинжилгээнд ашиглаж болно	1. Удаан, хугацаа их шаардсан, гүйцэтгэхэд хэцүү, өртөг өндөр 2. Төрөл бүрийн мэдрэмтгий эс сонгоход амаргүй 3. Зөвхөн тодорхой тохиолдолд хэрэглэхэд тохиромжтой байж болно. Ж.нь байнга лимфоцит олширдог амьтан гэх мэт тохиолдолд.	Khudhair нар, (2021)

Хавсралт 2: Үхрийн энзоот лейкоз өвчин

Шинжилгээний зорилго: Популяци халдваргүйг тогтоох; Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох; Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд; Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах: Халдварын тархалт тогтоох - тандалт

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Шинжилсэн популяци	Баталгаажуулсан тайлан	Давуу тал	Сул тал	Эх сурвалж
ПГУ Угсраа ПГУ Бодит цагийн ПГУ ☑☐☐ Үхэр	ЗЦДБЭ, бүхэл цус, хавдарын эдээс эсхүл тунгалгийн зангилаа, дэлүү зэрэг эдийн дээжээс ялгаж авсан геномын ДНХ	Угсраа ПГУ: Лавлах шинжилгээнд ЕЛИЗА болон АГНТУ-ыг ашигласан. Угсраа ПГУ-ын ОМч 100% байсан бол ЕЛИЗА болон АГНТУ-ын ОМч тус тус 82.7% болон 71.2% байв.	Угсраа ПГУ-аар эерэг, ҮЭЛВ-ийн халдвартай 52 үхэр	Эх сурвалж үзэх	1. ҮЭЛВ-ийн эсрэгбие үүсэхээс өмнө халдварыг шууд, мэдрэмтгий, түргэн илрүүлнэ 2. ҮЭЛВ-ийг халдварын эхний шатад эсхүл уураг сүүнд эсрэгбие байх үед илрүүлнэ	1. Ихэнх тохиолдолд ДНХ бэлдмэл шаардагдана 2. ПГУ-ыг саатуулагч бодис, провирус бага байвал хуурамч сөрөг гарна 3. Дамжих бохирдол үүсэж болзошгүй	Fechner нар, (1996)

		Бодит цагийн ПГУ: Лавлах шинжилгээнд ЕЛИЗА аргыг ашигласан. Хэрэглэсэн арга техникээс хамаарч ОМч 56%- 98% хэлбэлзэж байв.	7 улс дахь халдвартай сүргээс сонгосон ийлдэс судлалаар эерэг 52 үхэр		1. Угсраа ПГУ-ынхтай адил давуу талтай 2. Провирусийн ачааллыг тоон утгаар хэмжих боломжтой. 3. Олон тооны дээжийг өндөр бүтээмжээр шинжлэхэд тохиромжтой 4. Хөндлөн бохирдох эрсдэл бага	1.Угсраа ПГУ-ын 1, 2-т дурдсантай адил сул талтай 2. Өндөр өртөгтэй тоног төхөөрөмж, урвалж шаарддаг, ж.нь проб зэргийг бага, дунд орлоготой улс орнууд олж авахад хүндрэлтэй байж болно.	Jaworski нар (2018
		Хэрэглэсэн арга техникээс хамаарч ОМч 98.4%- 99.4% хэлбэлзэж байв.	Ийлдэс судлалаар эерэг 317 үхэр				Yoneyama нар (2021)
АГНТУ ☑☑☐ Үхэр	Ийлдэс, эсрэгбие, p24, gp51	Лавлах шинжилгээнд вестерн блотын аргыг ашигласан. АГНТУ-ын ОМч 95.9% байсан бол ОӨч нь 95.7% байв.	19 сүргийн 399 үхрийг АГНТУ болон вестерн блотоор шинжилсэн.	Эх сурвалжаас лавлах	1. Өвөрмөц чанар маш өндөр 2. Шинжилгээ хийхэд техникийн хувьд энгийн, хялбар 3. Өртөг бага	1.Мэдрэх чанар сул (халдвар авснаас хойш 4–8 долоо хоногийн дараа Эб илэрнэ) 2. Хугацаа урт, үр дүнг ерөнхийдөө 3 хоногийн дараа уншдаг. 3. Үр дүнг уншиж, үнэлэх нь шинжлэгчийн дүгнэлтээс хамаарах тул үр дүнг хоёр шинжээчээр уншуулахыг зөвлөдөг.	Yoneyama нар (1998)
ЕЛИЗА ☑☑☑ Үхэр	Ийлдэс, сүү, эсрэгбие p24, gp51	Лавлах шинжилгээг ПГУ ашиглан хийж Байсений загвараар тооцоход харьцангуй ОМч 91.0 (CI: 87.8– 94.3), ОӨч 83.9 (CI: 77.3–90.5) байв.	Нийт 6 сүргийн 524 үхэр. Үүнд 1) ийлдэс судлалаар ҮЭЛВ-ийн халдвартай болох нь нотлогдоогүй нэг сүрэг 2) үхрийн 50%-иас дээш нь ийлдсийн эерэг урвалтай нэг сүрэг 3) бие гүйцсэн үхрийн 5%-иас бага нь ийлдсийн эерэг урвалтай нэг сүрэг 4) ҮЭЛ өвчний байдал тодорхойгүй 3 ферм	Эх сурвалжаас лавлах	1) Мэдрэх чанар өндөр (халдвар авснаас хойш 2–4 долоо хоногийн дараа Эб илэрнэ), өвөрмөц чанар сайн 2) Үр дүнг тоон утгаар гаргах боломжтой 3) Шинжилгээг хэдхэн цагийн дотор хийнэ 4) Шинжилгээ хийх техникийн хувьд хялбар 5) Олон тооны дээжийг өндөр бүтээмжтэйгээр илрүүлэх шинжилгээнд ашиглахад тохиромжтой	1) АГНТУ-тай харьцуулахад өвөрмөц чанар сул, хуурамч эерэг дүн гарч болзошгүй	Monti нар (2005)
		Лавлах шинжилгээнд ПГУ ашигласан. Харьцангуй ОМч 97.2%, ОӨч 97.5% байв.	ПГУ-аар 339 саалийн үнээ шинжилсэн. 178 нь эерэг, 161 нь сөрөг.				Trono нар (2001)

		Харьцангуй ОМч 100% (CI: 87–100) болон ОӨч 95% (CI :83–99) - 100% (CI :87– 100) хооронд хэлбэлзэж байв.	5 сүргийн ҮЭЛВ эерэг 54, сөрөг 62 нийт 116 саалийн үнээ. Ийлдэс судлалын статусыг таван ЕЛИЗА шинжилгээнд үндэслэн тогтоосон.				Kuczewski нар (2018)

ЖИЧ: 1991 ОНД АНХ, 2025 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

БҮЛЭГ 28 (3.4.10)

ЦУСАН ХАЛДВАР (*PASTEURELLA MULTOCIDA* 6:B 6:6a E ИЙЛДСЭН ХЭВШИЛ)

А. УДИРТАЛ

Цусан халдвар (ЦХ) өвчин нь Ази, Африкийн олон улс оронд үхэр, одос үхэрт элбэг тохиолдох ба өвчлөл, үхлийн хувь өндөр, эдийн засаг, экосистемд үлэмж их хохирол учруулна (Bain нар, 1982; Carter & De Alwis, 1989; De Alwis, 1992; Mustafa нар, 1978; Shivachandra нар, 2011; Singh нар, 1996). Энэ өвчин Ази, Европын хэд хэдэн ус оронд зэрлэг хөхтөн амьтанд бүртгэгджээ (Carigan нар, 1991; Rosen, 1981). Ази тивийн олон улс оронд энэ өвчин борооны улирлын онцлог цаг ууртай (ихээхэн чийглэг бөгөөд халуун) үед ихэвчлэн дэгдэнэ. Уг өвчин амьтны хамар залгиур дотор ихэнхдээ комменсиал орших Грам сөрөг коккобацилл болох *Pasteurella multocida*-аар үүсгэгдэнэ. Өвчнийг голдуу Намиока, Карделийн системийн 6:B болон 6:E хэвшилтэй дүйцэх Азийн ийлдсэн хэвшил B:2 болон Африкийн ийлдсэн хэвшил E:2 (Кардел, Хедлстений систем) үүсгэнэ. Зэрлэг хивэгчдэд B:2,5 ийлдсэн хэвшил зонхилон оршдог бол алаг бугад бас B:3,4 ийлдсэн хэвшил байгааг мэдээлжээ (Aalbæk нар, 2009). Энэтхэгт үхэр, усны үхэрт ЦХ-тай төстэй байдал үүсгэдэг, тухайлбал A:1, A:3 гэх мэтийн холимог бусад ийлдсэн хэвшил бүртгэгдсэн байна (Kumar нар, 1996; 2004). Цусан халдвар газар зүйн тархалт нь Ази, Африк, Ойрх Дорнод, Зүүн Европын зарим нутгийг хамардаг. Энэ өвчин Мексик, Төв болон Өмнөд Америкт одоог хүртэл батлагдаж бүртгэгдээгүй байна.

B:2 эсхүл E:2 омгоор үүссэн цусан халдварын эмнэл зүйн илрэх хэв шинж нь халуурах, хамраас шингэн гоожих, амьсгалын эрхтний үйл ажиллагаа хямрах, амнаас хөөсөрхөг шингэн гарах ба эцэстээ өвчилсөн амьтан босож чадахгүй болж улмаар үхнэ. A:1 болон A:3 ийлдсэн хэвшлийн халдварын үед уушгины үрэвсэл давамгайлж үхэж хорогдоно. Цус үжих нь өвчний бүх хэлбэрийн үед илрэх гол онцлог шинж тэмдэг юм. Өвчний нууц үе 3-5 хоногт хэлбэлзэнэ. Хэт цочмог явцтай тохиолдолд эмнэл зүйн ямар нэгэн шинж тэмдэг үзүүлэлгүйгээр амьтан гэнэт үхэж болзошгүй (Carter & De Alwis, 1989; De Alwis, 1992). Ерөнхийдөө одос үхэр цусан халдвар өвчинд үхрээс илүү мэдрэмтгий бөгөөд өвчний эмнэл зүйн тов тодорхой шинж тэмдэг үзүүлэн илт хүнд хэлбэрээр өвчилнө. Доод эрүү, хүзүү, өвчүүний арьсан дор нэлэнхий хавагнах нь энэ өвчний ялгагдах шинж тэмдэг юм. Өвчин байнга гардаг нутагт бараг бяруу болчихсон тугал, өсвөр мал хорогдох нь элбэг.

Цусан халдвар өвчинд мэдрэмтгий ихэнх амьтны хүүрт задлан шинжилгээ хийхэд нэлэнхий цусархаг хавангийн улмаас хүзүү хэсгээр илэрхий хөөж хавагнасан байх нь нийтлэг. Түүнчлэн эд, эрхтнүүд, ялангуяа усавхи бүрхүүлд энд тэндгүй цэг маягаар цус харвасан байна. Цээжний, үнхэлцгийн, хэвлийн хөндийд бүлэгнэсэн цус, ийлдэс бүхий шингэн хуримтлагдсан байж болзошгүй. Уушгинд салс ихээр хуримтлагдсан, хавантай, мөгөөрсөн болон гуурсан хоолой, хамрын хөндийд нэлэнхийдээ хөөстэй байна. Бичил харууpаар шинжлэхэд уушгины завсрын эдийн үрэвсэл, уушгины хаван, олон төрлийн эдэд нейтрофил, макрофагийн голомтолсон нэвчрэл үүссэн нь харагдана. Эдгээр бүх өөрчлөлт цусны хүнд хэлбэрийн үжил болон цус үжлийн улмаас үүсдэг шокын үед илэрдэг өөрчлөлттэй адилхан байдаг.

Цусан халдвар нутагшмал улс оронд энэ өвчин олон амьтныг хамран байнга дэгддэгийн адилаар өвчин хаяа гардаг нутагт ч гэсэн мөн адил дэгдэнэ (Carter & De Alwis, 1989; De Alwis, 1992). Цусан халдвар үхэр, одос үхэрт шүлхий өвчний дэгдэлтийг дагасан хоёрдогч хүндрэл учруулдаг нь тогтоогджээ. Халдварын эхний шатад эмчилгээ хийхгүй бол үхлийн хувь бараг 100 хүрнэ (Carter & De Alwis, 1989; De Alwis, 1992). Цусан халдварын олон эмд тэсвэртэй омгууд шинээр бий болж байгаа (Shivachandra нар, 2011) учраас цусан халдвараар амьтан хорогдох тохиолдлыг дорвитой бууруулахын тулд түүнд бичил биетний мэдрэг чанарын сорил тавьж аль тохирох антибиотикийг сонгон хэрэглэх шаардлагатай.

Эмнэл зүйн шинж тэмдэг, бие бүтцийн эмгэг хувирал, өвчлөл, хорогдлын бодит байдалд тулгуурлан өвчнийг оношилно. Уламжлалт болон молекулын шинжилгээний аргыг ашиглан эмгэг төрүүлэгчийг ялган авч шинж чанарыг тогтоон оношийг баталгаажуулж байх шаардлагатай. *P. multocida* B:2 болон E:2 омгоор хүн амд үүссэн халдварын талаар баталгаажсан мэдээ байхгүй хэдий ч нэгэнт бусад ийлдсэн хэвшил хүнд халдварладаг учраас тэдгээрт өртөхөөс болгоомжлох хэрэгтэй. Биологийн

эрсдэлийн шинжилгээгээр тогтоосон биоаюулгүй ажиллагаа, тусгаарлалтын зохих түвшинд энэхүү бичил биетэнтэй харьцаж ажиллана (1.1.4 Биоаюулгүй ажиллагаа ба биохамгаалал*: Мал эмнэлгийн лаборатори, туршилтын амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандарт* бүлгийг үз).

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Шинжилгээний арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүйг тогтоох	Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах	Халдварын тархалт тогтоох – Тандалт	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгчийг илрүүлэх[(a)]						
Бактери өсгөвөрлөх	–	–	+	+++	+	–
Эсрэгтөрөгч илрүүлэх	–	–	+	+++	+	–
Хулганад эмгэг үүсгэх сорил	–	–	+	+++	+	–
Угтуулах электрофорез	–	–	+	+++	+	+
Тавиур шилний наалдуулах урвал	–	+	+	+++	–	–
ПГУ	–	+	+	+++	+	–
Бодит цагийн ПГУ	–	+	+	+++	+	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ЦНШБУ	–	+	+	++	+	+++

Түлхүүр үг:
+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
++ энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй
УЭФ = Угтуулах электрофорез урвал;
ПГУ = Полимеразагийн гинжин урвал;
ЦНШБУ = цус наалдуулах шууд бус урвал;.
[(a)]Үүсгэгчийг ялган тогтоох төрөл бүрийн шинжилгээг эмнэл зүйн нэг ижил сорьцод хийхийг зөвлөдөг.

1. Үүсгэгчийг ялгах, илрүүлэх

1.1. Бактери өсгөвөрлөх болон биохимийн шинжилгээний арга

ЦХ өвчний төгсгөлийн шатад цусны жинхэнэ үжил явагдах учраас өвчилсөн амьтнаас үхэхийнх нь өмнөхөн сорьц авах хэрэгтэй. Өвчний эхэн үед *P. multocida* цусанд байхгүй байж болзошгүй. Өвчтэй амьтны хамрын шүүрэл эсхүл биеийн шингэнд үүсгэгч бактери тэр бүр байдаггүй. Өвчтэй амьтны цусаар эргэлдэж байгаа бактери антибиотикийн эмчилгээ хийж байгаа үед дарангуйлагдах тул тийм амьтны цуснаас авсан сорьцод бактери илрэхгүй байж болзошгүй.

Цусны сорьц эсхүл зүрхнээс арчдасыг тухайн амьтныг үхээд удаагүй байхад нь авбал шаардлага хангана. Хэрэв амьтан үхээд удсан бол мөчдийн ясны (атгаал чөмөг, дунд чөмөг, шилбэ зэрэг) чөмгийг бактери ялгахад ашиглаж болно. Задлан шинжилгээ хийх нөхцөлгүй бол цусыг гүрээний хураагуур судаснаас зүсэлт хийж эсхүл хатгаж авна. Цусны сорьцыг зөөвөрлөлтийн аль ч стандарт орчинд хийгээд мөсөөр хөргөн асгарахаас хамгаалан лабораторид илгээнэ. Хэрэв цусны сорьцыг цөөн хэдэн цагийн дотор лабораторид хүргэж чадахааргүй бол түүнийг хөлдөөж болно. Гэвч олон дахин хөлдөөж гэсгээхэд бичил биетэн устаж болзошгүй учраас аль болохоор хөлдөөхгүй байх нь зүйтэй.

Халдварт өртсөн амьтны цусны түрхцийг Грамын, Лейшманы эсхүл метилийн хөх будгаар будна. Үүсгэгч бичил биетэн нь Грамаар сөрөг, хоёр туйл нь будагдсан богино бацил харагдана. Зөвхөн микроскопоор шууд дурандаж шинжлээд эцсийн онош тавьж болохгүй.

Физиологийн ариун, 2-3 мл уусмалд хийж уусгасан цусны сорьц эсхүл арчдасыг өсгөвөрлөнө. Үүнээс гадна мөчдийн урт ясны гадаргууг алкоголоор арчиж халдваргүйтгээд хагалж чөмгийг нээгээд түүнийг үжилгүй аргаар гарган авч өсгөвөрлөх өөр нэг хувилбар бий. Хэрэв өсгөвөрлөх материал шинэ, элдэв бохирдолгүй эсхүл өсгөвөрлөх материалд байж магадгүй *Pasteurella*-г дарангуйлахын хамт өөрөө үржиж чадах хөндлөнгийн бичил биетнээр бохирдуулаагүй (амьтныг үхсэний дараа) нөхцөлд л ихэвчлэн шууд өсгөвөрлөж болно.

Амь сорил тавихын тулд хамар/цусны арчдасаас бэлтгэсэн бага хэмжээний (0.2 мл) уусмал эсхүл физиологийн уусмалд хийсэн хэсэгхэн эд/ясны чөмгийг хулганын арьсан дор эсхүл булчинд тарина. Хулгана ихэнхдээ гаднын бичил биетнийг илрүүлэх биологийн “дэлгэц” болдог. Хэрэв амьдрах чадвартай *P. multocida* байгаа бол халдвар хийснээс хойш 24-36 цагийн дараа хулгана үхэх ба цусны түрхцэд *P. multocida*-ийн цэвэр өсгөвөр харагдана. Амьтны харьцангуй хуучирсан хүүрээс (хамрын арчдас болон эдийн сорьц) үндсэн сорьцыг авч ирүүлдэг хэдий ч хулганаар дамжуулахад цуснаас нь (зүрхнээс авахыг чухалчлах) ихэвчлэн *P. multocida* цэврээр өсгөвөрлөгддөг. Үүсгэгч бичил биетнийг түүний хэлбэр зүй, өсгөврийн шинж чанар, биохимийн сорил, ийлдэс судлалын шинжилгээгээр ялган тогтооно. Бактерийн үүсгэгчийг ялангуяа маш их бохирдсон хамар/эдийн сорьцоос ялган авах өөр аргагүйд хүрвэл хулганад халдвар хийх аргыг хэрэглэнэ.

Pasteurella-г өсгөвөрлөхөд цус 5% агуулсан казейн/сахароз/хөрөнгийн (CSY) агар сайн тохирно. Энэ тэжээлт орчны бүрэлдэхүүнд казейны гидролизат (3 г), сахароз (3 г), хөрөнгийн ханд (5 г), натрийн хлорид (5 г), усгүй, хоёр калитай гидроген ортофосфат (3 г), 1 литр хүртэл нэрмэл ус орно. 1.5%-иар агар нэмсний дараа pH -ыг 7.3–7.4-д тохируулна. Тэжээлт орчныг 1 бар даралтаар 15 минут автоклавдаж ариутгана. 45–50°C хүртэл хөргөсний дараа, тугалын цус 5%-иар (*P. multocida* эсрэгбие агуулаагүй) нэмнэ (Wijewardana нар, 1986). Цустай энгийн агар бас хэрэглэж болно.

Шинээр ялган авсан *P. multocida* цустай агар дээр 37°C-д 24 цаг өсгөвөрлөхөд гөлгөр, сааралдуу гялтгардуу, бүүдгэр, ойролцоогоор 1 мм голчтой колони үүсгэнэ. CSY дээр илүү том колони өсгөвөрлөгддөг бол ялангуяа цусгүй агар дээр өсгөвөрлөөд удсан колони нэлээд жижигхэн байдаг. *Pasteurella multocida* Макконкейн агар дээр ургадаггүй. Грамаар будсан цус эсхүл эдийн түрхэц Грам сөрөг, богинохон, зуувандуу, хоёр туйл нь будагдсан кокко бацил хэлбэртэй харагдана. Ялангуяа удсан өсгөвөрт үүсгэгч уртаараа янз бүрийн хэмжээтэй болж түүнд хэлбэр зүй, шинж чанарын өөрчлөлт гарна. Метилийн хөх эсхүл Лейшманы будгаар будахад үүсгэгчийн хоёр туйл илүү тод будагдана.

ЦХ-ын үүсгэгч оксидаза, каталаза, индол үүсгэж нитратын агууламжийг ууруулна. Хүхэрт ус төрөгч болон уреаза үүсгэхгүй, цитрат болон шингэрүүлсэн желатиныг ашиглахгүй. Глюкоз болон сахароз ферментацид орохдоо ямагт зөвхөн хүчил үүсгэнэ. Ихэнх омог сорбитолыг ферментацид оруулна. Зарим омог арабиноза, ксилаза, мальтозыг ферментацид оруулдаг бол салицин болон лактоз бараг ферментацид ордоггүй.

P. multocida-ийн ЦХ өвчин үүсгэгч омгийн нэг шинж чанар нь гиалуронадаза энзим үүсгэдэг (Carter & Chengappa, 1980). Өсгөвөрлөгдөх шинж чанар, биохимийн шинжилгээгээр төрөл болон зүйлийг ялган тогтоосны дараа гиалуронадаза үүсэлтийг шалгаж ЦХ үүсгэж байгаа пастерелийг тогтоох өвөрмөц шинжилгээ болгон ашиглаж болно.

Гиалуроны хүчил үүсгэдэг өсгөврийг декстроз цардуулын агартай аяганы төв хэсгээр татан тарьж өгнө. Гиалуронидаза үүсгэх эсэхийг шалгах *Pasteurella* өсгөврийг аяганы баруун буланд татан суулгана. Аягыг 37°C-д 18 цаг байлгана. Уг нь гиалуроны хүчил үүсгэдэг *Streptococcus equi*-г ашигладаг байсан боловч энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжтой өсгөвөрт бүрээсжсэн салслаг А хэлбэрийн *P. multocida*-ийн өсгөвөр тооцогдож байна. Гиалуроны хүчил үүсгэдэг өсгөврийн салслаг ургалт тарьсан өсгөврүүдийн огтлолцох цэгт хүрээд ургалт нь нарийн шугаман хэлбэртэй болох ба энэ нь шинжилж байгаа өсгөврөөс гиалуронидаза үүсэж байгааг харуулна. Өсгөврийн аягаа шинээр бэлтгээд чийгшүүлэгчтэй дулаан тогтоогуур ашиглахад гиалуроны хүчил үүсэх нь нэмэгдэх ба үүний дараа үр дүнд үнэлгээ өгнө.

1.2. Ийлдсэн хэвшил тодорхойлох арга

P.multocida-ийн ЦХ өвчин үүсгэдэг ийлдсэн хэвшлийг ялган тогтооход ашигладаг ийлдсэн хэвшил тодорхойлох хэд хэдэн арга бий. Эдгээр аргад тавиур шилний наалдуулах түргэн урвал (Namioka & Murata, 1961a), үүсгэгчийн бүрхүүлээр нь хэвшил тогтоох шууд бус цус наалдуулах урвал (Carter, 1955), давсны хүчлээр боловсруулсан эс ашиглан их биеийн эсрэгтөрөгчөөр хэвшил тогтоох арга (Namioka & Murata, 1961b), агарын гельд нэвчин тунадасжих дархлааны урвал (Anon, 1981; Heddleston нар, 1972; Wijewardana нар, 1982), угтуулах электрофорезийн арга (CIEP) (Carter & Chengappa, 1981) орно.

Жиших тусгай омог ашиглан түүний эсрэг туулайнаас гарган авсан хэт дархлаат эсрэг ийлдсийг дээр дурдсан ихэнх шинжилгээнд ашиглана. CSY шөлөнд ургасан (6–8 цаг болсон) өсгөврөөс цустай CSY агарт тарилт хийнэ. Хонуут (18–20 цаг) өсгөвөрлөсний дараа өсгөврийг формалин 0.3%-иар агуулсан физиологийн уусмалд угаана. Эсийн цийдмэгийн бүүдэгшлийг МакФарландын №4 хуруу шилнийхтэй адил болгон тохируулна. Энэ цийдмэгээс туулайн хураагуур судсаар 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 мл-ийг 3-4 хоногийн зайтайгаар дэс дараалуулан тарина. Сүүлчийн тарилтаас хойш 7 хоногийн дараа туулайнуудад 0,5 мл адилхан, гэхдээ амьд цийдмэгийг арьсан дор эсхүл булчинд тарина. Туулайг 10 хоногийн дараа цусална. Ийлдсийг –20°C-д хадгалах ба тогтмол ашиглахад зориулан жижгээр тасалж авсан ийлдэс дээр 1/10,000-аар мертиолат нэмээд 4°C-д хадгална.

1.2.1. Тавиур шилний түргэн наалдуулах урвал (хэвшлийг бүрхүүлээр нь тогтоох)

Нэг колонийг хатган авч тавиур шил дээр физиологийн нэг дусал уусмалтай холиод нэг дусал эсрэг ийлдэс нэмж шилээ алгуурхан халааж өгнө. 30 секундын дотор бүдүүн ширэгтэй хөвсгөр наалдалт үүснэ. Хуучирсан өсгөвөр нэлээд удаж байж нарийн ширхэгтэй, мөхлөгжсөн наалдалд өгнө.

1.2.2. Цус наалдуулах шууд бус урвал (хэвшлийг бүрхүүлээр нь тогтоох)

Энэ урвалд анхандаа хүний “О” хэвшлийн улаан эсийг эсрэгтөрөгчөөр мэдрэгжүүлээд хэрэглэж байсан (Carter, 1955) боловч тун саяхнаас хонины цусны улаан эс хэрэглэх болов. (Sawada нар, 1985; Wijewardana нар, 1986). Эсрэгтөрөгчийг дараах байдлаар бэлтгэнэ:

Жиших омгийн 6–8 цагийн шөлөн өсгөврийг цустай CSY агартай аяганд суулгаад 37°C-д хонуут өсгөвөрлөнө. Өсгөврийг формалин 0.3%-иар агуулсан физиологийн 3 мл уусмалд хурааж авна. Дараа нь энэ цийдмэгийг 56°C-д 30 минут халаагаад 4°C-д 3000 *g*-д 15 минут хурилдуурдана. Дээд талын тунгалаг шингэнийг авч –20°C-д хадгална. Хэрэв хөргүүртэй хурилдуур байхгүй бол 1500 *g*-д 30 минут хурилдуурдахад дээд талын шингэн үүснэ. Үүнийг эсрэгтөрөгчийн хандмал болгон ашиглана. Хэвшлийг нь тогтоох гэж байгаа тодорхойгүй омгоос эсрэгтөрөгч хандлан авахад дээрхтэй адилхан аргачлалыг мөрдөнө.

Хонины цусыг цус үл бүлэгнүүлэгчтэй саванд үжилгүй аргаар авч 500 *g*-д 10 минут хурилдуурдана. Тунасан улаан эсийг физиологийн ариун уусмалд гурван удаа угаана. Дээр дурдсан аргаар тодорхойгүй омгоос бэлтгэсэн эсрэгтөрөгчийн хандмалыг цусны улаан эсийг мэдрэгжүүлэх эсхүл улаан эсэд нэвчүүлэн шингээхэд ашиглана. Үүний тулд 15 эзлэхүүн эсрэгтөрөгчийн хандмалыг цусны улаан эсэд нэмээд 37°C-д үе үе зайлж 1 цаг байлгана. Мэдрэгжүүлсэн улаан эсийг хурилдуурдаж сэргээгээд физиологийн ариун уусмалд гурван удаа угааж физиологийн уусмалд 1 хүртэл хувийн цийдмэг болгоно. Тунамал улаан эс (нэг эзлэхүүн) дээр хэвшил өвөрмөц хэт дархлаат эсрэг ийлдсийг (гурван эзлэхүүн) нэвчүүлэн шингээж дараа нь 500 *g*-д 10 минут хурилдуурдан цусны улаан эсийг тунаана. Нэвчин шингэсэн эсрэг ийлдсийг дараа нь 56°C-д 30 минут халааж идэвхгүйжүүлнэ.

Урвалыг хуруу шил эсхүл хавтанд хийх ба хоёр эгнээгээр тавина. Стандарт бичил таньцын хавтанд тавих урвалыг дор тодорхойлов.

i) Тодорхойгүй өсгөврийн бүрхүүлийн хандмалыг дээр дурдсан аргаар бэлтгэх ба хонины цусны улаан эсийг мэдрэгжүүлэхэд хэрэглэнэ. A, B, D, E хэвшлийн эсрэг туулайнаас гарган авсан тодорхой хэвшил өвөрмөц хэт дархлаат ийлдсийг дараах байдлаар шингэлнэ:

ii) Үүрнүүдийг дөрвөн тусдаа мөр болгон ашиглана. Эхний үүрнүүдэд 0.72 мл

физиологийн уусмал хийгээд уг уусмалаас дараагийн зургаа болон түүнээс илүү үүрэнд 0.4 мл-ээр хийнэ.

iii) Хэвшил өвөрмөц хэт дархлаат ийлдэс тус бүрийг тусад нь мөр мөрөнд нь шингэлэх ба үүний тулд эхний үүрэнд 0.08 мл эсрэг ийлдэс хийгээд сорууpаар холино. Энэ үүрнээс 0.4 мл-ийг авч дараагийн үүрэнд шилжүүлэн холих ба энэ үйлдлийг долоодугаар үүр хүртэл давтана. Үүний үр дүнд эхний үүрэн дэх шингэлэлт 1/10, дараагийнх нь шингэлэлт хоёр дахин их болно.

iv) Бүх үүр тус бүрд эсрэгтөрөгчийг нэвчүүлэн шингээсэн/мэдрэгжүүлсэн цусны улаан эсээс 0.4 мл хийж аяархан зайлаад тасалгааны хэмд тавина. Мэдрэгжүүлсэн цус нэмж үүрнүүд дэх ийлдэсний шингэлэлтийг хоёр дахин ихэсгэх маягаар ө.х. нэг дэх үүрэнд 1/20, хоёрдох үүрэнд 1/40 гэх мэтээр шингэлнэ. Эерэг, сөрөг, физиологийн уусмалын хяналтыг урвал тавих бүрдээ оруулна.

v) Үр дүнг эхлээд 2 цагийн дараа, уншиж 18 цагийн дараа сүүлийн уншилт хийнэ. Урвалын хотгор үүрний ханаар цусны улаан эсийн наалдалт үүсвэл урвалыг эерэг, үүрний гол ёроолд цусны эс товч маягаар хэлбэржвэл урвалыг сөрөг гэж үзнэ. Цус наалдалтын хэмжээнээс хамааруулан 1-4 оноо өгнө. Хэт дархлаат аль ийлдэс наалдалт үүсгэж байгаагаар хэвшил нь тодорхойгүй омгийг ялган таньж тогтооно. Бүх ийлдсийг хэрэглэхэд наалдалт өгөөгүй омгийг хэвшлийг нь тогтоох боломжгүй омогт тооцно.

ЦНШБУ-ыг тодорхойгүй омгийн хэвшил тогтооход болон В болон Е ийлдсэн хэвшлийг тогтооход илүү үр дүнтэй бөгөөд эдгээр омгийн эсрэг тоон шинжилгээнд хэрэглэхэд илүү найдвартай байдаг.

1.2.3. Агарын гельд нэвчин тунадасжих урвал

АГНТУ-ыг хэрэглэж байгаа эсрэгтөрөгч болон эсрэгбиеэс хамааруулан хэвшил тогтоох “бүрхүүлийн” мөн түүнчлэн “их биеийн” гэгдэх аргад хэрэглэдэг. Давхар нэвчилтийн арга хэрэглэгдэнэ. Цутгамал хатуу агар дээр төвдөө нэг түүнийг тойрон хүрээлэх зургаан үүр гаргана.

i) *Бүрхүүлээр нь хэвшил тогтоох:* Нобел агар эсхүл түүнтэй адилтгах агар 1.0%, дээд тал нь 1/10,000 төвшрүүлэгтэй мертиолат агуулсан 0.2 М фосфатын буферээр гелийн орчин бэлтгэнэ (Anon, 1981; Wijewardena нар, 1982). Бүрхүүлээр нь хэвшил тогтоодог ЦНШБУ-д ашигладагтай адилхан эсрэгтөрөгч, эсрэгбие хэрэглэнэ (Carter, 1955). Стандарт эсрэг ийлдсийг төвийн үүрэнд, харин түүнийг тойрсон үүрнүүдэд шинжлэх ийлдсээ стандарт нэг угсааны эсрэгтөрөгчтэй сөөлжүүлэн хийнэ.

ii) *Их биеийн эсээр хэвшил тогтоох арга:* Натрийн хлоридын 0.85%-ийн уусмалд Нобелийн тусгай агар эсхүл түүнтэй адилтгах агарыг 0.9%-ийн төвшрүүлэгтэйгээр найруулж гелийн орчин бэлтгэнэ.

iii) Эсрэгтөрөгч бэлтгэхийн тулд аяга тус бүрийн өсгөврийг формалин 0.3%-иар агуулсан натрийн хлоридын 8.5%-ийн 1 мл уусмалд хурааж авна. Цийдмэгийг 100°С-д 1 цаг халааж хурилдуурдан эсийг суулгаад дээд талын шингэн хэсгийг эсрэгтөрөгчөөр ашиглана.

iv) Их биеийн 16 хэвшлийн эсрэг ийлдсийг (Heddleston нар, 1972) тахианд бэлтгэнэ. Тосон эмульстэй бактериныг [1] (1 мл) 12– 16 долоо хоногийн бойжилттой эр шувууны хүзүүний дунд хэсгийн арьсан дор тарина. Дараагийн тарилтыг 3 долоо хоног өнгөрсний дараа өвчүүний хоёр талд тус бүр 0.5 мл буюу нийт 1 мл-ийг цээжний арьсан дор тарина. Шувуудыг 1 долоо хоногийн дараа цусалж ийлдсийг ялгаад 01%-ийн тиомерсал болон 0.06%-ийн фенолоор хадгалааслана. Ийлдсийг их биеийн бүх хэвшил болон ийлдсийн эсрэг шинжилж солбицох урвал үзүүлснийг нь хаяна. В:2-ын эсрэг зарим эсрэг ийлдэс

[1] Нимгэн үе эрдэс тосоор (хүчлүүр) хучигдсан шөлөн дэх бактерийн эсрэгтөрөгчийг эмульсжүүлэгч бодис (энэ тохиолдолд ланолин- ноосны зунгаг)-оор эмульс болгоно (тогтворжуулна). Үүнийг хийхдээ бактери (шөл) бүхий усан фазыг тосон фазтай (хүчлүүр) холилдуулахгүй. Эмульсжүүлэгч бодист шаардагдах тосны хувь хэмжээ ланолины цуврал бүрээс хамааран хэлбэлзэх тул тухай бүр тохируулна. Ланолины эзлэх хувь өндөр байвал эмульс илүү тогтвортой байна.

их биеийн 5 дахь хэвшилтэй солбицох урвалд орж болзошгүй.

v) Урвалын эсрэгтөрөгчийг төвийн үүрэнд, янз бүрийн хэвшлийн эсрэг ийлдсийг захын үүрнүүдэд хийнэ. Цусан халдварын бүх ийлдсэн хэвшил (Азийн, Африкийн) 2 дугаар хэвшлийн эсрэг ийлдэстэй урвалд орно. Солбицох урвал 5 дугаар хэвшилд гарч болзошгүй.

1.2.4. Угтуулах электрофорез

Дархлаа судлалын угтуулах электрофорез нь бүрхүүлийн B болон E хэвшлийн өсгөврийг ялган тогтоох хурдавчилсан арга юм.

i) *Бүрхүүлийн бодис бэлтгэх*
Бүрхүүлийн бодисыг бэлтгэхдээ ЦНШБУ-д зориулан тодорхойлсонтой адил арга хэрэглэнэ.

ii) *Хэт дархлаат ийлдэс бэлтгэх*
Эсрэг ийлдсийг ЦНШБУ-д хэрэглэсэн шиг аргаар туулайд бэлтгэнэ.

iii) *Угтуулах электрофорезийн орчин*
Угтуулах электрофорез явуулах орчинд агароз (2.0 г), натрийн барбитон (2.06 г), диэтил барбитурын хүчил (0.37 г), нэрмэл ус (180 мл), 1/1000 мертиолат (20 мл).

iv) *Цуу хүчлийн вероналын буфер (барбитоны буфер).* Барбитоны буферт натрийн барбитон (29.24 г), цуу хүчлийн натри, усгүй (11.70 г), 0.1 N давсны хүчил (180 мл), нэрмэл ус 3 литр хүртэл орох ба pH 8.8 байх ёстой.

v) *Тавиур шил бэлтгэх*
Бодисын шилийг (57 мм × 70 мм) 12 мл эзлэхүүнтэй орчноор урьдчилан бүрж электрофорез явуулах тавиур шилийг бэлтгэнэ. 4 мм голчтой, хоорондоо 7 мм зайтай долоон үүрийг нэг эгнээгээр гаргана. Зэрэгцэх үүрнүүд хоорондоо (үүрний төвөөс нөгөө үүрний төв хүртэл) 6 мм зайтай байхаар гаргана.

vi) *Шинжилгээний аргачлал*
Катодтой талын үүрэнд 20 мкл бүрхүүлийн эсрэгтөрөгч хийх ба анодтой талын үүрэнд дээрхтэй тэнцүү эзлэхүүн бүхий хэвшил өвөрмөц эсрэг ийлдэс ачаална. Шинжилгээнд хэрэглэх хяналтад 0.85% -ийн натрийн хлоридийг эерэг эсрэг ийлдсийн эсрэг, бүрхүүлийн хандмалыг туулайн сөрөг ийлдэс болон эерэг сөрөг хяналтын дээжний эсрэг шинжилнэ. Электрофорзийн савыг барбитоны pH 8.8 бүхий буферээр дүүргэнэ. Эсрэгтөрөгч, эсрэг ийлдсийг 150 В-д (25 В/см) электрофоресд оруулна. Дараа нь тавиур шил дээр тунадасжилтын зурвас үүссэн эсэхийг шалгана.

vii) *Үр дүнг үнэлэх*
Эсрэгтөрөгч, эсрэг ийлдсийн үүрний хооронд ялгаран харагдах зурвас үүссэн бол үр дүнг эерэг гэж үзнэ.

1.2.5. Наалдуулах урвал (их биеийн эсрэгтөрөгч)

Их биеийн “О” эсрэгтөрөгчийг бэлтгэхдээ ЦНШБУ-д зориулан өмнө тодорхойлсонтой адил арга хэрэглэнэ (Namioka, 1978; Namioka & Murata, 1961b). 6-8 цагийн туршилтын өсгөврөөс цустай CSY агарт суулгаад хонуут өсгөвөрлөнө. Өсгөврийг аяга бүрээс формалин 0.3%-иар агуулсан физиологийн 2-3 мл уусмалд хурааж аваад 3000 *g*-аар 4°C-д 15 минут, (эсхүл 1200– 1500 *g* -аар тасалгааны хэмд 30–45 минут) хурилдуурдана. Хуримтлагдсан бактерийг давсны хүчлийн 25 мл нормал уусмалд (давсны хүчлийн нормал уусмалд найруулсан 0.85%-ийн физиологийн уусмал) уусган сэргээж Брауны No. 6 хуруу шилний бүүдэгшилтэй ойролцоо болгоод хонуут өсгөвөрлөнө. Цийдмэгийг дахин хурилдуурдаж дээд талын шингэнийг зайлуулаад үлдэц эсийг фосфатын буфержүүлсэн pH 5.0, 6.0, 7.0 бүхий гурван уусмал (ФБУ)-д дараалуулан угаана.

Эцэст нь цийдмэг дэх Брауны No. 6 хуруу шилний бүүдэгшилтэй тэнцүү үлдэц эсийг pH 7.0 бүхий ФБУ-д бэлтгэнэ. Өөр дотроо наалдах ямар нэг сэжиг илэрсэн цийдмэгийг устгах хэрэгтэй.

Жиших B:2 омог (Азийн ЦХ), E:2 (Африкийн ЦХ), 11:B (Австралын 989, ЦХ өвчний бус) бактерийн бүтэн эсийн цийдмэгийн эсрэг ийлдэс бэлтгэнэ. Наалдуулах урвалыг тавиур шил дээр тавих ба шинжлэх эсрэгтөрөгчийг гурван хэвшлийн ийлдэст хэрэглэнэ. Жижигхэн мөхлөгт наалдалт үүсэж байвал энэ нь их биеийн өвөрмөц наалдалтыг харуулна. Урвалыг стандарт эсрэгтөрөгч ашиглан явуулбал үр дүнг унших, үнэлгээ өгөхөд хялбар байна. Өвөрмөц бус хэсэгчилсэн наалдалт үүсвэл ийлдсийг арав дахин шингэлээд шинжлэх болон стандарт эсрэгтөрөгчийн эсрэг урвалд оруулбал их биеийн эсрэгтөрөгчийг ялган тогтооход ач холбогдолтой.

1.2.6. Ийлдсэн хэвшлийг нэрлэн ангилах

Хэвшил тогтоох хоёр систем өргөн хэрэглэгдэж байна. Эхнийх нь Картерын ЦНШБУ (Carter, 1955) эсхүл АГНТУ-аар (Anon, 1981; Wijewardena нар, 1982) “бүрхүүлээр”нь хэвшил тогтоох арга юм. Нөгөө арга нь Намиока, Мурата (Namioka, 1978; Namioka & Murata, 1961b; 1961c) нарын болон Хедлестон нарын (1972) “соматик/их биеээр” нь хэвшил тогтоох арга болно. Ийлдсэн хэвшлийг нэрлэн ангилахдаа их биеийн-бүрхүүлийн гэсэн хэвшил тогтоох хосолмол арга ашиглах ёстой гэдэг дээр ерөнхийдөө санал нэгдсэн байдаг. Энэ хоёр системийг Намиока-Картерын болон Картер-Хедлестоны систем гэж нэрлэн хэрэглэх нь нийтлэг. Хуучны системээр ЦХ өвчин үүсгэдэг Азийн болон Африкийн ийлдсэн хэвшлийг 6:B ба 6:E гэж нэрлэж байсан бол сүүлийн системээр тэдгээрийг B.2 ба E.2 гэж нэрлэн ангилах болжээ.

1.3. Нуклейн хүчлийг таньж илрүүлэх арга

1.3.1. *Pasteurella multocida*-д өвөрмөц ПГУ-ын шинжилгээ

P. multocida-г түргэн, мэдрэмтгий, өвөрмөцөөр илрүүлэхэд ПГУ-ын аргыг ашиглана (Miflin & Blackall, 2001; Townsend нар, 1998a). *P. Multocida*-д өвөрмөц шинжилгээний хоёр арга байгаа нь хурдан, өвөрмөц чанар өндөртэй учраас (Miflin & Blackall, 2001; Townsend нар, 1998a) нуклейн хүчлийн эрлийзжүүлгийн нэмэлт арга шаардахгүйгээр хамгийн оновчтой үр дүн өгч байна. *P. multocida* өвөрмөц ПГУ-нь (Miflin & Blackall, 2001; Townsend нар, 1998a) *P. multocida*-ийн бүх дэд зүйлийг ялган тогтооно. Мифлин, Блайкол нарын (Miflin & Blackall, 2001) ПГУ-аар *P. avium* биохэвшил 2 болон *P. canis* биохэвшил 2 аль алинд хуурамч эерэг дүн өгсөн бол Тоунзенд нарын (1998a) боловсруулсан ПГУ *P. canis* биохэвшил 2-т (үүнийг *P. avium* биохэвшил 2-ын эсрэг шинжлээгүй байсан) хуурамч эерэг дүн үзүүлсэн байна. Саяхнаас *P. avium* биохэвшил 2 болон *P. canis* биохэвшил 2 аль алиныг *P. Multocida* гэж дахин нэрлэх болсон учраас (Christensen нар, 2004) Тоунзенд нар (1998a) болон Мифлин, Блайкол (Miflin & Blackall, 2001) нарын хэн хэнийх нь ПГУ-ын шинжилгээ одоо *P. Multocida*-д өвөрмөц аргад тооцогдох болов. Том мууранд хазуулсан шархнаас сахарозд сөрөг *P. multocida*-төст бичил биетэн хоёр бүлэг үүсгэж байгаа нь тодорхой болсон учраас ирүүлэхэд зарим бэрхшээлтэй хэвээр байна. Энэ хоёр бүлгийн аль аль нь Мифлин, Блайкол нарын *P. multocida*-д өвөрмөц ПГУ-аар (2001) эерэг дүн үзүүлсэн ч генийн хэвшил тогтоох өөр аргаар шинжлэхэд зөвхөн нэг бүлэг нь жинхэнэ *P. Multocida* мөн болох нь батлагджээ (Christensen нар, 2005). Дараах догол мөрөөс Таунзенд нарын ПГУ-ын талаар (1998a) өгүүлнэ.

Өсгөвөрлөн өвчний үүсгэгчид сэжиглэж байгаа бичил биетний колонийн нэг хэсгийг ПГУ-ын холимогт шууд хийнэ. Үүнээс гадна ДНХ-ийн темплатыг 2 мкл холимог эсхүл цэвэр шөлөн өсгөврийн аль нэгээс гаргаж авах өөр хувилбар бий. ЦХ өвчин гэж сэжиглэхээр тохиолдлыг лабораторид шинжлэн судлахад ПГУ хэрэглэхийн хамгийн гол үндэслэл нь түүний мэдрэх болон өвөрмөц чанарт байдаг. *Pasteurella multocida* -г шинжилгээний сорьц цэвэр эсэхээс үл хамааран илрүүлж болдог учраас сорьцыг амьтны хуучирсан хүүрээс эсхүл гүйлсэн булчирхай болон хамрын хөндийгөөс арчдас хэлбэрээр сорьц авч болно. Ийм тохиолдолд арчдасыг 2 мл CSY шөлөнд хийгээд өсгөвөрлөлтөд зориулсан өнхрөн эргэлддэг савand хийж 2-4 цаг өсгөвөрлөн түүнээс 2 мкл өсгөвөр авч ПГУ-ын холимогт хийж нуклейн хүчлийг олшруулна.

Праймерийн дараалал (Townsend нар, 1998a):

P.-multocida-өвөрмөц ПГУ:

KMT1T7	5’-ATC-CGC-TAT-TTA-CCC-AGT-GG-3’
KMT1SP6	5’-GCT-GTA-AAC-GAA-CTC-GCC-AC-3’

ПГУ явуулах нөхцөл:

ДНХ темплатыг 1 × ПГУ-ын буфер, деоксинуклеотид трифосфат (dNTP) тус бүрээс 200 мкМ, 2 mM MgCl2, праймер тус бүрээс 3.2 пикомоль, 0.5 u *Taq* ДНХ полимеразагаас бүрдэх ПГУ-ын холимогт (нийт эзлэхүүн 25 мкл) нэмнэ. Дулаан сэлгэгчийн үзүүлэлт нь: эхний денатурац 95°C-д 5 минут; 95°C-д 1 минутаар 30 мөчлөг, 55°C-д 1 минут, 72°C-д 1 минут; сүүлийн уртасгалт 72°C-д 7 минут байна. Дээж тус бүрээс 5 мкл-ийг 1 × трис ацетатын гүйлгэх буферт (TAE) 2%-иар найруулсан агарозын гельд ачаалан 4 В/см хүчдэлээр 1 цаг электрофорезд оруулна. Гелийг 1% этидиум бромидоор будаж ДНХ-ийн хэрчмийг UV трансиллюминатороор харна.

ПГУ-аар олширсон бүтээгдэхүүн 460 х.с. байна.

1.3.2. *Pasteurella multocida*-ийн хэвшлийг бүрхүүлээр нь тогтоох мултиплекс ПГУ-ын систем

P. multocida A:1-ийн полисахарид бүрхүүлийн био нийлэгжилд оролцдог генийг ялган тогтоох нь (Chung нар, 1998) and B:2 (Boyce нар, 2000) бусад гурван ийлдсэн бүлгийн (D, E, F) био нийлэгжлийн мужийг тодорхойлоход шаардлагатай мэдээлэл болж өгнө (Boyce нар, 2000). Үүнээс гадна зарим омгийн хэвшил тогтооход гарсан зөрөөтэй үр дүнг ийлдсэн бүлэгт өвөрмөц мултиплекс ПГУ хэрэглэн баталгаажуулж болно (Townsend нар, 2001). Үүсгэгчийн ийлдсэн бүлэгт өвөрмөц нуклеотидийн дараалын энэхүү хуримтлагдсан мэдлэгийн ачаар үүсгэгчийн хэвшлийг бүрхүүлээр нь тогтоох мултиплекс ПГУ-ын (Townsend нар, 2001) праймерыг зохион хэрэглэж байна. *P.multocida*-д өвөрмөц праймерууд нь зүйлийн түвшинд ялган тогтоох дотоод хяналт болж өгнө. Үүсгэгчийн хэвшлийг бүрхүүлээр нь тогтоох мултиплекс ПГУ-ын үр дүнд бий болсон бүтээгдэхүүний илэрц нь үүсгэгчийн хэвшлийг тогтоож чадахааргүй бүдэгхэн байгаа нөхцөлд *P. multocida*-д өвөрмөц праймеруудыг (KMT1T7, KMT1SP6) урвалын холимогт оруулахгүй байвал шинжилгээний үр дүн сайжирна.

Праймерийн дараалал (Townsend нар, 2001):

Бүрхүүлээр нь хэвшил тогтоох мултиплекс ПГУ:

CAPA-FWD	5’-TGC-CAA-AAT-CGC-AGT-CAG-3’
CAPA-REV	5’-TTG-CCA-TCA-TTG-TCA-GTG-3’
CAPB-FWD	5’-CAT-TTA-TCC-AAG-CTC-CAC-C-3’
CAPB-REV	5’-GCC-CGA-GAG-TTT-CAA-TCC-3’
CAPD-FWD	5’-TTA-CAA-AAG-AAA-GAC-TAG-GAG-CCC-3’
CAPD-REV	5’-CAT-CTA-CCC-ACT-CAA-CCA-TAT-CAG-3’
CAPE-FWD	5’TCC-GCA-GAA-AAT-TAT-TGA-CTC-3’
CAPE-REV	5’-GCT-TGC-TGC-TTG-ATT-TTG-TC-3’
CAPF-FWD	5’-AAT-CGG-AGA-ACG-CAG-AAA-TCA-G-3’
CAPF-REV	5’-TTC-CGC-CGT-CAA-TTA-CTC-TG-3’
KMT1T7	5’-ATC-CGC-TAT-TTA-CCC-AGT-GG-3’
KMT1SP6	5’-GCT-GTA-AAC-GAA-CTC-GCC-AC-3’

Гарсан хэрчмийн хэмжээ:

Ийлдсэн бүлэг A	CAPA-FWD/CAPA-REV	1044 х.с.
Ийлдсэн бүлэг B	CAPB-FWD/CAPB-REV	760 х.с.
Ийлдсэн бүлэг D	CAPD-FWD/CAPD-REV	657 х.с.
Ийлдсэн бүлэг E	CAPE-FWD/CAPE/REV	511 х.с.
Ийлдсэн бүлэг F	CAPF-FWD/CAPF-REV	851 х.с.

ПГУ явуулах нөхцөл:

ДНХ темплатыг 1 × ПГУ-ын буфер, тус бүр 200 μM деоксинуклеотид трифосфат (dNTP), 2 mM MgCl2, праймер тус бүрээс 3.2 пикомоль, 1 u *Taq* ДНХ полимеразагаас

бүрдэх ПГУ-ын холимогт (нийт эзлэхүүн 25 мкл) нэмнэ. Анх нийтлэгдсэн аргачлалд (Townsend нар, 2001) *P. multocida*-өвөрмөц ПГУ-д хэрэглэсэн дулаан сэлгэх стандарт мөчлөгийг мөрдөхийг зөвлөсөн байна. Гэхдээ хэрэглэх дулаан сэлгэгч машиндаа дулаан сэлгэх программыг оновчтой болгон тохируулж шалган баталгаажуулж өгнө. Дээр дурдсанаар агарозын гель электрофорез явуулна.

1.3.3. ЦХ өвчин үүсгэдэг B хэвшилд өвөрмөц ПГУ-ын арга

ЦХ өвчин үүсгэдэг B хэвшлийн өвөрмөц *P. multocida*-г ПГУ-ын арга хэрэглэн урьдчилан таамаглах боломж бас бий (Townsend нар, 1998a). KTSP61 болон KTT72 праймер хэрэглэхэд ~620 х.с. хэрчим үүсгэж байвал их биеийн эсрэгтөрөгч зонхилсон B өсгөврийн 2 аль эсхүл 5 хэвшлийн аль нэг нь болохыг тогтоож өгдөг.

Праймерийн дараалал (Townsend нар, 1998a):

ЦХ өвчин үүсгэдэг B хэвшилд өвөрмөц ПГУ-ын арга

KTT72	5’-AGG-CTC-GTT-TGG-ATT-ATG-AAG-3’
KTSP61	5’-ATC-CGC-TAA-CAC-ACT-CTC-3’

ЦХ өвчин үүсгэдэг B хэвшилд өвөрмөц ПГУ явуулах нөхцөл нь *P. multocida*-д өвөрмөц ПГУ-ынхтай адилхан. Эдгээр праймер B ийлдсэн бүлгийн омгийг ялган тогтооход ач холбогдолтой болохыг мэдээлсэн байна.

ЦХ өвчин үүсгэдэг B хэвшилд өвөрмөц ПГУ-ын праймерийг *P. multocida* өвөрмөц праймер хэрэглэх мултиплекс ПГУ-д хэрэглэхэд *P. multocida* илрүүлэх болон ЦХ өвчин үүсгэдэг ийлдсэн хэвшлийг урьдчилсан байдлаар ялган тогтооход шаардагдах цаг хугацааг маш ихээр хэмнэнэ. Мултиплекс ПГУ-ын нөхцөл нь дөрвөн праймер тус бүрээс 3.2 пикомол болон 1 u *Taq* ДНХ полимераза хэрэглэнэ гэдгээс бусад нь дээр тодорхойлсонтой адилхан. Өвчин үүсгэгчид сэжиглэж байгаа бичил биетнийг хэрхэн ялган тогтоосныг *P.-multocida*-өвөрмөц/ЦХ өвчин үүсгэдэг B хэвшилд өвөрмөц ПГУ-аар баталгаажуулж өгөхөөс гадна 2 долоо хоног хүртэл хугацаанд хийдэг биохимийн шинжилгээ болон ийлдсэн хэвшил тогтоох ердийн аргатай харьцуулахад ийлдсэн хэвшлийг ердөө 3-4 цагт урьдчилан байдлаар тогтоож чадна.

1.3.4. *Pasteurella multocida* - A хэвшилд өвөрмөц ПГУ

Их биеийн эсрэгтөрөгчийн хэд хэдэн хэвшилтэй A ийлдсэн бүлгийн омгийн хэвшлийг ялган тогтооход хэрэглэдэг праймерууд өсгөврийг өвөрмөцөөр ялган тогтоох ач холбогдолтой байдгийг мэдээлсэн байна (Gautam нар, 2004).

Праймер:

RGPMA5:	5’-AAT-GT-TTG-CGA-TAG-TCC-GTT-AGA-3’
RGPMA6:	5’-ATT-TGG-CGC-CAT-ATC-ACA-GTC-3’

ПГУ-ын нөхцөл

ДНХ темплатыг(50 нанограм) 1 × ПГУ-ын буфер, деоксинуклеотид трифосфат (dNTP) тус бүрээс 200 мкМ, 1.5 mM MgCl2, праймер тус бүрээс 20 пикомоль, 1 нэгж *Taq* ДНХ полимеразагаас бүрдэх ПГУ-ын холимогт (нийт эзлэхүүн 25 мкл) нэмнэ. Нуклейн хүчлийн стандарт олшруулалтын нөхцөл нь: эхний денатурац 95°C-д 5 минут; 95°C-д 45 секундээр 30 мөчлөг, 56°C-д 45 секунд, 72°C-д 45 секунд; дараа нь сүүлийн уртасгалт 72°C-д 6 минут байна. Олшруулсан бүтээгдэхүүнүүдийг 0.5 × трис ацетатын гүйлгэх буферт (TAE) 1.5%-иар найруулсан агарозын гельд ачаалан 5 В/см хүчдэлээр 2 цаг электрофорезд оруулж салгалт хийнэ.

ПГУ-аар олширсон бүтээгдэхүүн 564 х.с. байна.

Энэ шинжилгээг өсгөвөрт шууд, буцалгаж задалсан эс, халдвартай эдэд хийж болно.

1.3.5. *Pasteurella multocida*-ийн хэвшлийг липополисахарид (ЛПС)-аар тогтоох мултиплекс ПГУ-ын систем

Гельд нэвчин тунадасжих Хедлестоны аргыг ашиглан *Pasteurella multocida* омгийг их биеийн эсхүл липополисахарид (ЛПС)-ын 16 ийлдсэн хэвшилд ангилж болно. ЛПС-ыг холбогдон угсрагдахад шаардагдаг генийг олж тогтоожээ. ЛПС-ын молекулын хэвшлийг тогтооход зориулан ЛПС-ын гадна талын үндсэн бүтцийн генд тулгуурласан мултиплекс ПГУ-ын аргыг хөгжүүлсэн байна (Harper нар, 2015).

Праймер:

BAP6119:	5’- ACA-TTC-CAG-ATA-ATA-CA-CCCG-3’
BAP6120:	5’- ATT-GGA-GCA-CCT-AGT-AAC-CC-3’
BAP6121:	5’- CTT-AAA-GTA-ACA-CTC-GCT-ATT-GC-3’
BAP6122:	5’- TTT-GAT-TTC-CCT-TGG-GAT-AGC-3’
BAP7213:	5’-TGC-AGG-CGA-GAG-TTG-ATA-AAC-CAT-C-3’
BAP7214:	5’- CAA-AGA-TTG-GTT-CCA-AAT-CTG-AAT-GGA-3’
BAP6126:	5’- CTT-TAT-TTG-GTC-TTT-ATA-TAT-ACC-3’
BAP6125:	5’- TTT-CCA-TAG-ATT-AGC-AAT-GCC-G-3’
BAP6129:	5’- AGA-TTG-CAT-GGC-GAA-ATG-GC-3’
BAP6130:	5’- CAA-TCC-TCG-TAA-GAC-CCC-C-3’
BAP7292:	5’- TCT-TTA-TAA-TTA-TAC-TCT-CCC-AAG-G-3’
BAP7293:	5’- AAT-GA-AGG-TTT-AAA-AGA-GAT-AGC-TGG-AG-3’
BAP6127:	5’- CCT-ATA-TTT-ATA-TCT-CCT-CCC-C-3’
BAP6128:	5’- CTA-ATA-TAT-AAA-CCA-TCC-AAC-GC-3’
BAP6133:	5’- GAG-AGT-TAC-AAA-AAT-GAT-CGG-C-3’
BAP6134:	5’- TCC-TGG-TTC-ATA-TAT-AGG-TAG-G-3’

Гарсан хэрчмийн хэмжээ:

L1 (Хедлесоны ийлдсэн хэвшил 1 ба 14)	BAP6119/ BAP6120	1307 х.с.
L2 (Хедлесоны ийлдсэн хэвшил 2/5)	BAP6121/ BAP6122	810 х.с
L3 (Хедлесоны ийлдсэн хэвшил 3 ба 4)	BAP7213/ BAP7214	474 х.с
L4 (Хедлесоны ийлдсэн хэвшил 6 ба 7)	BAP6126/ BAP6125	550 х.с
L5(Хедлесоны ийлдсэн хэвшил 9)	BAP6129/ BAP6130	1175 х.с
L6 (Хедлесоны хэвшил 10, 11, 15, 12)	BAP7292/ BAP7293	1668 х.с
L7 ((Хедлесоны ийлдсэн хэвшил 8 ба 3)	BAP6127/ BAP6128	931 х.с
L8 ((Хедлесоны ийлдсэн хэвшил 16)	BAP6133/ BAP6134	255 х.с

ПГУ явуулах нөхцөл:

Мултиплекс ЛПС ПГУ бүрийг (50 мкл эцсийн эзлэхүүн), деоксинуклеотид трифосфат (dNTP) тус бүрээс 200 мкМ, 2 mM MgCl2, праймер тус бүрээс 0.4 мкМ, 1.7 u *Taq* полимеразагаас бүрдэх 1 × *Taq* полимеразагийн буферт (10 mM Tris-HCl, 1.5 mM MgCl2, 50 mM KCl) явуулна. ПГУ-аар шинжлэх колони тус бүрээс материал авахдаа 20 мкл-ийн бичил соруурт (эзлэхүүнийг 20 мкл-т тохируулна) ариун хошуу залгаж байгаад сайтар өсгөвөрлөгдсөн *P. multocida*-ийн 2-3 колони тус бүрийг хатган гол хэсгээс нь авна. Авсан материалаа ПГУ-ын 50 м холимогт нэмээд сорууpаар сайтар холино Геномын ДНХ ашиглах ПГУ-д цэвэршүүлэх бортогоор цэвэршүүлсэн, ойролцоогоор 50 ng ДНХ-г ПГУ холимог тус бүрд нэмнэ. Урвалын холимгийг түргэн холиод 13,000 *g*-д 10 секунд хурилдуурдана. Колони шинжлэх ПГУ-ын мөчлөгийн нөхцөл нь: 96°C-д 10 минут; 96°C-д 30 секундээр 30 мөчлөг, 52°C-д 30 секунд, 72°C-д 2.5 минут; сүүлийн уртасгалт 72°C-д 5 минут байна. Геномын ДНХ-ийг темплатаар ашигласан ПГУ-ын тухайд дулаан сэлгэх мөчлөгийн нөхцөл нь эхний денатурацын шатыг 96°C-д 5 минут болгон бууруулахаас бусдаар колони шинжлэх ПГУ-ын нөхцөлтэй адилхан байна. Олшруулсан бүтээгдэхүүнийг 2% агарозын гельд хийх электрофорезоор салгалт хийнэ

1.3.6. Бодит цагийн ПГУ болон гогцоон холбоост изотермийн олшруулах (LAMP) арга

Зорилтот *Est* генийг илрүүлэхэд зориулан бодит цагийн ЦХ-*est* ПГУ-ыг зохион бүтээжээ (Petersen нар, 2014). Энэ урвалаар ЦХ өвчинд холбогдох ST122, ST63, ST147, ST162 омгуудыг өвөрмөцөөр илрүүлнэ. Гэвч ЦХ өвчин үүсгэдэг В хэвшилд өвөрмөц ПГУ-аар эерэг болохыг нь тогтоочихсон гахайнаас ялган авсан, бүрхүүлийн хэв шинжтэй ST151 омгийг энэ урвал илрүүлж чадаагүй байна. Бодит цагийн ЦХ-*est* ПГУ нь бусад ПГУ-тай харьцуулахад ЦХ өвчин үүсгэдэг өвөрмөц хэвшлийн *P. multocida*-г түргэн бөгөөд өвөрмөцөөр илрүүлнэ.

Үхэр, усны үхрийн ЦХ өвчин үүсгэдэг В:2 ийлдсэн бүлэгт өвөрмөц Pm-LAMP болон ЦХ-LAMP аргыг боловсруулсныг саяхан мэдээллээ (Moustafa & Bennett, 2017). ЦХ-LAMP арга нь ЦХ өвчин үүсгэдэг *P. multocida*-г илрүүлэхэд мэдрэх болон өвөрмөц чанарын хувьд урьдчилсан дүнгээр өндөр байсан байна. Гэвч цаашид энэ аргаар хээрийн нөхцөлд эмнэл зүйн дээжийг шууд шинжилж лабораторид ашигладаг нарийн төвөгтэй арга зүйтэй ПГУ-ын энгийн хувилбар болгон ашиглах боломжийг судлан тогтоох хэрэгтэй юм.

1.3.7. Өсгөврийн генийн хэвшлийг ялгаварлан тогтоох

Үүсгэгчийг урьдчилсан байдлаар (эсхүл эцэслэн) ялган тогтоосны дараа өсгөврийг генетикийн фингерпринтингийн аргаар ялгаварлана. *Hha*I энзим ашиглан нуклеотидийг таслан хэсэгчлээд дүн шинжилгээ хийх нь ЦХ өвчин үүсгэдэг В хэвшлийн шинж чанарыг тодорхойлоход ач холбогдолтой болох нь тогтоогджээ. *P. multocida*-ийн бүрхүүлээр нь тогтоосон В ийлдсэн бүлгийн 71 өсгөврийн дотор ДНХ фингерпринтингээр 20 өөр хэв шинж илэрч байсан байна. ЦХ өвчин үүсгэдэг ийлдсэн бүлгийн омгийн их биеийн эсрэгтөрөгчийн ийлдсэн бүлгийн хэв шинж агуулсан 54 өсгөврөөс 13 нь өвөрмөц-үл давтагдах хэв шинжтэй байсныг мэдээлсэн байна (Wilson нар, 1992). Үүний эсрэгээр Е ийлдсэн бүлгийн 13 өсгөвөр дотор дан *Hha*I-ийн хэв шинж илэрсэн нь эдгээр омгийг *Hpa*II-оор боловсруулах замаар ялгаварлах боломжтой болсон байна. *Hha*I хэрэглэхэд гарсан үр дүнтэй харьцуулахад *Hpa*II-оор боловсруулах нь нуклеотидийг илүү богинохноор тасалдаг байна (Wilson нар, 1995). Бас рибосомын РНХ-ээр хэвшил тогтоох болон импульсийн талбайн гель электрофорезоор ДНХ-ийг том хэмжээгээр салгаж судлах нь *P. multocida* өсгөврийн В болон Е ийлдсэн бүлгийг ялгаварлах ач холбогдолтой (Townsend нар, 1997a). ЦХ өвчин үүсгэдэг, амьтан, шувууны гаралтай *Pasteurella multocida* омгуудын генетикийн олон янз байдлыг rРНХ 16S генийн дараалал тогтоох аргаар тогтоож болно. Их Британ, Умард Ирландын Нэгдсэн Хаант улсад янз бүрийн зүйлийн амьтнаас ялгасан хээрийн 79 өсгөврийг судлахад удмын хувьд хоорондоо эрс ялгаатай хоёр шугаман ангилалд бүлэглэгдсэн rРНХ 16S генийн 19 хэвшил илэрсэн байна (Davies, 2004). Нөгөө талаар Энэтхэгт янз бүрийн зүйлийн амьтнаас ялгасан *P. multocida*-ийн В ийлдсэн бүлгийн өсгөвөрт төдийлөн ялгарах хувилбар илрээгүй ажээ (Dey нар, 2007). Үхрийн *P. multocida*-ийн болон бусад өвчлөмтгий амьтнаас өсгөвөрлөсөн бактерийн омог хэр олон янз байдгийг ялган тогтоох зорилгоор тухайн зүйлд өвөрмөц бөгөөд тогтвортой оршдог долоон генийг ашиглан дараалал тогтоож үүсгэгчийн хэвшлийг тодорхойлдог, олон генийн дараалал тогтоох (MLST) аргыг хэрэглэсэн байна (Davies нар, 2004; Hotchkiss нар, 2011; Sarangli нар, 2016; Subaaharan нар, 2010). ЦХ өвчин үүсгэдэг *P. Multocida*-ийн 55 өсгөвөрт нуклеотидийн дараалал тогтоох MLST аргыг хэрэглэн эмгэгшсэн янз бүрийн эд болон өвчлөмтгий амьтнаас гаргасан үүсгэгчийн бусад зүйлтэй харьцуулахад дийлэнх олонх нь (*n*=50) дарааллын хэвшил (ST)-ээрээ ST122-т хамрагдаж байхад цөөхөн нь ST63, ST147, ST16-д орж байв (Petersen нар, 2014).

ПГУ хэрэглэн дээж дэх “генетикийн үл давтагдах хэв шинж” тогтоох-фингерпринтинг аргыг өмнө нь *P. multocida*-г ялгаварлах нэг бус арга хэрэглэж байсан, ПГУ явуулах чадамжтай ямар ч лабораторид хэрэглэж болно. Туулайнаас гаргасан *P. multocida* өсгөврийн эпидемиологийн судалгаанд Дарааллыг нь санамсаргүй сонгосон дан, богино праймер ашиглан полиморф ДНХ-ийг олшруулах (Random amplified polymorphic DNA [RAPD]) шинжилгээ болон дурын праймерт ПГУ (AP-PCR) тус тус ач холбогдолтой болох нь харагдсан байна (Chaslus-Dancla нар, 1996). *P. multocida*-д дахин давтагдах нуклеотидийн дарааллыг ПГУ-аар тогтоох арга нь хэдийгээр ЦХ өвчин үүсгэдэг омгуудыг шинжлэхэд бүгд адилхан хэв шинжтэй болох нь тодорхойлогдсон ч шувуу болон гахайн өсгөврийг ялгаварлахад ач холбогдолтой болох нь нотлогджээ (Townsend нар, 1997b; 1998b). Гэвч В ийлдсэн бүлэгт ордог, ЦХ өвчин үүсгэдэг *P. multocida* омгууд хоорондоо молекул түвшний хувьд

хэлбэлзэлтэй байдгийг саяхан тогтоосон байна. Генийн гадуурх давтагдсан палиндромик дараалалд суурилсан ПГУ арга (repetitive extragenic palindromic (REP)-PCR), Энтробактерийн генийн дундах давтагдсан консенсус дараалалд суурилсан ПГУ (enterobacterial repetitive intragenic consensus (ERIC)-PCR) болон дан праймерт ПГУ ашиглан *P. multocida*-ийн В ийлдсэн бүлгийн 5 өсгөврийн генийн хэвшлийг ялгаварласан тухай мэдээлсэн байна (Biswas нар, 2004). ЦХ өвчин үүсгэдэг *P. multocida* өсгөврийг RAPD болон AP-PCR аргаар шинжлэх талаар өмнө нийтэлсэн зүйл үгүй байна.

2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ

Эсрэгбие илрүүлэх ийлдэс судлалын шинжилгээний аргыг оношилгоонд ихэнхдээ ашигладаггүй. ЦНШБ урвалыг дээр өгүүлсэнтэй бараг адилхан аргаар тавьж бүрхүүлээр нь оношилгооны зорилгоор хэвшил тогтооход хэрэглэж болно. ЦНШБ урвалаар өндөр таньц илрэх нь ЦХ өвчний халдвар аваад удаагүй байгааг илтгэнэ. ЦХ өвчин мал, амьтны арчилгаа маллагаа тааруу, бас өвчнийг мэдээлэх тогтолцоо муу аж ахуйн мал, амьтанд зонхилон тохиолдох ба өвчний дэгдэлтийг нэлээд хожуу мэдэгдэх нь элбэг. Өвчилсөн амьтан гэнэт үхдэг, өвчнийг мэдэгдсэний дараа очиход задлан шинжилгээ хийх боломжтой хүүр сэг байхгүй байх тохиолдол гардаг. Ийм нөхцөл байдалд, халдвар авсан сүрэгт амьд үлдсэн, ойр хавьтлын амьтанд ЦНШБУ-ын таньц 1/160-аас 1/1280, бүр түүнээс илүү өндөр илэрвэл энэ нь ЦХ-т өртөөд удаагүй байгааг харуулах оношилгооны үзүүлэлт болно.

B. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

1. Оршил

1.1. Үндэслэл, хэрэглэх зориулалт

ЦХ өвчний эсрэг бактерин, хөнгөн цагааны усан ислээр тунадасжуулсан вакцин (ХТВ), тосон хүчлүүртэй вакцин (ТХВ) гэсэн гурван төрлийн вакцин хэрэглэдэг. Бактеринаар хангалттай дархлаа тогтоохын тулд дахин давтан вакцинжуулах шаардлагатай. Бактеринийг ойр ойрхон хэрэглэх нь амьтныг муужран унахад хүргэдэг бол ХТВ хэрэглэхэд ийм үзэгдэл хамаа, харин ТХВ хэрэглэхэд бараг гардаггүй.

Хоруу чанаргүй *P. multocida* В:3,4 омог (цоохор бугын омог) ашиглан бэлтгэсэн ЦХ өвчний эсрэг амьд вакциныг Мьянмар улсад 6 сараас дээш насны үхэр, усны үхрийн цусан халдвартай тэмцэхэд 1989 оноос эхлэн хэрэглэж байна. Энэ вакциныг мананцар байдлаар хамрын хөндийгөөр олгоно (Carter нар, 1991; Myint нар, 2005). Уг вакциныг Азийн улс орнуудад хэрэглэхэд аюулгүй, дархлаа төрүүлэх идэвхтэй вакцин гэж Нэгдсэн үндэсний байгууллагын Хүнс Хөдөө аж ахуйн байгууллагаас зөвлөжээ. Гэвч түүнийг бусад оронд хэрэглэсэн мэдээлэл байхгүй бөгөөд ЦХ өвчин гардаг улс орнуудад хэрэглэдэг бэлдмэл нь зөвхөн үхүүлсэн вакцин байгаа юм.

Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зарчмын талаарх 1.1.8 дугаар бүлэгт мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зааварчилгааг оруулав. Энэ хэсэгт болон 1.1.8 дугаар бүлэгт оруулсан зааварчилгаа нь ерөнхий агуулгатай учир тухайн улсын болон бүс нутгийн тавьдаг шаардлагыг нэмж оруулж болно.

2. Уламжлалт вакцин үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны тодорхойлолт, тавигдах шаардлага

2.1. Эх омгийн шинж чанар

2.1.1. Биологийн шинж чанар

Тухайн нутаг оронд давамгайлж байгаа ийлдсэн хэвшлийг төлөөлөхүйц *P. multocida*-ийн нутгийн омгийг хэрэглэдэг. Цустай CSY агар дээр ойролцоогоор голчоороо 2 мм том колони өгдөг сайтар бүрээсжсэн, тогтвортой өсгөврийг ашиглах хэрэгтэй. Эх өсгөврийг хагас хатуу мах пептоны агарт хатгаж суулган тасалгааны хэмд эсхүл хөлдөөн хатаасан өсгөвөр байдлаар хадгална.

Тугалыг өсгөвөр халдварлуулж түүнийг үхэх 2-3 хоногийн дотор үжил үл үүсгэх аргаар зүрхнээс нь цус авч тус бүр 1 мл-ээр тасалж хуваагаад –20°С-д хадгална.

Хувааж хадгалсан шинэхэн цусыг вакцины цувралыг шинээр бэлтгэх бүрдээ ашиглана. Хэрэв колонийн хэмжээ багасахааргүй бол хувааж бэлтгэсэн цусаа нэг эсхүл хоёр удаа сэлгэн өсгөвөрлөнө. Жижиглэн хуваасан цусаа гэсгээгээд цустай CSY агарт тараан тохирох эсрэг ийлдэс хэрэглэн энэ өсгөврийн наалдуулах чанарыг тавиур шилэн дээр шалгана. Сайн өсгөвөр бол 30 секундийн дотор бүдүүн ширхэгтэй, хөвсгөр наалдалт өгнө. Өсгөвөр муу бол жижиг мөхлөгт наалдалт үзүүлнэ.

2.1.2. Чанарын шалгуур (ариун чанар, цэвэршилт, гаднын зүйл агуулаагүй байх)

Эх омгийн бэлдэц дараах шаардлага хангасан байх ёстой:

i) *Цэвэр:* Байх ёсгүй бодис агуулаагүй

ii) *Аюулгүй:* Вакцин хэрэглэх заалттай амьтанд зөвлөсөн аргаар олгоход элдэв гаж нөлөө үзүүлэхгүй

iii) *Үр нөлөөтэй:* идэвхийн шалгалтаар тогтоогдсон шиг идэвхтэй дархлаа тогтоодог

Хийх шаардлагатай шалгалтыг доорх С.2.2.4 хэсэгт тодорхойлов.

2.2. Үйлдвэрлэлийн арга

2.2.1. Аргачлал

Вакцин үйлдвэрлэхэд бактерийн өтгөн цийдмэг шаардагдана. Өтгөн цийдмэгийн литр тутамд хамгийн багадаа 1.5 г бактерийн хуурай масс агуулагдаж байх ёстой. Өтгөн цийдмэг бэлтгэх хоёр арга бий. Эхнийх нь бактерийг хатуу тэжээлт орчинтой Ру колбод өсгөвөрлөөд түүнийгээ формалинжуулсан физиологийн уусмалд хураан авч энэ уусмалаар цийдмэгийн нягтшилыг хүссэнээрээ тохируулна. Өсгөврийг колбо бүрээс тус тусад нь хураан авч тус бүрийн цэвэршилтийг шалгадаг энэ арга хөдөлмөр их зарцуулагдана. Хоёрдох бөгөөд зөвлөдөг арга нь *P. multocida*-ийн ургалтыг сонгомлоор дэмждэг тэжээлт орчин бүхий том саванд агааржуулалттайгаар өсгөвөрлөх арга юм.

Эргэлдүүлэн хутгах болон хөөс үүсгэх гэсэн хоёр аргаар агааржуулан өсгөвөрлөнө. Ариун агаарыг шахуургаар хангана. Эргэлдүүлэн хутгах замаар агааржуулахад өсгөвөр агаарын урсгалд ажиллах эргэлдэх булаар агаартай холигддог бол хөөсрүүлж агааржуулахад агаар нь хөөсөөр дамжин тархан шингэнэ. Тодорхой завсарлагатайгаар агааржуулахад бактерийн ургалт илүү өтгөрнө (Thomas, 1968). Агаар илүү нарийн тархан шингэвэл бактерийн ургалт сайжирна. Ихэвчлэн 20-40 литрийн сав ашиглан 37°С-д өсгөвөрлөнө. Дамжмал эсийн өсгөврийн технологи хэрэглэж байгаа бол ихэвчлэн 15 цагийн дотор бактерийн нягтшил дээд зэрэгтээ хүрдэг үед нь нийт ажлын эзлэхүүний 25% орчмыг хураан авч цаг тутамд солино. Харьцангуй бага хэмжээгээр хураан авсан дамжмал эсийн өсгөврийг тусдаа саванд хийх ба хэдэн хоногийн дараа магадгүй бактерийн бүрхүүлийн эсрэгтөрөгч алдагдсанаас шалтгаалан бактерийн нягтшил багасна. Ийм учраас өсгөврийг цувралаар бэлтгэхийг чухалчилдаг.

Цувралаар өсгөвөр бэлтгэх саванд тэжээлт орчны нэг литр тутамд 50 мл-ээр халдвар хийсэн бол 15-18 цагийн дотор хамгийн их булингар суух үед эцсийн төвшрүүлэг нь 0.5% болтол формалин нэмж бактерийн ургалтыг зогсоож болно. Бактерийг их хэмжээгээр ачаалан дээрх аргачлалыг хэрэглэвэл ургалт богино хугацаанд зогсох ба энэ нь бохирдох боломжийг багасгана. Хуурай жин/эзлэхүүн 1.5 г/литр-тэй тэнцүү жиших лавлагаа бэлдэц ашиглан булингаршлыг стандартчилна.

Бас температур, pH, агааржуулалтыг автоматаар хянах хэрэгсэлтэй, өсгөврийн том саваа дулаанаар ариутган өсгөвөрлөлтөө *in situ* явуулах боломжтой исгэлтийн сав ашиглан нягтшил сайтай өсгөвөр гарган авч болно. Мөн дулаанд тэсвэргүй бүрэлдэхүүн хэсэгт зориулан шингэн зүйлийг шүүж ариутгах хэрэгслийг исгэлтийн саванд суулгаж болно. 100 литрийн цувралын исгэлтийн саванд хамгийн багадаа 66 мянган тун (тус бүр нь 3 мл) ТХВ бэлтгэж болох ба хэрэв хуурай жин/эзлэхүүн 1.5 г/литр-тэй тэнцүү жиших лавлагаа стандарттай болгон шингэлэхэд нягтшил нь хангалттай өндөр хэмжээнд байвал дээрхээс ч илүү олон тун вакцин бэлтгэнэ.

Эзлэхүүнээрээ тэнцүү шингэн эрдэс тос болон бактерийн цийдмэгийг эмульсжүүлэгч бодис болох 5%-ийн цэвэр, усгүй ланолинээр эмульсжүүлэн ТХВ-ыг бэлтгэнэ. Эрдэс тос болон ланолиныг эхэлж ариутгаад 40°C хүрч хөрөхөөр нь уг холимогт 0.5% формалин нэмнэ. Бактерийн цийдмэгийг алгуурхнаар нэмээд дараагийн 10 минутын турш эмульсжүүлнэ. Хонуут хадгалж байгаад холимгийг дахин эмульсжүүлж савлаад хэрэглэхийн өмнө 4°C-д 2 долоо хоног хадгална.

ХТВ-ыг бэлтгэхдээ дээр дурдсаны дагуу эхлээд цийдмэгийн булингаршлыг жиших лавлагааны стандартаар тохируулаад 0.5%-иар формалинжуулсан, тэнцүү эзлэхүүн бүхий физиологийн уусмалаар шингэлнэ. pH-ийг 6.5-д тохируулаад дээр нь хөнгөн цагааны усан ислийн эцсийн төвшрүүлэг 1% болтол калийн хөнгөн цагааны усан ислийн 20% халуун уусмал нэмнэ. Тасралтгүй зайлан хонуут байлгасны дараа хэрэглээнд зориулан вакциныг савлана.

2.2.2. Субстрат, тэжээлт орчинд тавих шаардлага

Агаартай орчинд өсгөвөрлөхөд тохирох ариутгасан тэжээлт орчны бүрэлдэхүүнд казейны гидролизат (2 г), сахароз (6 г), хөрөнгийн экстракт (6 г), натрийн хлорид (5 г), гидроген хоёр калит ортофосфат, усгүй (8.6 г), калийн хоёр гидрогент ортофосфат, усгүй (1.36 g), 1 литр хүртэл нэмэх нэрмэл ус орно. Казейн, сахароз, хөрөнгийг өтгөрүүлж бэлтгээд шүүлтүүрээр шүүж ариутгах эсхүл 107°C-д 10 минут автоклавдаад түүнийгээ тэжээлт орчны бусад орцыг дотор нь хийж дулаанаар ариутгаж бэлтгэсэн том саванд үжил үл үүсгэх аргаар шилжүүлэн хийж өсгөвөрлөвөл бактери илүү нягтшилтай ургана.

2.2.3. Үйлдвэрлэлийн явцын хяналт

Бактери тохиромжтой төвшрүүлэгтэй болтлоо ургасан эсэх, бактерийн бүрээсжилт, өсгөврийн цэвэршилт, бүрэн идэвхгүйжсэн эсэхийг бүгдийг шалгах хэрэгтэй.

2.2.4. Эцсийн бүтээгдэхүүний цуврал шалгах

i) Ариун чанар/цэвэршилт

Мал эмнэлэгт хэрэглэх зориулалттай биологийн материалын ариун чанар болон бохирдолгүйг шалгах аргыг 1.1.9. дүгээр бүлэгт оруулав.

ii) Аюулгүй чанар

Ийлдэсний шинжилгээгээр сөрөг урвал үзүүлсэн хоёр үхрийг зөвлөсөн тунгаар хоёр удаа вакцинжуулаад 10-4 хоногийн хугацаанд гаж нөлөө илрэх эсэхийг ажиглана.

Вакцин тус бүрээс 0.2 мл-ийг таван хулганын булчинд тариад 5 хоног ажиглана. Үхсэн аль ч хулганын цуснаас *P. multocida*-г өсгөвөрлөнө.

iii) Цувралын идэвх

Дараах аль ч аргаар идэвхийг шалгаж болно:

а. Үхрийг вакцинжуулаад дараа нь шууд халдвар хийж шалгах эсхүл үхрийн ийлдсээр хулганад идэвхгүй дархлаа тогтоох аргаар шалгана. Үхэрт ТХВ хэрэглэснээс хойш удаан хугацааны дараа хамгаалах дархлаа тогтох учраас энэ аргачлал тохиромж муутай.

б. Туулайг вакцинжуулаад шууд халдвар хийж шалгах эсхүл үхрийн ийлдсээр хулганад идэвхгүй дархлаа тогтоох аргаар шалгана; эсхүл

в. Энэ гурван аргаас хамгийн боломжтой нь вакцины идэвхийг хулганад шалгах.

50 хулгана тус бүрийн булчинд 0.2 мл вакцин тариад үүнийг 14 хоногийн дараа давтана. 21 дэх хоног дээр хулганы тус бүр 5 хулганатай 10 бүлэгт хуваагаад бүлэг тус бүрийг 6-8 цаг өсгөвөрлөсөн хээрийн омгийн шөлөн өсгөврийг 10^{-1}–10^{-10} хязгаарт шингэлээд халдварлуулах ба вакцинжуулаагүй хяналтын 50 хулганад адилхан халдвар хийж бүгдийг 5 хоног ажиглана. Үхрийг хамгаалахад хангалттай тунг тогтоохын тулд үхүүлэх дундаж тунг (LD_{50}) тооцоолохдоо: тодорхойлсон ёсоор

бэлтгэсэн вакцин вакцинжуулсан хулганад наад зах нь 104 хамгаалалтын нэгж үүсгэж байхаар тооцоолно.

2.3. Зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага

2.3.1. Аюулгүй чанарт тавих шаардлага

i) Вакцин хэрэглэх заалттай болон үл хэрэглэх амьтанд аюулгүй байх чанарыг 1.1.8. бүлгээс үзэх

ii) Сулруулсан/амьд вакцины хоруу чанар сэргэх талаар 1.1.8. бүлгээс үзэх

iii) Хүрээлэн буй орчинд нөлөөлөх байдлын талаар 1.8. бүлгээс үзэх

2.3.2. Үр нөлөөнд тавих шаардлага

i) МАА-н үйлдвэрлэлд

Тугалыг 4-6 сарын бойжилттой байхад нь нэг тунгаар вакцинжуулахад ХТВ хэрэглэсэн бол мэдрэмтгий амьтныг 3-4 сар, ТХВ хэрэглэхэд 6-9 сар хамгаална.

Вакциныг булчингийн гүнд тарих хэрэгтэй. Вакцины 3 мл тунд 5 мл багтаамжтай хуванцар тариур, 14-15-ын сүвтэй зүү хэрэглэх ба эхний вакцинжуулалтыг 4-6 сарын бойжилттой байхад нь хийнэ. Төлөвлөгөөт, урьдчилан сэргийлэх вакцинжуулалтыг ТХВ-ны эхний тунг 4-5 сартайд нь, улмаар 3-6 сарын дараа сэдээх вакцинжуулалтыг хийж жил бүр давтан вакцинжуулахыг зөвлөдөг. Мал аж ахуй эрхлэх онцлогийн улмаас шаардлагатай хугацаанд нь мал нэг бүрд хүрч очин вакцинжуулах боломжгүй нөхцөлд 4 сараас дээш сарын бойжилттой бүх амьтныг үржүүлгийн улирал эхлэхээс өмнө жил бүр вакцинжуулах, 1 нас хүрээгүй бүх тугалыг 6 сарын дараа вакцинжуулахын зөвлөдөг. Вакцинжуулсан амьтанд өвчин дэгдвэл нэг тун ХТВ тариад улмаар нэг тун ТХВ тарихыг зөвлөдөг.

ТХВ-ыг тохиолдлоор арьсан дор тарьчихвал тэр хэсэгт ширхэгэнцэрт товруу үүснэ. Хэдийгээр ихэнх амьтан ийм халдварт тэсвэртэй ч ариун бус нөхцөлд ховорхон тохиолдолд товруу нь буглаж болзошгүй. ТХВ тарихад муужрах урвал тохиолдож болзошгүй.

ii) Тэмцэх, устгах арга хэмжээнд Хэрэглэхгүй.

2.3.3. Тогтвортой чанар

ТХВ-ы эмульс цэвэр, цагаан, шилэнд будаг шиг наалдаж байх ёстой. Ямар нэг байдлаар муудсан шинжтэй эмульсийг хэрэглэж болохгүй. Гадаргуу дээр түрхэхэд тосны нимгэн үе ялгарч байвал хэрэглэхийг зөвшөөрнө. Эмульсийг 4–8°C-д хадгалахад идэвх нь төдийлөн их алдагдахгүй. Вакциныг хөлдөөж болохгүй. Ланолины агууламжийг нэмэхэд илүү тогтвортой болох боловч зуурамтгай чанар нь ихэсдэг илүү сул талтай. ‘Арласел’ гэх мэт эмульсжүүлэгч бусад бодисыг хэрэглэх нь нарийн тогтвортой эмульс үүсгэдэг.

3. Биотехнологид суурилсан вакцин

Эдүгээ ийм вакцин хэрэглээнд гараагүй. Гэхдээ амьд мутант вакцин, бактерийн эсийн мембрант вакцин, мөн түүнчлэн дэд нэгжийн рекомбинант вакциныг тохирох хүчлүүрийн хамт зохион бүтээх нэг бус тодорхой ажил хэрэгжиж байна (Shivachandra нар 2011).

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

AALBÆK B., ERIKSEN L., RIMLER R. B., LEIFSSON P. S., BASSE A., CHRISTIANSEN T. & ERIKSEN E. (2009). Typing of *Pasteurella multocida* from haemorrhagic septicaemia in Danish fallow deer (*Dama dama*). *APMIS*, **107**, 913–920.

ANON (1981). Simple serological technique recommended for HS diagnosis. *Asian Livestock*, **6**, 41–42.

BAIN R.V.S., DE ALWIS M.C.L., CARTER G.R. & GUPTA B.K. (1982). Haemorrhagic Septicaemia. FAO Animal Production and Health Paper No. 33. FAO, Rome, Italy.

BISWAS A., SHIVACHANDRA S.B., SAXENA M.K., KUMAR A.A., SINGH V.P. & SRIVASTAVA S.K. (2004). Molecular variability among strains of *P. multocida* isolated from an outbreak of haemorrhagic septicaemia in India. *Vet. Res. Commun.*, **28**, 287–298.

BOYCE J.D., CHUNG J.Y. & ADLER B. (2000). Genetic organisation of the capsule biosynthetic locus of *Pasteurella multocida* M1404 (B:2). *Vet. Microbiol.,* **72**, 121–134.

CARIGAN M.J., DAWKINS H.J.S., COCKRAM E.A & HANSEN A.T. (1991). *P. multocida* septicaemia in fallow deer. *Aust. Vet. J.,* **68**, 201–203.

CARTER G.R. (1955). A haemagglutination test for the identification of serological types. *Am. J. Vet. Res.*, **16**, 481– 484.

CARTER G.R. & CHENGAPPA M.M. (1980). Hyaluronidase production by type B *Pasteurella multocida* from cases of haemorrhagic septicaemia. *J. Clin. Microbiol*., **11**, 94–96.

CARTER G.R. & CHENGAPPA M.M. (1981). Identification of type B and E *Pasteurella multocida* by counterimmuno- electrophoresis. *Vet. Rec*., **108**, 145–146.

CARTER G.R. & DE ALWIS M.C.L. (1989). Haemorrhagic septicaemia. *In: Pasteurella* and Pasteurellosis, Adlam C. & Rutter J.M., eds. Academic Press, London, UK, 131–160.

CARTER G.R., MYINT A., VAN KHAR R. & KHIN A. (1991). Immunisation of cattle and buffaloes with live haemorrhagic septicaemia vaccine. *Vet. Rec*., **129**, 203.

CHASLUS-DANCLA E., LESAGE-DESCAUSES M.C., LEROY-SETRIN S., MARTEL J.L., COUDERT P. & LAFONT J.P. (1996). Validation of random amplified polymorphic DNA assays by ribotyping as tools for epidemiological surveys of *Pasteurella multocida*. *Vet. Microbiol.*, **52**, 91–102.

CHRISTENSEN H., ANGEN O., OLSEN J.E. & BISGAARD M. (2004). Revised description and classification of atypical isolates of *Pasteurella multocida* from bovine lungs based on genotypic characterization to include variants previously classified as biovar 2 of *Pasteurella canis* and *Pasteurella avium. Microbiol.,* **150**, 1757–1767.

CHRISTENSEN H., BISGAARD M., ANGEN O., FREDERIKSEN W. & OLSEN J. E. (2005). Characterization of sucrose-negative *Pasteurella multocida* variants, including isolates from large-cat bite wounds. *J. Clin. Microbiol*., **43**, 259– 270.

CHUNG J.Y., ZHANG Y. & ADLER B. (1998). The capsule biosynthetic locus of *Pasteurella multocida* A:1. *FEMS Microbiol. Lett*., **166**, 289–296.

DAVIES R.L. (2004). Genetic diversity among *Pasteurella multocida* strains of avian, bovine, ovine and porcine origin from England and Wales by comparative sequence analysis of the 16S rRNA gene. *Microbiology*, **150**, 4199–4210.

DAVIES R.L. MACCORQUODALE R. & REILLY S. (2004). Characterisation of bovine strains of *Pasteurella multocida* and comparison with isolates of avian, ovine and porcine origin *Vet. Microbio*l., **99**, 145–158.

DE ALWIS M.C.L. (1992). Haemorrhagic septicaemia – a general review. *Br. Vet. J.*, **148**, 99–112.

DEY S., SINGH V.P., KUMAR A.A., SHARMA B., SRIVASTAVA S.K. & SINGH N. (2007). Comparative sequence analysis of 16S rRNA gene of *Pasteurella multocida* serogroup B isolates from different animal species. *Res. Vet. Sci*., **83**, 1– 4.

GAUTAM R., KUMAR A.A., SINGH V.P., SINGH VIJENDRA P., DUTTA T.K. & SHIVCHANDRA S.B. (2004). Specific

identification of *Pasteurella multocida* serogroup A isolates by PCR assay. *Res. Vet. Sci*., **76**, 179–185.

HARPER M., JOHN M., TURNI C., EDMUNDS M., ST M.F., ADLER B., BLACKALL P.J., COX A.D. & BOYCE J.D. (2015). Development of a rapid multiplex PCR assay to genotype *Pasteurella multocida* strains by use of the lipopolysaccharide outer core biosynthesis locus. *J. Clin. Microbiol.*, **53**, 477–485.

HEDDLESTON K.L, GALLAGHER J.E. & REBERS P.A. (1972). Fowl cholera: gel diffusion precipitin test for serotyping

Pasteurella multocida from avian species. *Avian Dis.*, **16**, 925–936.

HOTCHKISS E.J., HODGSON J.C., LAINSON F.A. & ZADOKS R.N. (2011). Multilocus sequence typing of a global collection of *Pasteurella multocida* isolates from cattle and other host species demonstrates niche association. *BMC Microbiology*, **11,** 115.

KUMAR A.A., HARBOLA P.C., RIMLER R.B. & KUMAR P.N. (1996). Studies on *Pasteurella multocida* isolates of animal and avian origin from India. *Ind. J. Comp. Microbiol. Immunol. Infect. Dis.,* **17**, 120–124.

KUMAR A.A., SHIVACHANDRA S.B., BISWAS A., SINGH V.P., SINGH V.P. & SRIVASTAVA S.K. (2004). Prevalent serotypes of *Pasteurella multocida* isolated from different animal and avian species in India. *Vet. Res. Commun.,* **28**, 657– 667.

MIFLIN J.K. & BLACKALL P.J. (2001). Development of a 23S rRNA-based PCR assay for the identification of *Pasteurella multocida*. *Lett. Appl. Microbiol*., **33**, 216–221.

MOUSTAFA A.M. & BENNETT M.D. (2017). Development of loop-mediated isothermal amplification-based diagnostic assays for detection of *Pasteurella multocida* and hemorrhagic septicemia-associated *P. multocida* serotype B: 2. *Am. J. Vet. Res*., **78**, 134–143.

MUSTAFA A.A., GHALIB H.W. & SHIGIDI M.T. (1978). Carrier rate of *Pasteurella multocida* in a cattle herd associated with an outbreak of haemorrhagic septicaemia in the Sudan. *Br. Vet. J*., **134**, 375–378.

MYINT A., JONES T.O. & NYUNT H.H. (2005). Safety, efficacy and cross-protectivity of a live intranasal aerosol haemorrhagic septicaemia. *Vet. Rec.,* **156**, 41–45.

NAMIOKA S. (1978). *Pasteurella multocida.* Biochemical characteristics and serotypes. *In:* Methods in Microbiology, 10. Academic Press, London, UK, 272–292.

NAMIOKA S. & MURATA M. (1961a). Serological studies on *Pasteurella multocida.* I: a simplified method of capsular typing of the organism. *Cornell Vet.*, **51**, 498–507.

NAMIOKA S. & MURATA M. (1961b). Serological studies on *Pasteurella multocida.* II: characteristics of the somatic (O) antigen of the organism. *Cornell Vet.*, **51**, 507–521.

NAMIOKA S. & MURATA M. (1961c). Serological studies on *Pasteurella multocida.* III. O antigenic analysis of cultures isolated from various animals. *Cornell Vet.*, **51**, 522–528.

PETERSEN A., BISGAARD M., TOWNSEND K. & CHRISTENSEN H. (2014). MLST typing of *Pasteurella multocida* associated with haemorrhagic septicaemia and development of a real-time PCR specific for haemorrhagic septicaemia associated isolates. *Vet. Microbiol.*, **170**, 335–341.

ROSEN M.N. (1981). Pasteurellosis Infectious Diseases of Wild Animals, Second Ed. Davis J.B., Karstak L.H. & Trainer D.O., eds. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, 244–252.

SARANGI L.N, THOMAS P., GUPTA S.K., KUMAR S., VISWAS K.N. & SINGH V.P. (2016). Molecular epidemiology of *Pasteurella multocida* circulating in India by multilocus sequence typing. *Transbound. Emerg. Dis.,* **63***,* e286–292.

SAWADA T., RIMLER R.B. & RHOADES K.P. (1985). Haemorrhagic septicaemia: naturally acquired antibodies against *Pasteurella multocida* types B and E in calves in the United States. *Am. J. Vet. Res*., **46**, 1247–1250.

SHIVACHANDRA S.B., VISWAS K.N. & KUMAR A.A. (2011). A review of haemorrhagic septicaemia in cattle and buffalo. *Animal Health Res. Reviews,* **12**, 67–82.

SINGH V.P, KUMAR A.A., SRIVASTAVA S.K. & RATHORE B.S. (1996). Significance of HS in Asia: India. International Workshop on Diagnosis and Control of HS. Bali, Indonesia, Indonesian Department of Agriculture, 28–30 May, 1999, p.16.

SUBAAHARAN S., BLACKALL L.L. & BLACKALL P.J. (2010). Development of a multi-locus sequence typing scheme for avian isolates of Pasteurella multocida. *Vet. Microbiol.,* **141**, 354–361.

THOMAS J. (1968). Studies on haemorrhagic septicaemia oil adjuvant vaccine. I. Methods of production. *Kajian Vet. Malaysia–Singapore*, **1**, 152–158.

TOWNSEND K.M., BOYCE J.D., CHUNG J.Y., FROST A.J. & ADLER B. (2001). Genetic organisation of *Pasteurella multocida* cap loci and development of a multiplex capsular PCR typing system. *J. Clin. Microbiol*., **39**, 924–929.

TOWNSEND K.M., DAWKINS H.J.S. & PAPADIMITRIOU J.M. (1997a). Analysis of haemorrhagic septicaemia-causing isolates of *Pasteurella multocida* by ribotyping and field alternation gel electrophoresis (FAGE). *Vet. Microbiol.*, **57**, 383–395.

TOWNSEND K.M., DAWKINS H.J.S. & PAPADIMITRIOU J.M. (1997b). REP-PCR analysis of *Pasteurella multocida* isolates that cause haemorrhagic septicaemia. *Res. Vet. Sci.*, **63**, 151–155.

TOWNSEND K.M., FROST A.J., LEE C.W., PAPADIMITRIOU J.M. & DAWKINS H.J.S. (1998a). Development of PCR assays for species- and type-specific identification of *Pasteurella multocida* isolates. *J. Clin. Microbiol.*, **36**, 1096–1100.

TOWNSEND K.M., O'BOYLE D., PHAN T.T., HANH T.X., WIJEWARDANA T.G., WILKIE I., TRUNG N.T. & FROST A.J. (1998b). Acute septicaemic pasteurellosis in Vietnamese pigs. *Vet. Microbiol.*, **63**, 205–215.

WIJEWARDANA T.G., DE ALWIS M.C.L. & BASTIANZ H.L.G. (1986). Cultural, biochemical and pathogenicity studies on strains of *Pasteurella multocida* isolated from carrier animals and outbreaks of haemorrhagic septicaemia. *Sri Lanka Vet. J*., **34**, 43–57.

WIJEWARDANA T.G., DE ALWIS M.C.L. & VIPULASIRI A.A. (1982). An agar gel diffusion test for rapid identification of *Pasteurella multocida* type B (Carter). *Sri Lanka Vet. J*., **30**, 12–14.

WILSON M.A., DUNCAN R.M., NORDHOLM G.E. & BERLOWSKI B.M. (1995). *Pasteurella multocida* isolated from wild birds of North America; A serotype and DNA fingerprint study of isolates from 1978 to 1993. *Avian Dis*., **39**, 587–593.

WILSON M.A., RIMLER R.B. & HOFFMAN L.J. (1992). Comparison of DNA fingerprints and somatic serotypes of serogroup B and E *Pasteurella multocida* isolates. *J. Clin. Microbiol.*, **30**, 1518–1524.

*

* *

ЖИЧ: Энэхүү бүлгийг нийтлэх үед (2021) цусан халдвар өвчний оношилгоо хариуцсан ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори байгаагүй.
(Дэлгэрэнгүй мэдээллийг ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас авна уу: https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

ЖИЧ: 1989 ОНД АНХ, 2021 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

ҮХРИЙН ХАЛДВАРТ РИНОТРАХЕЙТ (ҮХРИЙН ХАМАР, МӨГӨӨРСӨН ХООЛОЙН ХАЛДВАРТ ҮРЭВСЭЛ/ ҮТРЭЭ, ҮҮДЭВЧИЙН ТУУРАЛТ)

А. УДИРТГАЛ

Үхрийн хамар мөгөөрсөн хоолойн халдварт үрэвсэл/үтрээ, үүдэвчийн идээт тууралт (ҮХР/ҮҮТ) (Үхрийн халдварт ринотрахейт) нь тэжээвэр болон зэрлэг үхэрт үхрийн херпесвирус 1-ээр (ҮХВ-1) үүсдэг өвчин юм. ҮХВ-1 нь *Herpesvirales* багийн *Herpesviridae* овгийн *Alphaherpesvirinae* дэд овгийн *Varicellovirus* төрөлд хамаарна. Вирусийн геном нь давхар мушгиа ДНХ бөгөөд бүтцийн 33, бүтцийн бус 15 гаруй, нийт 70 орчим уургийг кодолдог нь тогтоогджээ. Вирионы гадаргуугийн дугтуйд орших вирусийн гликопротеинууд эмгэг жам болон дархлаанд чухал үүрэг гүйцэтгэнэ. ҮХВ-1-ийг 1.1, 1.2a, 1.2b гэсэн гурван дэд хэвшилд ангилна (Metzler нар, 1985). ҮХВ-1.2 дэд хэвшил нь 1.1 дэд хэвшлээс хоруу чанараар бага байх магадлалтай (Edwards нар, 1990). Тугалд мэдрэлийн эмгэг үүсгэх боломжтой, хуучнаар ҮХВ-1.3 гэж нэрлэж байсан вирус одоо ҮХВ-5 гэж шинээр ангилагджээ (Magyar нар, 1993). ҮХВ-1 нь эсрэгтөрөгчийн болон генетикийн хувьд хивэгч амьтны бусад альфахерпесвирустэй, тухайлбал ҮХВ-5, ямааны херпесвирус-1, бугын херпесвирус-1 (улаан буга), бугын херпесвирус-2 (цаа буга), бубалины херпесвирус-1, хандгайн херпесвирус-1-тэй ойр хамааралтай юм (Thiry нар, 2006).

2-4 хоногийн нууц үеийн дараа хамраас усавхи шингэн гоожих, шүлс гоожих, халуурах, тэжээлийн дуршилгүй болох ба илэрхий номойрч эхэлнэ. Хамар, нүдний гооздос хэдхэн хоногийн дотор салсархаг идээтэй болно. Дур зоргын буюу ердийн хээлтүүлэг хэрэглэдэг нутагт үржлийн эрхтнээр халдвар дамжин үүдэвч, үтрээний идээт тууралт бүхий үрэвсэл эсхүл чивний толгой, шамархайн үрэвсэл үүсгэнэ. Гэвч халдвар ихэнхдээ маш хөнгөн хэлбэрээр эсхүл эмнэл зүйн шинж тэмдэггүй үргэлжилнэ (Van Oirschot нар, 1993). ҮХВ-1-ээр үүссэн амьсгалын эсхүл үржлийн эрхтэний хэлбэрийн халдварын хүндрээгүй тохиолдлууд 5-10 хоног үргэлжилнэ. Бактери, вирусийн хоёрдогч халдвар өвчнийг нийлмэл шалтгаантай болгож өсвөр малд амьсгалын эрхтний хүнд хэлбэрийн өвчин (‘тээвэрлэлтийн өвчин’ эсхүл ‘хэт шахцалдах үеийн халуурал’) үүсгэнэ.

Амьсгалын замаар халдвар авахад ҮХВ-1 амьсгалын дээд замын салст бүрхэвч, гүйлсэн булчирхайд өндөр таньцтай болтлоо үржинэ. Улмаар вирус нүдний салст бүрхэвчид тархаж мэдрэлийн эсийн аксоноор цааш зөөвөрлөгдөн гурвалсан мэдрэлийн зангилаанд хүрнэ. Үржлийн замаар халдвар авахад ҮХВ-1 үтрээ эсхүл шамархайн салст бүрхэвчид үржин олширч аарцаг орчмын мэдрэлийн зангилаанд идэвхгүй нуугдмал оршино. Вирусийн ДНХ нь мэдрэлийн зангилааны эсүүдэд магадгүй эзэн амьтны амьдралынх нь туршид оршино (далд халдвар). Тээвэрлэлт, төлөлт гэх мэт үед үүссэн стрессээс гадна кортикостероид хэрэглэх үед далд халдвар дахин идэвхжиж болно. Улмаар вирус далдаас идэвхтэй халдвар үүсгэх ба вирус гадаад орчинд үе үе ялгарч мал, амьтанд халдвар тархана.

ҮХВ-1 халдвар 7-14 хоногийн дотор эсрэгбиеийн хариу урвал болон эсээр дамждаг дархлааны хариу урвалыг өдөөнө. Дархлааны хариу урвал хэдийгээр хэдэн жилийн дараа зарим шинжилгээний илрүүлэх хязгаараас доошилж болох ч амьдралынх нь туршид хадгалагдана гэж таамагладаг. Эхийн эсрэгбие уураг сүүгээр дамжин нялх тугалд дамжин улмаар ҮХВ-1-ийн халдварын улмаас эмнэл зүйн шинжээр өвчлөхөөс хамгаална (Mechor нар, 1987). Эхийн эсрэгбиеийн биологийн хагас задралын хугацаа 3 долоо хоног орчим боловч зарим тохиолдолд амьтны биед хэдэн сараар илэрч болно.

Дэлхий дахинаа энэ өвчний вирусийн тархалт ҮХВ-1 байхгүй улсаас бусад улс орны тэжээвэр үхрийн тархалттай давхацна. Бусад салаа туруутан *Artiodactyla* (ж.нь. ямаа, хонь, одос үхэр, тэмээний төрлийн амьтад) ҮХВ-1-ээр халдварлана. Халдвар авснаас хойш 5-14 хоногт хамраар вирус гадагшилж эхлэх ба хамрын шүүрлийн мл тутамд вирусийн хамгийн өндөр таньц 10^8–10^{10} $TCID_{50}$-д (эсийн өсгөврийг 50% халдварлуулах тун) хүрнэ. Халдвар авсан бухын үрэнд ҮХВ-1 агуулагдаж болох учраас ердийн болон зохиомол хээлтүүлгээр вирус дамжин халдварлана (Parsonson & Snowdon, 1975).

Вакцин хэрэглэхэд халдвараас бүрэн хамгаалахгүй боловч ихэнхдээ өвчин эмнэл зүйн шинжээр илрэхээс хамгаалан, халдвар авсны дараа вирус гадагшлахыг эрс багасгана. Янз бүрийн улс оронд

энэ өвчнийг устгах хөтөлбөрийг, түүний дотор шинжлэх-халдвартайг тусгаарлах эсхүл вакцинжуулалтын цогц арга хэмжээг хэрэгжүүлсэн болон одоо ид хэрэгжүүлж байна (В хэсгийг үзэх).

Эмнэл зүй, эмгэг хувирал, эпидемиологийн судалгаанд тулгуурлан YXB-1-ийн халдвар байна гэж сэжиглэж болно. Гэвч мадаггүй оношлохын тулд лабораторийн шинжилгээ (ийлдэс судлалаар эсхүл вирус илрүүлэх) хийх шаардлагатай. Лабораторид өвчний үүсгэгч вирус (эсхүл вирусийн бүрэлдэхүүн хэсэг) болон тэдгээрийн үүсгэх өвөрмөц эсрэгбиеийг илрүүлэх зорилгоор иж бүрэн оношилгооны арга хэрэглэнэ. Гэхдээ YXB-1 далд халдвар үүсгэдэг учраас эсрэгбие илрүүлэх нь бодгаль амьтны YXB-1-ийн статусыг тогтооход хангалттай юм.

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. YXB-1-ийг оношлох шинжилгээний арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүйг тогтоох	Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах	Халдварын тархалт тогтоох - тандалт	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгчийг илрүүлэх[а]						
Вирус ялгах	–	+ [б]	+	++	–	–
Бодит цагийн ПГУ	–	+ [б]	+	+++	–	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ЕЛИЗА	+++	+++	+++	++	+++	+++
ВСУ	++	++	++	+	++	++

Түлхүүр үг:
+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
++ = энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй.
ПГУ = полимеразагийн гинжин урвал;
ЕЛИЗА = Энзим холбоост дархлааны урвал;
ВСУ = вирус саармагжуулах урвал;
[а]Үүсгэгчийг ялган таних төрөл бүрийн шинжилгээг эмнэл зүйн нэг ижил сорьцод хийхийг зөвлөдөг
[б]Ялангуяа үр шинжлэхэд тохирох арга

1. Үүсгэгчийг ялган тогтоох

1.1. Сорьц цуглуулах, боловсруулах

Халдварт өртсөн хэд хэдэн (таваас арав хүртэлх) үхрээс халдварын эхэн үед үзүүртээ сайн "пролон" шингээгчтэй эсхүл үсэрхэг нийлэг материалаар хийсэн шингээгчтэй бойтуурыг аль болохоор сонгон хамрын арчдас авна. Эдгээр үхрийн хамрын гоождос арай салслаг идээтэй болчихоогүй усавхи шинжтэй хэвээрээ байх ёстой. Үүдэвч үтрээний үрэвсэл эсхүл тээрхий, түүний гэрний үрэвсэлтэй нөхцөлд үржлийн эрхтнээс арчдас авна. Арчдас авахдаа бойтууруа салст бүрхэвчид сайтар үрнэ. Мөн шамархайг физиологийн уусмалаар угааж шингэнийг цуглуулж авна. Сорьцыг зөөвөрлөх орчинд (вирус идэвхгүйжихээс хамгаалж антибиотик болон YXB-1 агуулаагүй, үхрийн хээлийн ийлдэс 2–10%-иар орсон эсийн өсгөврийн тэжээлт орчин) хийж уусган дэвтээгээд 4°C-д-д хөргөж лабораторид яаралтай илгээнэ.

Вирус ялган авахад зориулан задлан шинжилгээ хийх үеэр амьсгалын замын салст бүрхэвч, гүйлсэн булчирхай, уушги, мөгөөрсөн хоолойн тунгалгийн зангилаанаас сорьц авна. Хээл хаясан тохиолдолд хээлийн элэг, уушги, дэлүү, бөөр, ихсийн товчийг шалгаж үзнэ. Сорьцыг мөсөн дээр байлгаж аль болохоор удаалгүй илгээнэ.

Сорьцыг лабораторид хүлээн авсны дараа вирус ялган авахын тулд арчдасыг зөөвөрлөх орчинд 30 минут тасалгааны хэмд хутгаж байлгана. Арчдасыг авсны дараа зөөвөрлөх орчныг 1500 *g*-д 10 минут хурилдуурдаж тунгалагшуулна. 1500 *g*-д 10 минут хурилдуурдахын өмнө эдийн сорьцыг эсийн өсгөврийн тэжээлт орчинд 10–20% (ж/э) цийдмэг болтол нэгэн жигдийн шингэн болгоно. Эдгээр сорьцын дээд шингэн хэсгээс 0.45 мкм шүүлтүүрээр шүүж вирус ялган авахад ашиглана.

Үрийн эсэд хортой болон вирусийн үржлийг саатуулдаг энзим бусад хүчин зүйл агуулагдах тул түүнээс вирус ялган авахын тулд зарим тусгай тохируулга хийх шаардлагатай (дор үзэх).

1.2. Вирус ялган авах

Вирус ялган авахад үхрийн янз бүрийн гаралтай эс ашиглана. ҮХВ-1-ийг өсгөвөрлөхөд үхрийн бөөр, уушги, төмсгийн анхдагч эсхүл хоёрдогч эс, үхрийн хээлийн уушги, самалдаг, цагаан мөгөөрсөн хоолойгоос гаргасан эсийн омог, үхрийн бөөрний Мадин-Дарби дамжмал эс (MDBK) зэрэг дамжмал эс тохиромжтой.

Эсийн өсгөврийг шилэн эсхүл хуванцар хуруу шил, хавтан, Петрийн аяганд ургуулж болно. 24 үүртэй хуванцар хавтан ашиглаж байгаа нөхцөлд дээр өгүүлсэн сорьцын дээд талын шингэнээс 100–200 мкл-ийг авч эсийн өсгөвөрт халдварлуулна. Нэг цаг шингээсний дараа эсийн өсгөврийг зайлаад тогтворжуулах тэжээлт орчин нэмнэ. Тогтворжуулах орчинд нэмэлтээр хэрэглэх ийлдэс ҮХВ-1-ийн эсрэгбие агуулаагүй байх ёстой. Халдварлуулснаас хойш ихэвчлэн 3 хоногийн дотор илэрдэг эс эмгэгшүүлэх нөлөөг (ЭЭН) эсийн өсгөвөрт өдөр бүр шалгана. Дан үе эсэд гарсан цоорхойг тойрон усан үзмийн хонгорцог шиг дугуй эсүүд байрших, зарим үед хэд хэдэн бөөмтэй аварга эсүүд харагдах нь эс эмгэгшсэний хэв шинж юм. Хэв шинжит энэхүү өөрчлөлтийг харж танихад туршлага шаардана. Долоо хоног өнгөрөхөд ЭЭН илрэхгүй бол таамаг зорчуулалт хийнэ. Хөлдөөж гэсгээсэн болон хурилдуурдаж тунгалагжуулсан эсийн өсгөврийн дээд талын шингэнийг дан үе шинэ эсэд халдвар хийхэд ашиглана (Brunner нар, 1988; Edwards нар, 1983).

Өсгөвөрлөгдсөн вирус ҮХВ-1 мөн эсэхийг ялган тогтооход өсгөврийн дээд талын шингэнийг зөвхөн ҮХВ-1-д өвөрмөц эсрэг ийлдэс эсхүл саармагжуулагч ижил гарлын саармагжуулагч эсрэгбие (ИГЭБ)-ээр саармагжуулна. Энэ зорилгоор шинжлэх өсгөврийн дээд талын шингэнийг арав дахин дараалан шингэлж шингэлэлт тус бүрд ҮХВ-1-д өвөрмөц эсрэг ийлдэс эсхүл хяналтын сөрөг ийлдэс нэмнэ. 37°С-д 1 цаг байлгасны дараа холимгийг эсийн өсгөвөрт халдварлуулж 3-5 хоногийн дараа саармагжуулалтын индексийг тооцож гаргана. Саармагжуулалтын индекс нь сөрөг хяналтын ийлдсэнд вирусийн таньцаар (log_{10}-аар) илэрхийлэгдэх бол өвөрмөц эсрэг ийлдсэнд вирусийн таньц үгүй байна. Вирус ялган авах хугацааг богиносгохын тулд эсийн өсгөвөрт хоёр дээж, үүний нэгийг дан өвөрмөц ийлдэстэй хамт, нөгөөхийг сөрөг хяналтын ийлдэстэй хамт урьдчилан өсгөвөрлөсөн дээж халдварлуулна. Хэрэв ЭЭН-г дан өвөрмөц эсрэг ийлдэс саатуулсан бол тухайн өсгөврийг ҮХВ-1 гэж үзэж болох ба харин үүнийг хивэгч амьтны холбогдох альфахерпесвирусээс ялгаварлахын тулд шинж чанарыг нь молекул түвшинд тодорхойлж мадаггүй баталгаажуулах шаардлагатай.

Вирусийг ялган тогтоох өөр нэг арга бол ЭЭН илэрсэн хэсгийн эргэн тойрны эсэд ҮХВ-1-ийн эсрэгтөрөгчийг коньюгатласан дан өвөрмөц эсрэг ийлдэс эсхүл ИГЭБ ашиглан иммунфлюоресценцийн аль эсхүл иммунпероксидазагийн аргаар (Kaashoek нар, 1994) шууд илрүүлэн баталгаажуулах арга юм. Үүнээс гадна таслагч энзим ашиглан вирусийн геномын нуклейн хүчлийн таслагдах хэрчмийн уртын полиморфизм (RFLP) шинжилгээнд (Б.1.4 хэсгийг үзэх) мөн полимеразагийн гинжин урвалын (ПГУ) шинжилгээ (Б.1.3 хэсгийг үзэх) эсийн өсгөврийн дээд шингэнийг ашиглаж болно.

1.2.1. Үрийн шингэнээс вирус ялган авах

0.05-0.1 мл боловсруулалтад ороогүй шинэ үрийг эсийн өсгөвөрт хоёр удаа зорчуулж шинжилнэ. Үр боловсруулалтад ороогүй буюу анхныхаараа байхдаа эс хордуулдаг учраас эсийн өсгөвөрт нэмэхээс өмнө урьдчилан шингэлнэ (ж.нь. 1/10). Дээрх асуудал шингэлсэн үрэнд ч заримдаа гарна. Үрийг шингэлэхдээ хамгийн багадаа 0.1 мл шинэ үрийн шингэн шалгахтай тэнцэх хэмжээтэй байхаар ойролцоогоор тооцож шингэлнэ (ж.нь. хамгийн багадаа 0.5 мл шингэлсэн үрийн шингэн). Шингэлсэн хэд хэдэн дээжийг энэ аргачлалаар шинжлэхэд 0.1 мл шинэ үрийн шингэнтэй тэнцэх эзлэхүүнтэй болгон шинжлэх хэрэгтэй болно (ж.нь.

шингэлсэн үрийн 1/10 шингэлэлттэй дээж: 5 x 1 мл). Шинжилгээний тохирох аргачлалыг дор өгүүлэв. Мөн Бруннер нарын (1988) бүтээлийг үзнэ үү.

1.2.1.1. Шинжилгээний аргачлал

i) Антибиотиктой, үхрийн хээлийн 2 мл ийлдсэнд (YXB-1-ийн эсрэгбие агуулаагүй) 200 мкл шинэ үрийн шингэн хийж шингэлнэ.

ii) Сайтар холиод тасалгааны хэмд 30 минут байлгана.

iii) Эсийн өсгөврийн зургаан үүртэй хавтанд хийсэн дан үе мэдрэмтгий эсэд (вирус ялгах дээрх хэсгийг үзэх) 1 мл үрийн шингэн/ийлдэсний холимгийг халдварлуулна.

iv) Хавтанг 37°C-д-д 1 цаг байлгана.

v) Холимгийг аваад дан үе эсийг 5 мл тогтворжуулагч орчоор хоёр удаа угааж үүр бүрд 5 мл тогтворжуулагч орчин нэмнэ.

vi) Шинжилгээнд YXB-1-ийн эерэг болон сөрөг хяналтыг хамт оруулна. Шинжлэх дээжийн үүрийг эерэг хяналтаар санамсаргүй бохирдуулчихгүй байхад онцгой анхаарч эерэг хяналтыг өөр хавтанд хамгийн сүүлд шинжилнэ.

vii) Хавтанг өдөр бүр микроскопоор харж ЭЭН-ий илрэлийг шалгана. Хэрэв ЭЭН илэрвэл YXB-1-ийг өвөрмөц саармагжуулах эсхүл дархлааны тэмдэглэгээт шинжилгээгээр баталгаажуулна (дээрхийг үзэх).

viii) Долоо хоног өнгөрөхөд ЭЭН илрэхгүй бол өсгөврийг хөлдөөж гэсгээх болон хурилдуурдаж тунгалагжуулан эсийн өсгөврийн дээд талын шингэнийг дан үе шинэ эсэд халдвар хийхэд ашиглана.

ix) Зорчуулалт хийсэн өсгөврийг тогтмол дулаанд байлгаж долоо хоног өнгөрөхөд ЭЭН илрэхгүй бол дээжийг сөрөг гэж үзнэ.

1.3. Нуклеин хүчил илрүүлэх

Сүүлийн арван жилд эмнэл зүйн дээжээс YXB-1-ийн ДНХ илрүүлэх төрөл бүрийн арга, түүний дотор ДНХ-ДНХ эрлийзжүүлэх болон полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ)-ыг боловсруулсан байна. Оношилгоонд ирүүлсэн дээж шинжлэхэд ПГУ хэрэглэх нь улам бүр ихсэж байна (Moore нар, 2000). Вирус ялгах аргатай харьцуулахад ПГУ-нь илүү мэдрэмтгийгээс эхлээд 1-2 өдөрт хурдан гүйцэтгэдэг давуу талтай. Энэ аргаар бас гурвалсан мэдрэлийн зангилаа зэрэг мэдрэхүйн зангилаа (Van Engelenburg нар, 1993) дахь үл үржих вирусийн эписомын ДНХ-г халдварын нууц үед илрүүлэх боломжтой. Харин дутагдалтай тал нь ПГУ бохирдох хандлагатай байдаг учир хуурамч эерэг дүн гарахаас болгоомжлох хэрэг гарна. Бодит цагийн тоон утгат ПГУ зэрэг ПГУ-ын шинэ аргууд (дор үзэх) (Abril нар, 2004; Lovato нар, 2003; Wernike нар, 2011) хэрэглэснээр бохирдох эрсдэл илэрхий буурч байна. YXB-1 халдварын бүх тохиолдолд халдварыг ПГУ-аар шууд илрүүлж болно.

ПГУ-ыг өдий хүртэл зохиомол (Kramps нар, 1993) эсхүл байгалийн (Van Engelenburg нар, 1993) халдвартай үрийн шингэнд YXB-1-ийн ДНХ илрүүлэхэд хэрэглэж байна. ПГУ-ын нөхцөлийг, тухайлбал дээж бэлтгэх, урвалын бүрэлдэхүүн хэсгийн, өөрөөр хэлбэл праймер, полимеразагийн төвшрүүлэг, урвал явуулах мөчлөгийн программыг бүхэлд нь илүү оновчтой болгох нь чухал юм. ПГУ-аар олшруулахаар зорьж байгаа генийн муж нь YXB-1-ийн бүх омогт байх ёстойгоос гадна нуклеотидийн дараалал нь тогтвортой байх ёстой. TK, gB, gC, gD, gE генийг ПГУ-аар олшруулах бай болгон ашиглаж байна. Үүнээс гадна gE генийн дарааллыг илрүүлэхэд суурилсан ПГУ-ыг хээрийн омгийн вирус болон gE генийг нь үгүй болгосон вакцины омгийг хооронд нь ялгаварлахад хэрэглэж болно (Fuchs нар, 1999; Schynts нар, 1999; Wernike нар, 2011). YXP өвчний хоруу чанартай омгийн халдвар болон сулруулсан амьд омгийн (маркер байхгүй) халдварыг хооронд нь ПГУ шинжилгээгээр хялбархан ялгаварлах боломжгүй учир энэ зорилгоор нуклейн хүчлийн таслагдах хэрчмийн уртын полиморфизм (RFLP) эсхүл дараалал тогтоох өндөр бүтээмжит аргыг хэрэглэж болно. YXB-1, YXB-5, хамаарал бүхий бусад альфахерпесвирусийг хооронд нь ялгаварлаж чадах өвөрмөц ПГУ-ыг зохион бүтээгээд байна (Ashbaugh нар, 1997; Ros нар, 1999).

Туршилтаар зориуд халдварлуулсан бухын үрийг өндөгний шард шингэлсэн дээжид ПГУ вирус ялган авахаас илүү мэдрэмтгий буюу вирус ялган авснаас тав дахин илүү олон эергийг ПГУ-аар илрүүлсэн байна (Van Engelenburg нар, 1995). Баталгаажуулсан ПГУ-ын шинжилгээний илрүүлэх хязгаар нь ПГУ-ын шинжилгээ бүрд ердөө хэдхэн хувилмал геном

байхаар тогтоогджээ. Гэхдээ хуурамч эерэг дүн үзүүлэхийг үгүйсгэж болохгүй. Болзошгүй хуурамч сөрөг дүнг ялган тогтооход ижил праймер хэрэглэн нуклейн хүчлийг нь олшруулах үрийн дээжийн урвалын цодонд дотоод хяналтын темплатыг оруулахыг зөвлөдөг. Ийм хяналтын темплатыг генд суулгах, жишээ нь 100 хос суурь хэрчмийг геномын зорилтот мужид суулгах замаар бий болгож болох юм. Энэхүү хяналтын темплат нь илрүүлсэн ДНХ-ийн хэмжээг хагас тооны аргаар илэрхийлэх боломж олгоно (Ros нар, 1999; Van Engelenburg нар, 1993). Дотоод хяналт ашиглаж байгаа нөхцөлд ПГУ-аар олшруулж байгаа дотоод хяналт нь оношлох шинжилгээ хийж байгаа ПГУ-тай өрсөлдөхөөргүй, түүний анализын мэдрэх чанарыг доогуур байлгахын тулд шинжилгээг өргөн хүрээнд явуулах шаардлагатай (Бас энэ гарын авлагын 1.1.6 *Газрын амьтны халдварт өвчний оношлох шинжилгээний баталгаажуулалт* бүлгийг үзэх).

1.3.1. Бодит цагийн полимеразагийн гинжин урвал

Худалдааны зориулалттай шингэлсэн үрэнд YXB-1 илрүүлэх дор өгүүлсэн бодит цагийн ПГУ-ыг боловсруулжээ. Уг аргыг энэ гарын авлагын 1.1.6 дугаар бүлэгт заасны дагуу YXP өвчний шинжилгээ хийх эрх бүхий, хамтран ажилладаг зургаан лабораторийг оролцуулсан олон улсын лаборатори хоорондын шинжилгээний цогц үр дүнг харьцуулах замаар баталгаажуулсан байна (Wang нар, 2008).

ПГУ нь вирус ялган авах аргатай харьцуулахад мэдрэх чанараар илүү болохыг олон судалгаагаар харуулжээ (Smits нар, 2000; Van Engelenburg нар, 1995; Vilcek нар, 1994; Wang нар, 2008; Wiedmann нар, 1993). Бодит цагийн ПГУ-ыг зориуд халдварлуулсан үхэр, хулганад YXB-1 ба YXB-5-ыг илрүүлэхэд (Abril нар, 2004; Lovato нар, 2003), ердийн хэд хэдэн ПГУ-ыг байгалийн болон зохиомол халдвартай үрийн дээжид YXB-1-ийн ДНХ илрүүлэхэд хэрэглэсэн байна (Deka нар, 2005; Grom нар, 2006; Masri нар, 1996; Van Engelenburg нар, 1993; Weiblen нар, 1992; Wiedmann нар, 1993; Xia нар, 1995). Ердийн ПГУ-аар олшруулсан бүтээгдэхүүнийг гель электрофорезоор илрүүлнэ (Rola нар, 2003). Нуклеотидийн тогтоосон дараалалд өвөрмөц праймер нь YXB-1-ийн геномын тогтвортой гликопротеиний генийн, тэр дундаа гликопротеин Б, (gB) (Grom нар, 2006; Santurde нар, 1996), gC ген (Smits нар, 2000; Van Engelenburg нар, 1995), gD ген (Smits нар, 2000; Wiedmann нар, 1993), gE ген (Grom нар, 2006), тимидин киназ (tk) генийн (Moore нар, 2000; Yason нар, 1995) янз бүрийн хэсгийг олшруулахын тулд сонгосон байна. Үүнээс гадна YXB-1-ийн gD болон gE генийг эсийн хэвийн үйл ажиллагааг хангагч гентэй хамтад нь илрүүлэх бодит цагийн триплекс ПГУ-ыг баталгаажуулаад 2011 онд нийтэлжээ (Wernike нар, 2011). Энэхүү ПГУ нь бас YXB-1-ийн хээрийн омгийг вакцинд хэрэглэдэг gE генийг нь үгүй болгосон омгоос хялбархан бөгөөд түргэн ялгаварлана.

Энд тодорхойлсон бодит цагийн ПГУ-д зорилтот ДНХ-г олшруулахад зориулан зохиосон нуклеотидийн дараалалд өвөрмөц праймерууд, олширсон бүтээгдэхүүнийг илрүүлэх 5’-нуклеазагийн дан проб хэрэглэгдэнэ. Дан проб нь нэг, дараалалд өвөрмөц, хоёр өөр гэрэлтэгч бодис флюрофороор тэмдэглэсэн, дан нуклеотид бөгөөд 5’ төгсгөлдөө мэдээлэгч/донор 5-карбоксифлюоресцеин (FAM), 3’ төгсгөлдөө хүлээн авагч/унтраагч 6-карбокситетраметилродамин (TAMRA)-тай байна. Бодит цагийн энэхүү ПГУ нь шингэлсэн үрэнд YXB-1-ийн бүх омог, үүний дотор 1 ба 2 дугаар дэд хэвшлийн вирусийн ДНХ-г илрүүлэхэд зориулагдсан. Энэ шинжилгээгээр гликопротеин Б генийн 97 хос суурь дарааллыг сонгон олшруулна. Праймер болон пробыг доорх зааварт дэлгэрүүлэн өгүүлэв.

1.3.1.1. Дээж бэлтгэх болон шаардагдах багаж төхөөрөмж, урвалж

i) Энэ шинжилгээнд үхрийн, шингэн азотод хадгалж байгаа шингэлсэн үрийг үндсэндээ хэрэглэнэ. Үрийн сорьцыг шингэн азотод хийж лабораторид хүргэх эсхүл 4°C-д тээвэрлэх ба шингэн азотод эсхүл хасах 70°C-д (удаан хадгалахаар бол), эсхүл 4°C-д (түр хадгалахаар бол) хадгална. Үрийг 4°C-д түр (7 хоног хүртэл) хадгалахад ПГУ-ын шинжилгээний үр дүнд нөлөөлөхгүй.

ii) Үрийн цуврал бүрээс гурван гуурсыг авч боловсруулна. ДНХ илрүүлэх бэлдмэл тус бүрээс хос дээж бэлтгэн ПГУ-аар олшруулах нь (нийтдээ нэг дээжээс зургаан олшруулалт) дээжид агуулагдах вирус цөөн байх нөхцөлд ч ДНХ-г илрүүлнэ.

iii) Энд тодорхойлсон бодит цагийн ПГУ нь хоёр тусдаа аргачлалтай. Эхнийх нь Chelex-100 хелат резинийг протеиназа К болон ДЛ-дитиореитолтой (ДТТ) хамт

хэрэглэн үрийн шингэнээс ҮХВ-1-ийн ДНХ-ийг ялган авна. Хоёрдох нь ялган авсан ДНХ-ийн темплатыг бодит цагийн ПГУ-ын урвалын холимог ашиглан ПГУ-аар шинжлэх аргачлал юм. Нуклеин хүчлийг олшруулах бодит цагийн ПГУ-ын олон цомог худалдаан бэлэн гарсан бөгөөд хэрэглэх гэж байгаа бодит цагийн ПГУ-ын онцлогод нийцсэн цомог сонгох хэрэгтэй. Шаардагдах праймер, пробыг төрөл бүрийн компаниудаар нийлэгжүүлж авна.

1.3.1.2. ДНХ ялган авах

i) Эрэгддэг тагтай 1.5 мл-ийн цодонд дараах зүйлийг хийх:

Натрийн Chelex 100 (нэрмэл, ионгүйжүүлсэн усанд 10% ж/э-иар)-100 мкл
Протеиназа К (10 мг/мл) - 11.5 мкл
ДЛ-дитиореитол(1 М) - 7.5 мкл
Нуклеазагүй болгосон ус - 90 мкл
Үрийн шингэний дээж - 10 мкл
Сорууpаар болгоомжтой холино[1].

ii) Дээжийг 56°С-д 30 минут байлгасны дараа вортексийн өндөр хурдаар 10 секунд холино.

iii) Дараа нь хуруу шилийг буцалж байгаа усан халаагуурт 8 минут байлгаад вортексийн өндөр хурдаар 10 секунд холино.

iv) Хуруу шилийг 10,000 *g* хурдаар 3 минут хурилдуурдана.

v) Дээд талын шингэн хэсгийг[2] шинэ бичил цодонд хийж аваад ПГУ-д шууд хэрэглэх эсхүл –20°С-д хадгална.

1.3.1.3. Урвалж бэлтгэх

Бодит цагийн ПГУ-ын холимгийг хэрэглэх, хадгалахдаа үйлдвэрлэгчийг зааврыг мөрдөнө.

Праймерын ажлын нөөц уусмалыг 4.5 мкМ, пробынхыг 3 мкМ төвшрүүлэгтэйгээр нуклеазагүй болгосон усанд найруулж бэлтгэнэ. Нөөц уусмалыг –20°С-д хадгалах ба пробын уусмалыг харанхуй газар хадгална. Праймер болон пробыг олон дахин хөлдөөж гэсгээхгүй байх, хүчинтэй хугацааг нь уртасгах үүднээс тэдгээрийг нэг удаа хэрэглэх хэмжээгээр жижиглэн хуваж бэлтгэнэ.

1.3.1.4. Бодит цагийн ПГУ-ын шинжилгээний аргачлал

i) *Праймер болон пробын дараалал*

Сонгосон праймер, пробыг Абрил нар (2004) тодорхойлсныг дор оруулав.

Праймер gB-F: 5’-TGT-GGA-CCT-AAA-CCT-CAC-GGT-3’
(байршил 57499–57519 GenBank®, нэвтрэх код AJ004801)
Праймер gB-R: 5’-GTA-GTC-GAG-CAG-ACC-CGT-GTC-3’ (байрлал 57595–57575 GenBank®, бүртгэлийн дугаар AJ004801)

Тэмдэглэсэн проб: 5’-FAM-AGG-ACC-GCG-AGT-TCT-TGC-CGC-TAMRA-3’
(байрлал 57525– 57545 GenBank®, бүртгэлийн дугаар AJ004801)

ii) *Урвалын холимог бэлтгэх*
ПГУ-ын урвалын холимгийг лабораторийн тусдаа өрөөнд бэлтгэнэ. ПГУ-ын шинжилгээ бүрд зохих хяналтыг хамт шинжилнэ. Хамгийн багадаа темплатгүй хяналт (NTC, зөвхөн урвалжууд), зохих сөрөг хяналт, тухайлбал 10 дээжид нэг сөрөг хяналт, хоёр эерэг хяналт (дунд болон сул эерэг) байна. Шинжлэх дээж, хяналт тус бүрийг хосоор нь шинжилнэ. ПГУ-ын олшруулалтыг 25 мкл эзлэхүүнээр явуулна.

[1] It is important that the Chelex 100 solution is homogeneous while pipetting, as Chelex 100 sodium is not soluble. This can be achieved by putting the vessel containing Chelex-100 solution on a magnetic stirrer while pipetting.

а. Цэвэр өрөөнд (вирусийн өсгөвөр байхгүй) ПГУ-ын урвалжийн холимгийг нэмнэ.

2 × бодит цагийн ПГУ-ын урвалжийн холимог	12.5 мкл
ROX лавлагаа будаг (заавал биш)	0.5 мкл
Хөтлөх праймер (gB-F, 4.5 мкМ)	1 мкл
Буцаах праймер (gB-R, 4.5 мкМ)	1 мкл
Проб (3 мкМ)	1 мкл
Нуклеазагүй болгосон ус	4 мкл

б. ПГУ-ын урвалжийн холимогт 5 мкл ДНХ-ийн темплат нэмж эцсийн эзлэхүүнийг 25 мкл болгоно. Тусдаа өрөөнд ДНХ-ийн дээжийг бэлтгэж ПГУ-ын холимог дээр нэмнэ.

iii) Бодит хугацааны полимеразагийн гинжин урвал
Тусдаа ПГУ-ын зориулалтын өрөөнд ПГУ-ын цодонг бодит цагийн ПГУ-ын илрүүлэх систем дээр байрлуулна. Шинжилгээ хийхэд илрүүлэх системийг дараах байдлаар програмчилна.

ПГУ-ын урвалжийн үзүүлэлт (ПГУ-ын системээс хамаарч өөр өөр байж болно)

Нэг мөчлөг	50°C	2 минут
Нэг мөчлөг	95°C	2 минут
45 мөчлөг	95°C	15 секунд
	60°C	45 секунд

iv) Бодит цагийн ПГУ-ын өгөгдөлд дүн шинжилгээ хийх
Босго түвшнийг ихэвчлэн шинжилгээнд ашигласан программ хангамж үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу тогтоодог. Өөр нэг хувилбар нь ашигласан ПГУ-ын илрүүлэх системийн дэвсгэр дохиог тодорхойлохын тулд ийлдэс судлалаар сөрөг урвалтай амьтнаас авсан, вирус ялгах шинжилгээгээр сөрөг дүн үзүүлсэн үрийн шингэний дээжийг хамт шинжилнэ.

1.3.1.5. Үр дүнг боловсруулах

i) Шинжилгээний хяналт

ПГУ-ын шинжилгээ бүрд эерэг болон сөрөг хяналт, мөн урвалжийн хяналтыг хамт шинжилнэ. Ийлдэс судлалаар сөрөг урвалтай бухаас авсан сөрөг үрийг сөрөг хяналтаар ашиглаж болно. Байгалийн халдвартай бухаас авсан эерэг үрийг эерэг хяналтаар ашиглахыг илүүд үзэх боловч олж авахад хүндрэлтэй байх магадлалтай. Харин оронд нь сөрөг үрэнд ҮХВ-1 вирусийг тогтоосон хэмжээгээр нэмж эерэг хяналтыг бэлтгэж болно.

ii) Шинжилгээний үр дүн

Эерэг дүн: Олшруулалтын муруйд холбогдох мөчлөгийн босго (Ct) утга нь 45-тай тэнцүү эсхүл түүнээс бага дээжийг эерэг гэж үзнэ. Эерэг хяналтын Ct утга нь давтан шинжилгээгээр өмнө нь тогтоосон зөвшөөрөгдөх хязгаарын хүрээнд (± 3 Ct утга) байх ёстой. Эерэг хяналтаар бохирдох эрсдэлийг хамгийн доод түвшинд байлгахын тулд Ct утга 30-33 байхаар шингэрүүлнэ.

Сөрөг дүн: Ct утга үзүүлээгүй аливаа дээжийг сөрөг гэж үзнэ. Сөрөг хяналт болон темплатгүй хяналт Ct утга үзүүлэх ёсгүй.

1.4. Вирусийн эсрэгтөрөгч илрүүлэх

Хамар, нүд, үржлийн эрхтний арчдасаас шилэн бүрхүүл шил дээр шууд түрхэц бэлтгэх эсхүл хурилдуурдсаны дараа эсийн тунашийг (Б.1.1 хэсэг үзэх) бүрхүүл шил дээр шууд цэг маягаар тавьж шинжилнэ. Эдгээр бүрхүүл шилийг стандарт шууд болон шууд бус флюресцент эсрэгбиеийн шинжилгээнд ашиглана. Дархлааны флюресцент шууд шинжилгээнд дан өвөрмөц эсрэг ийлдсийг флюоресцент будагт, ө.х. флюресцеин изотиоцианатад (ФИТЦ) коньюгатлаах бол шууд бус шинжилгээний аргачлалд хоёрдох эсрэгбие болох амьтны зүйл эсрэг иммунглобулиныг флюрохромтой коньюгатлана. Найдвартай үр дүнд хүрэхийн тулд сүргийн доторх халуурсан, хамраас нь бага зэрэг усавхи

шингэн гоожсон хэд хэдэн малаас сорьц авах хэрэгтэй. Түрхцийг агаарт хатааж ацетонд бэхжүүлнэ. Үхрийн хамрын идээт эсхүл цусархаг арчдаснаас бэлтгэсэн түрхэц ихэвчлэн сөрөг байдаг (Terpstra, 1979). Эсрэгтөрөгч илрүүлэх энэхүү аргын давуу тал нь нэг өдрийн дотор оношт тогтоох боломжтойд оршино. Гэвч мэдрэх чанарын хувьд энэ арга вирус ялгах арга болон ПГУ-аас доогуур юм (Edwards нар, 1983). Эерэг болон сөрөг хяналтыг шинжилгээ хийх бүрдээ оруулж байх ёстой.

Задлан шинжилгээний үеэр цуглуулсан эдийн сорьцоос хөлдүү зүсмэг бэлтгэн иммунфлюоресценцийн аргаар ҮХВ-1-ийн эсрэгтөрөгч байгаа эсэхийг шалгана. Иммунгистохимийн аргыг мөн ҮХВ-1-ийг илрүүлэхэд болон эсрэгтөрөгчийн эд эрхтэн дэх байршлыг тодорхойлоход ашиглаж болно. ҮХВ-1-ийн эсрэгтөрөгч илрүүлэх шинжилгээнд ИГЭБ-ийг хэрэглэхэд уг аргын өвөрмөц чанар сайжирдаг учраас түүний хэрэглээ нэмэгдэж байна. Гэвч хэрэглэх ИГЭБ нь ҮХВ-1-ийн бүх өсгөвөрт байх тогтвортой эпитопын эсрэг чиглэсэн байх ёстой учраас түүнийг болгоомжтой сонгох хэрэгтэй.

Вирусийн эсрэгтөрөгчийг шууд түргэн илрүүлэх өөр нэг боломж нь энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА) юм. Ихэвчлэн бичил таньцын хавтан зэрэг хэрэглэгдэхүүний урвал явуулах хэсгийг бүрсэн ИГЭБ эсхүл олон гарлын эсрэгбие шинжилж байгаа дээж дэх эсрэгтөрөгчийг барьж холбогдоно. ҮХВ-1-ийн эсрэгтөрөгчийн тоо 10^4–10^5 $TCID_{50}$-д хүрч байвал урвалын үр дүн баттай эерэг байна. Энэ нь үхэрт ҮХВ-1 халдварласнаас хойш 3-5 хоногийн дараа хамрын шингэнээр ялгарах вирус 10^8–10^9 $TCID_{50}$/мл таньцтай байдгийг харгалзан үзвэл тийм ч их өндөр тоо биш байж болох юм. Мэдрэх чанарыг сайжруулахад нуклеин хүчил олшруулах арга нөлөөлнө (Edwards & Gitao, 1987 үзэх).

Эсрэгтөрөгчийг шууд илрүүлэх арга хэрэглэснээр вирус ялган авахад хэрэглэдэг эс өсгөвөрлөх тоног төхөөрөмж шаардалгүйгээр лабораторийн оношилгоог нэг хоногийн дотор хийнэ. Эсрэгтөрөгч шууд илрүүлэх аргын дутагдалтай тал нь мэдрэх чанар доогуур учраас хэрэв өсгөврийг цааш нарийвчлан судлахаар бол нэмж вирус ялган авах зайлшгүй шаардлага гарна.

Ийм учраас бодит цагийн ПГУ нь хамгийн сүүлийн үеийн стандарт болсон ба харин вирусийн эсрэгтөрөгч илрүүлэх энэ аргыг зөвхөн бусад арга хэрэглэх боломжгүй нөхцөлд л хэрэглэнэ.

1.5. Үхрийн херпесвирус 1 дэд хэвшил болон Үхрийн херпесвирус 1-д хамааралтай хивэгч амьтны альфахерпесвирусийг ялгаварлах

Иммунфлюресценц, радиоиммун тунадасжуулалт, иммунпероксидаза, иммунблотын шинжилгээнд тохирох ИГЭБ ашиглан ҮХВ-1-ийн 1 ба 2 дугаар дэд хэвшлийг ялгаварлаж болно (Rijsewijk нар, 1999; Wyler нар, 1989). Вирусийн ДНХ-ийг таслагч энзимээр үйлчлүүлж ҮХВ-1-ийн дэд хэвшлүүдийг хооронд нь ялгаварлана. Энзимээр таслагдах хэрчмийн уртын полиморфизм (RFLP)-ын шинжилгээнд вирионоос эсхүл халдвартай эсээс ДНХ ялгаж авах, түүнийг таслагч энзимээр үйлчлүүлэх, таслагдсан хэрчмүүдийг агарозын гель электрофорезоор салгах үе шат орно. ҮХВ-1-ийн 1, 2а, 2б дэд хэвшлийг Hind*III* таслагч энзим хэрэглэн ялгаварлахдаа хоорондоо хамаарал бүхий гурван (*I*, *K, L*) ДНХ-ийн хэрчмийн молекул жинг үндэслэнэ (Metzler нар, 1985). RFLP нь оношилгооны ач холбогдлоор хязгаарлагдмал ч эпидемиологийн судалгаанд ач холбогдолтой. Үүнээс гадна вирусийн өсгөврийг RFLP-ээр шинжилсэн дүнг амьд вакцины омогт хийсэн ийм шинжилгээний дүнтэй харьцуулж болно.

Эсрэгтөрөгчийн болон генетикийн хувьд хамааралтай альфахерпесвирусийг (ҮХВ-1,ҮХВ-5, ямааны херпесвирус-1, бугын херпесвирус-1, 2, хандгайн херпесвирус 1, бубалины херпесвирус 1) хооронд нь ялгаварлахад ижил гарлын эсрэгбие хэрэглэх (Keuser нар, 2004) эсхүл ПГУ-аар олшруулах, дараалал тогтоох зэргээр сайжруулсан аргууд хэрэглэх боломжтой болжээ (Ros нар, 1999).

Түүнчлэн ҮХВ-1-ийн бүтэн геномыг илрүүлэхэд болон өвчний энд тэндхийн дэгдэлтийн омгийг харьцуулахад дараалал тогтоох өндөр бүтээмжит аргыг (ДТӨБА) хэрэглэж болно. Хэрэглэх технологи, зааврыг сайжруулснаар ДТӨБА нь илүү тогтмол ашиглагдах магадлалтай болжээ. Вирусийн таньц аль болохоор өндөр байвал шинжилгээний үр дүн хамгийн зөв гарах ба цэвэршүүлсэн вирусийн бэлдмэлд дараалал тогтоож байх нь хамгийн сайн үр дүнд хүргэнэ. Мөн энэ гарын авлагын 1.1.7 *Дараалал тогтоох өндөр бүтээмжит арга, биомэдээлэл, геномын тооцооллын стандарт* бүлгийг үзнэ үү.

1.6. Үр дүнг боловсруулах

Өвчилсөн амьтнаас ҮХВ-1-ийг ялган авснаар түүнийг тухайн амьтныг өвчлүүлсэн шалтгаан гэж үзэж болохгүй. Энэ нь жишээ нь стресст орсон амьтанд дахин идэвхжсэн, нууц үедээ байсан вирус байж болох юм. Бүлэг амьтнаас сорьц авч улмаар ийлдсийн сөрөг урвал эерэгжих хүртэл эсхүл ҮХВ-1-ийн өвөрмөц эсрэгбиеийн таньц дөрөв дахин, түүнээс илүү нэмэгдэхийг тодорхойлж онош баталгаажуулах шинжилгээ хийнэ. 3-4 долоо хоногийн зайтай авсан цусны хос ийлдсэнд өвөрмөц эсрэгбие байгаа эсэхийг ийлдсийн шинжилгээгээр шалгаж тогтооно (Б.2 хэсгийг үзэх).

2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ

Ийлдсийн шинжилгээг хэд хэдэн зорилгоор хэрэглэнэ:

i) Цочмог халдварыг оношлох: нэг амьтнаас халдварын цочмог болон эдгэрсэн үед авсан хос дээжийг нэг шинжилгээгээр шинжилнэ. Ийлдсийн урвал сөргөөс эерэг болтлоо өөрчлөгдөх эсхүл эсрэгбиеийн таньц дөрөв дахин, түүнээс илүү нэмэгдэх нь цочмог халдвар болохыг гэрчилнэ.

ii) Олон улсын худалдааны гэх мэт зорилгоор халдвар байхгүйг нотлон харуулах,

iii) Эпидемиологийн судалгаанд халдварын тархалтыг ийлдсийн шинжилгээгээр тогтоох,

iv) Өвчнийг устгах хөтөлбөрийг хэрэгжүүлэхэд болон түүний дараах тандалтад оролцох,

v) Эрдэм шинжилгээний зорилгоор, жишээ нь вакцинжуулалт болон зориудын халдвар хийсний дараах эсрэгбиеийн хариу урвалыг үнэлэх.

Вирус саармагжуулах урвал (ВСУ) (Bitsch, 1978), төрөл бүрийн ЕЛИЗА (Kramps нар, 1993) шинжилгээг ихэвчлэн ийлдсэн дэх ҮХВ-1-ийн эсрэгбиеийг илрүүлэхэд хэрэглэнэ. ҮХВ-1 халдварын үед вирус нуугдмал орших нь хэвийн үзэгдэл тул ийлдсийн шинжилгээгээр эерэг урвалтай амьтан халдварын статусыг найдвартай илэрхийлэх ач холбогдолтой. Эхийн уураг сүүгээр дамжуулан идэвхгүй эсрэгбиетэй болсон нялх тугал болон идэвхгүйжүүлсэн вакцинаар вакцинжуулсан халдваргүй үхрээс бусад вирусийн эсрэгбиетэй ямар ч амьтныг тээгч гэж үзэх ба тэд үе үе вирус гадагшлуулах боломжтойд тооцогдоно. Тугалыг эхийн дархлаатай байхад нь зориудын халдвар хийж туршихад хэзээ ч идэвхжих боломжтой далд халдвар тээж байгаа мөртөө ийлдэс судлалаар сөрөг дүн үзүүлж байсан талаар мэдээлсэн байна (Lemaire нар, 2000). Ерөнхийдөө ҮХВ-1 илрүүлэх ийлдэс судлалын аргыг уламжлалт болон маркер шинжилгээ гэж хоёр хуваана. ҮХВ-1-ийн gE эсрэгбиеийн саатуулагч ЕЛИЗА нь эдүгээ байгаа ийлдэс судлалын маркерт ганц шинжилгээ юм (Van Oirschot нар, 1997). gE генийг нь үгүй болгосон маркерт вакцинаар вакцинжуулсан амьтныг ийлдсийн шинжилгээгээр gE эсрэгбиеийн сөрөг урвал үзүүлдгээр нь хээрийн омгоор халдварласан амьтнаас ялгаварлана. ВСУ, ҮХВ-1-ийн эсрэгбие саатуулах ЕЛИЗА эсхүл шууд бус ЕЛИЗА гэсэн ийлдэс судлалын уламжлалт арга хэрэглэж болно.

Сүүний дээжид (бөөний) эсрэгбие илрүүлэх ЕЛИЗА, тэр дундаа gE-ЕЛИЗА-г голдуу хэрэглэж байгаа ч зарим асуудал тулгардаг. Бөөний сүүг шинжлээд gB-д өвөрмөц эсрэгбие илрэх нь тухайн сүрэгт халдвартай нэлээд хэдэн амьтан байгааг илтгэнэ (Frankena нар, 1997). Сүүг өтгөрүүлэх зааврыг баримтлахад хэдийгээр мэдрэх чанар нь сайжирдаг ч бөөний сүүг gE эсрэгбиеийн саатуулагч ЕЛИЗА-аар шинжлэхэд тухайн сүргийн 10–15% гаруй нь халдвартай байсан нөхцөлд л эерэг урвал үзүүлнэ. (Wellenberg нар, 1998b). Ийм учраас эдгээр аргаар бөөний эсхүл нийлмэл сүүний дээж шинжлээд тухайн сүрэгт ҮХВ-1-ийн халдвар байхгүй гэж зарлах боломжгүй бөгөөд сүүний дээжийг gE- эсхүл gB-ЕЛИЗА аргаар шинжлээд сөрөг үр дүн үзүүлсэн ч тухайн сүргийн бүх үхрээс нэг бүрчлэн цусны сорьц авна. Гэхдээ 50 хүртэл (эсхүл ҮХВ-1-ийн халдваргүй нутагт 100 хүртэл амьтан) бодгаль үнээнээс бэлтгэсэн бөөний сүү шинжлэхэд хамгийн оновчтой байхаар тохируулсан шууд бус ЕЛИЗА-гаар тэдгээр амьтны ҮХВ-1-ийн статусыг найдвартай тогтоож болно. Шинжилгээний эдгээр арга нийлмэл 50 дээжид нэг сул эерэг дээжийг илрүүлэх эсхүл 100 дээжээс бүрдэх нийлмэл сүүнд нэг илт эерэг сүүний дээжийг илрүүлэх боломжтой. Сүү цуглуулах савнаас ерөнхий тандалтын зорилгоор дээж авч шинжилж тухайн сүрэг, бүс нутаг, улс оронд ҮХВ-1-ийн халдварын тархалтыг баримжаалан тогтоох боломжтой (Nylin нар, 2000). Эдгээрээс гадна ширгэсэн үнээтэй сүргээс авсан цусны ийлдэсний (бодгалийн эсхүл нийлмэл) шинжилгээ хийнэ. Саалийн үнээний сүрэг дэх ҮХВ-1-ийн статуст хяналт шинжилгээ хийх зорилгоор 50 хүртэл (эсхүл ҮХВ-1-ийн халдваргүй нутагт 100 хүртэл амьтан) бодгаль үнээнээс цуглуулж бөөгнүүлсэн сүүний дээжид жил бүр 3-4 удаа тохирох шууд бус ЕЛИЗА аргаар шинжилгээ хийж байх хэрэгтэй. 50-иас илүү (эсхүл ҮХВ-1-ийн халдваргүй нутагт 100-аас илүү) үнээтэй сүрэгт малаас сааж бөөгнүүлсэн сүүний хэд хэдэн дээжийг шинжилнэ. Бөөгнүүлсэн сүүний дээж эерэг урвал үзүүлбэл түүнийг бөөгнүүлж бэлтгэхэд сүүг нь оруулсан бүх бодгалиас цус эсхүл сүүний сорьц авч шинжлэн баталгаажуулна.

Европт үндэсний лавлах лабораториудад тогтмол хэрэглэдэг эсрэгбие илрүүлэх шинжилгээний аргыг өргөн хүрээтэй судалгааны хүрээнд үнэлсэн байна (Kramps нар, 2004). Европын 12 улсын лавлах 12 лаборатори энэ судалгаанд оролцжээ. Хэд хэдэн улсаас гаралтай ийлдэсний 53 дээж, сүүний 13 дээж тус бүрийг хосоор нь бэлтгэж кодлоод оролцогч лабораториудад илгээсэн ба илгээсэн ийлдсийн дээжид Европын стандарт ийлдэс болох EU1 (эсрэгбие эерэг), EU2 (сул эерэг эсрэгбиетэй буюу босго утгад ойрхон), EU3 (эсрэгбие сөрөг) (Perrin нар, 1994)-ыг оруулсан байна. Тухайн үед уг үнэлгээгээр ийлдсэнд эсрэгбие илрүүлэхэд ВСУ болон gB өвөрмөц ЕЛИЗА-г хамгийн мэдрэмтгий арга гэж дүгнэжээ. Гэвч орчин үеийн ЕЛИЗА системийн мэдрэх чанар илэрхий сайжирч байна. gB-саатуулагч ЕЛИЗА мэдрэх чанараар маш өндөр учраас gB эсрэгбие сул эерэг байсан ч илрүүлэх бөгөөд үүнийг өөр хувилбар аргаар (шууд бус ЕЛИЗА, ВСУ) ихэнхдээ баталгаажуулаад байдаггүй. Бас мэдрэх болон өвөрмөц чанар өндөр ҮХВ-1-ийн шууд бус ЕЛИЗА-г боловсруулж байна. Эдгээр ЕЛИЗА аргын үр дүн gB-саатуулагч ЕЛИЗА-аар гаргасан үр дүнтэй үндсэндээ адилхан юм.

gE-ЕЛИЗА бол ердийн шинжилгээний аргаас мэдрэх болон өвөрмөц чанараар доогуур юм. Үүнээс гадна, ийлдсний урвал gE-д эерэгжих нь ялангуяа вакцинжуулсан малд удах ба ихэнхдээ вакцинжуулснаас хойш 21-25 хоногийн дотор илэрдэггүй. Эдүгээ худалдаанд наад зах нь гурван өөр gE-ЕЛИЗА систем гарсан бөгөөд эдгээр нь тус бүрдээ үл давтагдах шинж чанартай gE-ЕЛИЗА-аар дээж шинжлэх боломж олгож байна.

2.1. Вирус саармагжуулах

ВСУ-ыг янз бүрээр хувирган хэрэглэж байна. Шинжилгээний зааврын дагуу ашиглаж байгаа вирусийн омог, ийлдсэний эхлэлийн шингэлэлт, вирус/ийлдсийг тогтмол дулаанд барих хугацаа (1–24 цаг), хэрэглэж байгаа эсийн төрөл, үр дүнг эцэслэн унших болон эцсийн цэгийн уншилт хийх өдөр (50% эсрэг 100%) зэргийн хувьд шинжилгээ бүрд янз бүр байна (Perrin нар, 1993). Эдгээр хувьсагчаас вирус/ийлдсийг тогтмол дулаанд барих хугацаа ВСУ-ын мэдрэх чанарт ихээхэн нөлөөлнө. Тогтмол дулаанд 24 цаг байлгах хугацаанд эсрэгбиеийн таньц тогтмол дулаанд 1 цаг байлгаснаас 16 дахин хүртэл илүү болох (Bitsch, 1978) ба үүнийг мэдрэх чанарыг хамгийн их түвшинд байлгах шаардлагатай (ө.х. олон улсын худалдааны зорилгоор) үед хэрэглэхийг зөвлөдөг. Үхрийн төрөл бүрийн эс эсхүл дамжмал эс, үүний дотор үхрийн бөөрний эсхүл төмсгийн эс,үхрийн уушги болон мөгөөрсөн хоолойн эс эсхүл тогтворжсон MDBK дамжмал эс ВСУ-д хэрэглэхэд тохиромжтой.

2.1.1. Вирус саармагжуулах шинжилгээнд мөрдөх заавар

i) Ийлдэс, үүний дотор хяналтын стандарт ийлдсийг усан халаагуурт 56°C-д 30 минут идэвхгүйжүүлнэ.

ii) Шинжлэх ийлдсийг эсийн өсгөврийн тэжээлт орчноор хоёр дахин шингэлнэ. Эсийн өсгөврийн зориулалтын хавтгай ёроолтой 96 үүртэй бичил таньцын хавтанд шингэлээгүй ийлдэснээс эхлээд хэвтээ чиглэлээр 1/1024 хүртэл шингэлж шингэлэлт тус бүрээс гурваас доошгүй үүрэнд тус бүр 50 мкл эзлэхүүнийг хийнэ. Эерэг хяналтын ийлдсний болон сул эерэг, сөрөг дотоод хяналтын ийлдсийг хамт шинжилнэ. Шинжлэх ийлдсийг шингэлэлгүйгээр өөр илүү үүрэнд хийж ийлдсний хорт чанарын хяналтаар хэрэглэнэ.

iii) Нэг мл тус бүрд 100–200 $TCID_{50}$ байхаар тооцож тэжээлт орчинд ҮХВ-1-ийн нөөцөөс шингэлж үүр тус бүрд 50 мкл-ийг нэмнэ. Хорт чанарын хяналтын үүрэнд вирусийн оронд 50 мкл тэжээлт орчин нэмнэ. Эсийн хяналтад зориулан арван хоосон үүрэнд 100 мкл эсийн өсгөврийн тэжээлт орчин нэмнэ.

iv) Үлдсэн вирусийн нөөцөөс (урвуу таньцлалт) эсийн өсгөврийн тэжээлт орчноор арав дахин шингэлэлт дөрвөөс доошгүйг хийнэ. Ингэхдээ шингэлэлт тус бүрд дөрвөөс доошгүй үүр гаргаж үүр тус бүрд 50 мкл хийнэ.

v) Хавтанг 37°C-д 24 цаг байлгана.

vi) Үүр тус бүрд 3×10^4 эс байхаар тооцож үүр бүрд 100 мкл эсийн цийдмэг нэмнэ.

vii) Хавтанг 37°C-д 3-5 хоног байлгана.

viii) Хавтанг микроскопоор харж ЭЭН-г шалгана. шинжилгээг вирусийг урвуу таньцлаж (таньцлалтаар 30–300 $TCID_{50}$ зөвшөөрөгдөх хязгаартай, 100 $TCID_{50}$ утга өгөх ёстой), хяналтын ийлдэс, эсийн хяналтын үүрийг шалган шинжилгээг баталгаажуулна. Эерэг хяналтын ийлдэс түүний байх ёстой утгаас хоёр дахин шингэлэлт ±1 таньц (±0.3 log_{10} нэгж) үзүүлэх ёстой. Сул эерэг ийлдэс эерэг байх ёстой. Сөрөг ийлдэс саармагжуулахгүй (саармагжуулах шатанд 1/2 эцсийн

шингэлэлттэй тэнцүү). Хяналтын үүрэнд дан үе эс бүтэн байх ёстой.

ix) Шинжилж байгаа ийлдэсний үр дүнг хавтангийн үүрэн дэх вирусийг 50% саармагжуулж байгаа ийлдэсний шингэлэлтийн урвуу утгаар илэрхийлнэ. Хэрэв шингэлээгүй ийлдэс хавтангийн үүрний 50% дэх вирусийг саармагжуулж байвал таньцыг (эхний шингэлэлт) 1 гэж үзнэ (1/2 эцсийн шингэлэлтийг ашиглан). Хэрэв шингэлээгүй ийлдэстэй бүх үүрэн дэх болон ½ шингэлсэн ийлдэстэй үүрний 50% дэх вирусийг саармагжуулж байвал таньцыг (эхний шингэлэлт) 2 гэж үзнэ (1/4 эцсийн шингэлэлт). Үр дүнг чанарын үнэлгээгээр авч үзвэл таньц 1 эсхүл түүнээс дээш (эхний шингэлэлт) байхад эерэг гэж үзнэ. Хэрэв хяналтын үүрэнд эс хордуулах нөлөө илэрвэл дээж өндөр шингэлэлтэд эс хордуулах нөлөө үүсгэлгүйгээр вирусийг саармагжуулж, таньц нь хоёрдмол утгагүйгээр уншигдахгүй л бол түүнийг хорт чанартай (үр дүн гарахгүй) гэж үзнэ. Ийлдэсний эс хордуулах нөлөө нь тухайн дээжийн саармагжуулах үйлчлэлийг үнэлэхэд саад учруулж байгаа тохиолдолд эсийг нэмснээс хойш 16-24 цагийн дараа хамгийн бага хоёр эсхүл гурван шингэлэлтийн үүрэн дэх тэжээлт орчныг солих нь эс хордуулах нөлөөг арилгах магадлалтай юм.

2.2. Энзим холбоост дархлааны урвал

YXB-1-ийн эсрэгбие илрүүлэхэд ЕЛИЗА аргыг өргөн ашиглаж байгаа ч ЕЛИЗА шинжилгээнд зориулсан стандарт аргачлал байхгүй байна. Худалдаанд шууд бус болон саатуулагч ЕЛИЗА зэрэг хэд хэдэн төрлийн ЕЛИЗА гарсны нь сүүнд эсрэгбие илрүүлэхэд тохирно (Kramps нар, 2004). Улс орон эсхүл муж улсын стандартчиллын шаардлага ёсоор тухайн улсын бусад лабораторид хэрэглэхийн өмнө шинээр гаргасан цувралыг урьд нь тогтоосон шалгуурын дагуу чанарыг нь харьцуулж шалгах шинжилгээг үндэсний лавлах лабораторид хийлгэвэл зохистой.

ЕЛИЗА шинжилгээ хийх аргачлалд олон хувилбар бий. Хамгийн нийтлэг нь: эсрэгтөрөгч бэлтгэх, түүгээр хавтангийн үүрний ханыг бүрэх, шинжлэх дээж шингэлэх, эсрэгтөрөгч болон шинжлэх дээжийг тогтмол дулаанд байлгах, субстрат/өнгө үүсгэгч уусмал хэрэглэх үе шаттай. ЕЛИЗА-г тогтмол хэрэглэхийн өмнө түүнийг мэдрэх чанар, гарсан үр дүнгийн тохирцын тухайд баталгаажуулалт хийх шаардлагатай (1.1.6 дугаар бүлэг үзэх). Үүний тулд сайтар шинжилж тогтоосон (ө.х. ВСУ-аар) илт эерэг, сул эерэг, сөрөг ийлдсийн багц цомгийг ашиглана. Гэвч тухайн лабораторид бэлтгэсэн цомгоос илүү сайн ажилладаг учраас худалдаанд гарсан бэлэн цомог ашиглах хэрэгтэй (Kramps нар, 2004).

2.2.1. Энзим холбоост дархлааны шууд бус урвал

Шууд бус ЕЛИЗА аргын зарчим нь шинжилж буй ийлдсэнд агуулагдах YXB-1-д өвөрмөц эсрэгбие хавтангийн үүрний хананд бэхлэгдсэн YXB-1-ийн эсрэгтөрөгчтэй холбогдоход оршино. Холбогдсон эсрэгбиеийг энзимээр тэмдэглэсэн үхэр-эсрэг иммунглобулинтай эсрэг ийлдэс ашиглан илрүүлнэ. Шинжилж байгаа ийлдсэнд эсрэгбие агуулагдаж байвал субстрат/өнгө үүсгэгч уусмал нэмсний дараа өнгө үүснэ. Энэ шинжилгээний зарчим нь бодгаль малын сүүний болон нийлмэл сүүний дээж шинжлэхэд хамгийн тохирдог.

2.2.2. Энзим холбоост дархлааны саатуулагч урвал

Саатуулагч буюу өрсөлдөөнт ЕЛИЗА аргын зарчим нь энзимээр тэмдэглэсэн YXB-1-ийн эсрэг ийлдэс эсхүл YXB-1-ийн эсрэг ИГЭБ хавтангийн үүрний хананд бэхэлсэн эсрэгтөрөгчтэй холбогдохыг шинжилж байгаа дээж дэх эсрэгбие саатуулахад оршино. Шинжилж байгаа ийлдсэнд эсрэгбие агуулагдаж байгаа учраас субстрат/өнгө үүсгэгч уусмал нэмсний дараа үүсдэг өнгө багасна. Жишээ болгон gB саатуулагч ЕЛИЗА аргачлалыг дор оруулав:

i) YXB-1-ийг эсийн өсгөвөрт ургуулж эсрэгтөрөгч бэлтгэнэ. ЭЭН эрчимтэй илэрвэл эс болон тэжээлт орчныг –20°C-д хөлдөөнө. Гэсгээсний дараа үүсэх эсийн задардсыг 8500 *g*-д 4 цаг хурилдуурдана. Вирус агуулсан тунашийг бага хэмжээний фосфатын буфержүүлсэн давсны уусмалаар ФБУ) уусган сэргээгээд мөсөн дээр тавьж хөргөн хэт богино авианы багажаар задална. Эсрэгтөрөгчийн бэлдмэлийг 800 *g*-д 10 минут хурилдуурдаад угаалгын бодисоор (Nonidet P 40-ийн эцсийн төвшрүүлэг 0.5%) идэвхгүйжүүлнэ. Эсрэгтөрөгчийн бэлдмэлд шаардлагатай шингэлэлт хийгээд бичил таньцын хавтанг бүрнэ. Эсрэгтөрөгч

бэлтгэх олон хувилбар арга хэвлэлд нийтлэгдсэн нь бий.

ii) Шингэлсэн (pH 9.6 бүхий 0.05 М карбонатын буфер,) 100 мкл эсрэгтөрөгчийг үүр бүрд хийх замаар бичил таньцын хавтанг эсрэгтөрөгчөөр бүрнэ. Хавтанг наалддаг хальсаар битүүмжлээд 37°С-д хонуут байлгаж –20°С-д хадгална.

iii) Шинжилгээ хийхийн өмнө хавтанг 0.05% Твин 80-аар угаана. 100 мкл сөрөг ийлдэс (үхрийн хээлийн ийлдэс, ҮХИ), шинжлэх ийлдэс тус бүрийн дээж 100 мкл, 100 мкл эерэг, сул эерэг, сөрөг хяналтын ийлдэс нэмнэ. Шинжлэх ийлдсийн дээжийг ихэвчлэн шингэлдэггүй. Зайлаад хавтангийн үүрийг бүрхээд 37°С-д хонуут байлгана. Хэрэв урвалыг хуурамч эерэг гэж сэжиглэвэл ийм ийлдсийг (ө.х. эпидемиологийн үүднээс авч үзэхэд байж боломгүй дүн гарсан), 56°С-д 30 минут халаагаад улмаар нэг удаа хөлдөөн гэсгээсний дараа дахин шинжилнэ.

iv) Хавтанг сайтар угаагаад урьдчилан тооцоолсноор шингэлсэн ҮХВ-1-эсрэг gB-ижил гарлын эсрэгбие/тунхууны пероксидаза коньюгат 100 мкл нэмээд 37°С-д дахин 1 цаг байлгана. Ижил гарлын эсрэгбиеийг сонгохдоо түүний ҮХВ-1-ийн gB-д өвөрмөц байх чанарыг нь онцлон анхаарна.

v) Хавтанг угаагаад шинээр бэлтгэсэн субстрат/өнгө үүсгэгч уусмал (ө.х. 2,2'-азино бис [3-этилбензотиазолин]-6-сулфоны хүчил [ABTS; 0.55 мг/мл], H_2O_2 3% уусмал шинээр нэмсэн [5 мкл/мл] агуулсан, pH 4.5 бүхий 0.05 М нимбэгийн хүчлийн буфер) нэмээд тасалгааны хэмд 1-2 цаг буюу тохиромжтой хугацаагаар байлгана.

vi) Хавтангийн үүрний гэрэл шингээлтийг бичил хавтан уншигчийн 405 нм-д хэмжинэ.

vii) Шинжилсэн дээж тус бүрийн саатлын хувийг тооцоолно. [(OD ҮХИ – OD шинжилсэн дээж)/OD ҮХИ × 100%]

viii) Саатлын хувь ө.х. 50%-иас их бол шинжилсэн дээжийг эерэг гэж үзнэ. Хэрэв эерэг болон сул эерэг хяналтын ийлдэс эерэг, сөрөг хяналтын ийлдэс сөрөг урвал үзүүлбэл уг шинжилгээг хүчинтэй гэж үзнэ. Шинээр шинжилгээ хийх бүрдээ хяналтын дээжийн зөвшөөрөгдөх хэмжээ болон босго утгыг тодорхойлох хэрэгтэй.

2.3. Стандартчилах

Ийлдэс судлалын шинжилгээ хийх бүрдээ илт эерэг, сул эерэг, сөрөг хяналтын тохирох ийлдэс оруулж хамт шинжилнэ. Европын холбооны зохиомол хээлтүүлгээр мэргэшсэн малын эмч нарын санаачилгаар Европ дахь эрдэмтдийн баг зохиомол хээлтүүлгийн төвийн ирүүлсэн сорьцод тогтмол шинжилгээ хийдэг лабораториудад ҮХВ-1-ийн шинжилгээг стандартчилахад зориулан илт эерэг (EU1), сул эерэг (EU2), сөрөг хяналтын ийлдэс (EU3) хэрэглэж байхаар тохиролцсон байна (Perrin нар, 1994). Эдгээр ийлдсийг ДМАЭМБ-аас ҮХВ-1-ийн шинжилгээнд хэрэглэх олон улсын стандартаар баталсан бөгөөд ДМАЭМБ-ын ҮХР/ҮҮТ[2] лавлах лабораторид цөөн тоогоор бэлэн хадгалагддаг байна. Бодгаль амьтны шилжилт хөдөлгөөний өмнө эрүүл мэндийн гэрчилгээ олгоход сонгон хэрэглэх шинжилгээ нь (ВСУ эсхүл ЕЛИЗА) илт эерэг, сул эерэг аль ч стандартыг шинжлээд тэдгээрийг (эсхүл адилхан идэвхтэй үндэсний хоёрдогч стандарт) эерэг болохыг нь зөв тогтоодог байх ёстой. Олон улсын стандарт ийлдэс ховор учраас халдвар авсан болон вакцинжуулсан амьтнаас авч хөлдөөн хатаасан лавлагааны ийлдсийн өргөтгөсөн багц шинээр бэлтгэх шаардлагатай байна. Энэ багцыг шинээр хөгжүүлсэн шинжилгээний аргыг баталгаажуулах, лаборатори дундын шинжилгээг уялдуулахад хэрэглэнэ. Лавлагааны нэмэлт ийлдэс ДМАЭМБ Лавлах лабораторид цөөн тоогоор бэлэн хадгалагдаж байна (эерэг, сул эерэг, маш сул эерэг стандарт ө.х. R1, R2, R3 ийлдэс Герман улс дахь ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториос авна).

2.4. ҮХВ-1-ийн ийлдсийн шинжилгээнд илрэх өвөрмөц бус урвалжит чанар ба "хуурамч-вакцин"

ҮХВ-1-ийн ЕЛИЗА-д ийлдсэнд илрэх өвөрмөц бус урвалжит чанарыг харгалзан үзэх хэрэгтэй ба энэ нь ердийн шинжилгээнээс илүүтэй маркерийн шинжилгээнд голдуу илэрнэ. Өвөрмөц бус урвалжит чанар илрэх хэд хэдэн шалтгаан бий:

i) Хэрэглэж байгаа ЕЛИЗА цомгийн цувралын ялгаатай байдлаас;

[2] FLI, Greifswald-Insel Riems, Germany and APHA, Weybridge, UK.

ii) Сорьцыг авсан даруйдаа шинжилснээс (дээж шинэ байхтай холбоотой);

iii) Маркер вакцинаар вакцинжуулснаас хойш 4 долоо хоногийн дотор авсан дээжийг gE ЕЛИЗА аргаар шинжилснээс (вакцинжуулалттай холбоотой);

iv) Чанар муутай сорьц шинжилснээс (ө.х. цус задарсан ийлдэс).

Иймээс дараах арга ажиллагааг анхаарч үзнэ:

i) Шинжилгээний цомог бүрийг баталгаажуулах, цуврал бүрийг хэрэглээнд тэнцэх эсэхийг шалгаж байх,

ii) Сорьцыг 4°C-д хадгалж сорьц авснаас хойш 24–48 цаг өнгөрсний дараа шинжлэх,

iii) Дээжийг хөлдөөгөөд гэсгээх (–20°C-д); улмаар зарим тохиолдолд халааж идэвхгүйжүүлэх (30 минут/56°C) нь ийлдэсний дээжний өвөрмөц бус урвалжит чанарыг арилгана.

iv) Үхрийг вакцинжуулсны дараа 4 долоо хоног болоогүй байхад ҮХВ-1 илрүүлэх ийлдэс судлалын шинжилгээ хийхгүй байх,

v) Вакцинжуулаагүй амьтныг ангилан ялгахад gE-ЕЛИЗА аргыг ашиглахгүй байх.

ҮХР/ҮҮТ өвчнөөр тайван улс оронд gB саатуулагч болон шууд бус ЕЛИЗА хэрэглэхэд үл итгэмээр ганц нэг эерэг тохиолдол илэрдэг нь уг бодгаль амьтан, тухайн суурийн аль алины эрүүл мэндийн статуст асуудал үүсгэдэг. Үүнийг ҮХВ-2-ын халдварын солбицох урвалаас шалтгаалдаг гэж үздэг (Böttcher нар, 2012). Сонирхолтой нь gE-ЕЛИЗА бол ҮХВ-1-д хамгийн өвөрмөц ийлдэс судлалын арга бөгөөд эдгээр ЕЛИЗА-ийн дотор ҮХВ-1-ийн бус херпесвирустэй солбицон урвалд орох нь маш бага юм. Энэ бол ялангуяа ҮХВ-1-ээр тайван мөртөө солбицох урвалтай ганц нэг амьтан илэрсэн бүсэд маш чухал асуудал бөгөөд үүнийг үндэслээд тухайн сүрэгт ҮХВ-1 нэвтрэн орж ирсэн мэтээр буруу дүгнэлт хийж болзошгүй юм. Ийм учраас уг халдвараар тайван бүс нутагт дээрх ганц нэг эерэг тохиолдлыг лавтай баталгаажуулахын тулд gE-ЕЛИЗА болон ВСУ-ыг хэрэглэх хэрэгтэй. Мөн тэдгээр амьтдыг gE-ЕЛИЗА-аар шинжилснээс хойш 28 хоногийн дараа босго утга доогуур аргаар дахин шинжилж мэдрэх чанарыг сайжруулахыг зөвлөдөг. gE-ЕЛИЗА аргаар шинжлэхэд хоёр удаа сөрөг дүн үзүүлсэн тохиолдолд тухайн амьтныг ҮХВ-1-д эерэг гэж үзэхгүй ба харин шинжилгээний бусад арга нэмж хэрэглэхэд ч оношилгооны асуудал тулгарсаар байх тул тэр амьтныг нядлахыг зөвлөдөг юм (ө.х. халдварт өртсөн сүргийн нэгтгэсэн сүү эерэг дүн үзүүлэх).

В. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

1. Оршил

1.1. Үндэслэл, бүтээгдэхүүний зориулалт

Эдүгээ ҮХВ-1-ийн сулруулсан болон амьд хэд хэдэн вакцин бий. Вакцины омгийг ихэвчлэн эсийн өсгөвөрт олон удаа зорчуулдаг. Вакцины зарим омгийн вирус температурт мэдрэг удамшлын шинж чанартай, өөрөөр хэлбэл тэдгээр нь 39°C болон түүнээс дээш температурт үржиж чаддаггүй. Сулруулсан вакциныг хамраар эсхүл булчинд тарьж олгоно. Идэвхгүйжүүлсэн вакцин нь идэвхгүй болгосон вирус эсхүл вирусийн аливаа жижиг хэсгээс (гликопротеин) маш их агуулахын зэрэгцээ дархлааны зохистой хариу урвалыг идэвхжүүлэхээр нэмсэн хүчлүүр агуулдаг. Идэвхгүйжүүлсэн вакциныг булчин, арьсан дор тарина. ҮХВ-1-ийн эсрэг вакцинжуулалтыг халдварын улмаас амьтан эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлэн өвчлөхөөс хамгаалах, өвчинтэй тэмцэх, устгах хөтөлбөр хэрэгжүүлэхэд дэмжлэг болгох зорилгоор хэрэглэнэ.

Янз бүрийн улс оронд эдүгээ маркерт эсхүл ХАВАЯ (халдвартайг вакцинжуулсан амьтнаас ялгаварлах [DIVA]) вакцин хэрэглэж байна. Эдгээр сулруулсан болон идэвхгүйжүүлсэн маркерт вакцин нь тодорхой генийг нь үгүй болгосон мутацид (gE генийг үгүй болгосон) эсхүл вирионы дэд нэгжид, тухайлбал D гликопротеинд суурилсан байдаг. Ийм маркерт вакциныг оношлох шинжилгээний тохирсон аргатай хослон хэрэглэх нь вакцинжуулсан болон халдвар авсан амьтныг ялгах (ХАВАЯ зарчим) боломж олгодог учраас хээрийн омгоор халдварласан амьтны тархалт өндөр улс орон, бүс нутагт ҮХВ-1-ийг устгах хөтөлбөр хэрэгжүүлэхэд үндсэн арга нь болж өгнө. Вакцинжуулалтын хөтөлбөрийг эрчимтэй хэрэгжүүлснээр халдвар авсан амьтны тархалт буурах ба шаардлага хангах оношилгооны аргаар түүнд хяналт- шинжилгээ

хийнэ. Эдийн засгийн хувьд үндэслэлтэй нөхцөлд халдвартай байгаа амьтныг нядалснаар тухайн бүс нутаг ҮХВ-1-ийн халдваргүй болгох боломжтой. Зарим улсад ҮХВ-1-тэй тэмцэх, устгах хөтөлбөр 1980-аад оны эхнээс хэрэгжсэн байдаг. Сүргийн доторх халдварлалтын түвшин, үржүүлгийн үйл ажиллагаа, өвчнийг устгах стратеги өөр өөр учраас тэмцэх, устгах янз бүрийн бодлогыг хэрэгжүүлж иржээ. Өнөөдрийг хүртэл Европын холбоонд зөвхөн gE генийг үгүй болгосон ДИВА вакциныг (амьд болон үхүүлсэн) зах зээлд гаргаж энэ өвчинтэй тэмцэх, устгах хөтөлбөр хэрэгжүүлэхэд ашиглаж байна.

Энэ гарын авлагын 1.1.8. *Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зарчим* бүлэгт мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зааварчилгааг оруулав. Энэ хэсэгт болон 1.1.8 дугаар бүлэгт оруулсан зааварчилгаа нь ерөнхий агуулгатай учир тухайн улсын болон бүс нутгийн шаардлагыг нэмж оруулж болно.

2. Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны тодорхойлолт, ердийн вакцинд тавих наад захын шаардлага

2.1. Омгийн шинж чанар

2.1.1. Биологийн шинж чанар

Вакциныг эх омгийн бэлдэц төст систем ашиглан үйлдвэрлэнэ. Үндсэн эх омгийн (ҮЭО) гарал үүсэл, түүнийг зорчуулсан түүх, хадгалсан нөхцөлийг бүртгэж тэмдэглэсэн байх ёстой. Вирусийг ҮЭО ашиглан ялган тогтооно. Эх омгийн бэлдцэд амьд вакцин үйлдвэрлэх зорилгоор сулруулах ҮХВ-1-ийн омог агуулагдаж байх ёстой. Омгийг олон удаа эсийн өсгөвөрт зорчуулж бага температурт (температурт мэдрэг мутант) ургадаг болгон дасгах эсхүл генийн инженерчлэлийн аргаар жишээ нь вирусийн репликацид оролцдоггүй вирусийн нэг эсхүл хэд хэдэн генийг (ө.х. ҮХВ-1-ийн гликопротеин Е) үгүй болгох аргаар сулруулна. Амьд вакцины вирусийг хээрийн омгийн вирусээс ялгаварлах зарим арга (жишээ нь температур өвөрмөц ургалтын хэв маяг, энзимээр таслагдах хэрчмийн уртын ялгаатай байдал) бий. Идэвхгүйжүүлсэн вакцин бэлтгэхэд ашиглах омгийг сулруулах шаардлагагүй. Эх омгийн бэлдэц элдэв бохирдолгүй байх ёстой.

2.1.2. Чанарын шалгуур (ариун чанар, цэвэршилт, гаднын зүйл агуулаагүй байх)

Эх омгийн бэлдцийг гаднын вирус болон бактери, мөөгөнцөр, микоплазмын бохирдолгүй болохыг шалгаж тогтооно. Ялангуяа ҮХВ-1-ийн вакцин үйлдвэрлэхэд дор дурдсан гаднын вирус байх ёсгүй: аденовирус, Акабана вирус, Шмаленбергийн вирус, үхрийн коронавирус, үхрийн херпесвирус 2,4,5, үхрийн парвовирус, үхрийн амьсгалын замын синцитиал вирус, үхрийн диарейн вирус, хэв шинжит бус пестивирус, үхрийн ротавирус, вакциниа вирус, Ауэскийн өвчний вирус, хэл хөхрөх өвчний вирус, үхрийн эфимер чичрэг өвчний вирус, үхрийн лейкозын вирус, үхрийн папиллом, үхрийн амны цэврүүт үрэвсэл, үхрийн цэцэг, шүлхий, арьс товруутах, хорт салст халуурал, параинфлюэнц 3, галзуу, мялзан, цэврүүт амтас өвчний үүсгэгч. Үхрийн диарей өвчний вирус (ЭЭН-тэй эсхүл ЭЭН-гүй) вакциныг бохирдуулах тохиолдол гардаг учраас түүний бохирдолгүй байлгахад онцгой анхаарна. Үүнээс гадна хэв шинжит бус шинэ пестивирус (ж.нь НоВі эсхүл НоВі төст)-ийг бохирдуулагч гэж үзэх болсон учраас анхааралдаа авах хэрэгтэй.

2.2. Үйлдвэрлэх арга

2.2.1. Аргачлал

Вакцин үйлдвэрлэхэд ашиглах эсийг үндсэн эх эсийн бэлдцийн системийг ашиглан бэлтгэнэ. Вирусийг вакцин үйлдвэрлэхэд тохиромжтой нь нотлогдсон үхрийн бөөрний Мадин Дарби дамжмал эс (MDBK) гэх мэт тогтвортой болсон дамжмал эсэд өсгөвөрлөх хэрэгтэй. Дамжмал эсийн түүх тодорхой бай хэрэгтэй. Дамжмал эс гаднын бичил биетэн, бодис агуулаагүй, хавдар үүсгэдэггүй болохыг тогтоосон байна.

2.2.2. Субстрат, тэжээлт орчинд тавих шаардлага

Вакцин үйлдвэрлэхэд хэрэглэх аливаа бодис бохирдолгүй байх ёстой. Үндсэн нөөц эх эсээс 20-иос илүү зорчуулаагүй эс хэрэглэнэ. Эх вирусийг ҮЭО-оос таваас илүүгүй

зорчуулсан байх хэрэгтэй. Вакцины вирусийн генетик инженерчлэлийн аргаар гарган авсан омгийг вакцины ердийн сулруулсан вирусийн омгийн адилаар боловсруулна. Эсийн ургалт хангалттай хэмжээнд хүрсэн үед дамжмал эсэд вакцины вирусийн омгоор халдвар хийнэ. Эсийн өсгөврийн шингэнд антибиотик нэмэхийг ихэвчлэн хориглодог. Вирусийн (эсрэгтөрөгч) гарц дээд цэгтээ хүрэхээр дээрх шингэнийг нь хурааж авна. Амьд вакцины тухайд дээд талын шингэнийг тунгалагшуулаад тогтворжуулагчтай хольж хөлдөөн хатаагаад савлана. Идэвхгүйжүүлсэн сонгомол вакцин үйлдвэрлэхдээ идэвхгүйжүүлэлтийг зөв явуулахын тулд идэвхгүйжүүлэгч бодис нэмэхээс өмнө өсгөврийн дээд хэсгийг нэгэн жигд болгон шингэрүүлнэ. Идэвхгүйжүүлсний дараа вирус бүрэн идэвхгүйжсэн эсэхийг шалгана. Үүнийг эсэд хоёроос дээш удаа зорчуулалт хийх замаар шалгана. Идэвхгүйжүүлсэн вирусийн цийдмэгийг дараа нь хүчлүүртэй холиод савлана. Вакциныг үйлдвэрлэлийн зохистой дадлын (GMP) удирдамж, Европын фармакопей эсхүл АНУ-ын Холбооны дүрэм журмын кодекс (9CFR) зэрэг орон нутгийн зохицуулалтын дагуу үйлдвэрлэнэ.

2.2.3. Явцын хяналт

Ажлын эх эс, ажлын эх вирус бохирдолгүй болохыг баталгаажуулна. Вирус халдварлуулахаас өмнө эсийн хэлбэр зүй бүдэг ялгарч харагдана. Өсгөвөрлөх явцад ЭЭН-г шалгана. Халдварлуулаагүй хяналтын эс өсгөвөрлөх хугацаанд хэлбэрээ хадгална. Өсгөврийн дээд шингэнийг хураан авч вирусийн таньцыг тогтооно. Идэвхгүйжсэн болохыг тогтоох шалгалтыг идэвхгүйжүүлсэн вакциныг үйлдвэрлэх явцад хийнэ. Эцсийн хэрэглээнд гаргах бөөний вакцин бохирдолгүй болохыг тогтоох шалгалтыг хийнэ.

2.2.4. Эцсийн бүтээгдэхүүний цувралын шалгалт

Ердийн нөхцөлд вакцины цуврал бүрд дараах шалгалтыг хийнэ. Цувралын шалгалт хийх удирдамжийн жишээг Европын холбооны хууль, Европын фармакопей, АНУ-ын 9CFR-аас харж болно.

i) Ариун чанар/цэвэршилт

Бактери, мөөгөнцөр, микоплазм, гаднын вирус агуулаагүй байх ёстой. Мал эмнэлгийн зориулалтаар хэрэглэх биологийн материалын ариун чанар, бохирдолгүй болохыг шалгах талаар энэ гарын авлагын 1.1.9 дүгээр бүлгээс үзэх боломжтой.

ii) Аюулгүй чанар

Ийлдсийн шинжилгээгээр YXB-1-ийн халдваргүй тугалд идэвхгүйжүүлсэн вакцины тунг хоёр дахин, амьд вакцины тунг арав дахин өсгөж олгоход гаж нөлөө үзүүлэхгүй байх ёстой.

iii) Цувралын идэвх

Вакцины үр нөлөөг B.2.3.2 хэсэгт заасны дагуу төлөөлөл болгон нэг цувралыг шалгахад хангалттай. Амьд вакцины тухайд цуврал бүрийн вирусийн таньцыг тогтоох бөгөөд энэ нь вакцин аюулгүй болох нь тогтоогдсон тунгийн 1/10-аас хэтрэхгүй байх ёстой ба харин хамгийн бага таньцаас доогуур байж болохгүй. Идэвхгүйжүүлсэн вакцины идэвхийг баталгаажсан өөр, тухайлбал вакцины үр нөлөөг тугалд үнэлдэг аргаар шалгана.

2.3. Албан ёсны зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага

2.3.1. Аюулгүй чанарын шаардлага

i) Вакцин хэрэглэх заалттай болон үл хэрэглэх амьтанд аюулгүй байх чанар

Вакцины арван тунтай тэнцэх тооны вирус (а) нялх тугалд хэсэг газрын болон тогтолцооны илэрхий урвал үүсгэхгүй байх; (б) хээлд халдварлахгүй эсхүл хээл хаяулахгүй байх (в) тугалд дараалан таван удаа зорчуулахад хоруу чанар нь эргэж сэргэхгүй байх ёстой. Идэвхгүйжүүлсэн вакцины тухайд ихэвчлэн давхар

тун олгодог. Идэвхгүйжүүлсэн вакцинд хоруу чанар эргэж сэргэх эсэхийг шалгахгүй.

ii) Сулруулсан/амьд вакцин эргэж хоруу чанартай болох

Эцсийн хэрэглээний вакцины сонгосон омгийг тугалд дараалан таван удаа зорчуулахад хоруу чанар нь эргэж сэргэхгүй байх ёстой.

iii) Хүрээлэн буй орчинд нөлөөлөх байдал

Сулруулсан вакцины омог үхрийн популяцид (R0 <1) өөрөө аяндаа тархахгүй байх ёстой

2.3.2. Үр нөлөөнд тавих шаардлага

i) МАА үйлдвэрлэлд

Вакцинжуулах туршилтыг лабораторийн нөхцөлд хийх замаар үүнийг харуулна. Үүний жишээ зааварчилгааг Европын фармакопейн нэг сэдэвт бүтээл (монограф)-д (Гурав дахь хэвлэл, 1997) оруулав. Товчхондоо 2-3 сарын бойжилттой арван толгой, ийлдсийн шинжилгээгээр YXB-1 тугалд вакцин олгоно. Хоёр тугалыг хяналтад авна. Гурван долоо хоногийн дараа YXB-1 халдварын эмнэл зүйн хэв шинжит шинж тэмдэг үүсгэдэг YXB-1-ийн хоруу чанартай омгийг бүх тугалд хамраар нь халдварлуулна. Вакцинжуулсан тугал эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлэхгүй, үзүүлсэн ч маш бүдэг байх ёстой. Вакцинжуулсан тугалын хамрын салст бүрхэвчид вирусийн хамгийн дээд таньц нь хяналтын тугалынхаас наад зах нь 100 дахин бага байна. Вирус гадагшлах хугацаа вакцинжуулсан тугалд хяналтын тугалаас наад зах нь 3 өдрөөр богино байна.

Хэдийгээр одоо байгаа олон вакцинд стандартын дагуу тогтоогоогүй ч YXB-1-ийн үр нөлөөг нь тогтоосон вакцин 1 жилээс доошгүй хугацаагаар хамгаалах дархлаа тогтооно.

ii) Тэмцэх, устгах арга хэмжээнд

Дээр дурдсан шалгуур үзүүлэлтээс гадна өвчинтэй тэмцэх, устгахад зориулсан YXB-1 вакцин нь халдвар авсан амьтныг вакцинжуулсан амьтнаас ялгах боломж олгодог маркертай вакцин (ж.нь gE генийг үгүй болгосон вакцин) байх хэрэгтэй юм. Эдүгээ gE генийг үгүй болгосон (идэвхгүйжүүлсэн бэлдмэл мөн түүнчлэн өөрчилсөн амьд вакцин) хэд хэдэн вакцин худалдаанд гарчээ.

2.3.3. Тогтвортой чанар

Амьд вакцины тухайд вирусийн таньцыг вакцины заасан хүчинтэй хугацаанаас 3 сар хэтэртэл тогтоож байх хэрэгтэй. Үүнээс гадна чийгшлийн хувь, хадгалааслагчийн төвшрүүлэг, pH-ыг тодорхойлно. Идэвхгүйжүүлсэн вакцины тухайд эмульсийн зууралдамхай чанар, тогтворшлыг шалгана.

Вакцинд хэрэглэсэн хадгалааслагч үр дүнтэй байгааг нотлон харуулна. Хадгалааслагчийн төвшрүүлэг, тогтвортой чанарыг түүний хүчинтэй хугацааны туршид шалгана. Хадгалааслагчийн төвшрүүлэг нь түүнд тогтоосон хязгаар дотор байх ёстой.

3. Биотехнологид суурилсан вакцин

3.1. Хэрэглэхэд бэлэн болсон вакцин, тэдгээрийн давуу тал

Рекомбинант омогт суурилсан гликопротеин Е (gE)-г салгасан идэвхгүйжүүлсэн болон өөрчилсөн амьд вакцин бий. gE-г салгасан бусад вакцинтай дүйцэх Европын холбоонд хэрэглэхээр Европын Эмийн бүтээгдэхүүний агентлагаас лиценз авсан вакцин байна.

gD дэд нэгжийн эсхүл генетик инженерчлэлийн аргаар YXB-1-ийн генийг салгасан (ж.нь gE болон/эсхүл gG-генийг үгүй болгосон) мутант вакцин гэх мэт бусад рекомбинант вакциныг хөгжүүлж туршилтын хувилбарыг бэлэн болгожээ.

Биотехнологид суурилсан вакцины өөр нэг давуу тал нь халдвартайг вакцинжуулсан амьтнаас ялгаварлах маркерийн чанартайд (ХАВАЯ; ж.нь gB-эсрэгбие-ЕЛИЗА нь gD-дэд нэгжийн вакцинд эсхүл gG-эсрэгбие-ЕЛИЗА нь тухайн генийг салгасан мутант вакцинд) оршино.

3.2. Биотехнологийн вакцинд тавих тусгай шаардлага

Европын холбоонд хэрэглэхээр зорьж байгаа рекомбинант вакцинд Европын Эмийн бүтээгдэхүүний агентлагаас лиценз олгоно.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

ABRIL C., ENGELS M., LIMAN A., HILBE M., ALBINI S., FRANCHINI M., SUTER M. & ACKERMANN M. (2004). Both viral and host factors contribute to neurovirulence of bovine herpesviruses 1 and 5 in interferon receptor-deficient mice. *J. Virol.,* **78**, 3644–3653.

ASHBAUGH S.E., THOMPSON K.E., BELKNAP E.B., SCHULTHEISS P.C., CHOWDHURY S. & COLLINS J.K. (1997). Specific detection of shedding and latency of bovine herpesvirus 1 and 5 using a nested polymerase chain reaction. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **9**, 387–394.

BEER M., KÖNIG P., SCHIELKE G. & TRAPP S. (2003). Markerdiagnostik in der Bekämpfung des Bovinen Herpesvirus vom Typ 1: Möglichkeiten und Grenzen. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.,* **116**, 183–191.

BÖTTCHER J., BOJE J., JANOWETZ B., ALEX M., KÖNIG P., HAGG M., GÖTZ F., RENNER K., OTTERBEIN C., MAGES J., MEIER N. & WITTKOWSKI G. (2012). Epidemiologically non-feasible singleton reactors at the final stage of BoHV1 eradication: serological evidence of BoHV2 cross-reactivity. *Vet. Microbiol*., **159**, 282–290.

BITSCH V. (1978). The P37/24 modification of the infectious bovine rhinotracheitis virus serum neutralization test. *Acta Vet. Scand.*, **19**, 497–505.

BOSCH J.C., DE JONG M.C.M., FRANKEN P., FRANKENA K., HAGE J.J., KAASHOEK M.J., MARIS-VELDHUIS M.A., NOORDHUIZEN J.P.T.M., VAN DER POEL W.H.M., VERHOEFF J., WEERDMEESTER K., ZIMMER G.M. & VAN OIRSCHOT J.T. (1998). An inactivated gE-negative marker vaccine and an experimental gD-subunit vaccine reduce the incidence of bovine herpesvirus 1 infections in the field. *Vaccine*, **16**, 265–271.

BRUNNER D., ENGELS M., SCHWYZER M. & WYLER R. (1988). A comparison of three techniques for detecting bovine herpesvirus type 1 (BHV-1) in naturally and experimentally contaminated bovine semen. *Zuchthygiene* (*Berlin*), **23**, 1–9.

DEKA D., MAITI RAMNEEK N.K. & OBEROI M.S. (2005). Detection of bovine herpesvirus-1 infection in breeding bull semen by virus isolation and polymerase chain reaction. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, **24**, 1085–1094.

EDWARDS S., CHASEY D. & WHITE H. (1983). Experimental infectious bovine rhinotracheitis: comparison of four antigen detection methods. *Res. Vet. Sci.*, **34**, 42–45.

EDWARDS S. & GITAO G.C. (1987). Highly sensitive antigen detection procedures for the diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis: amplified ELISA and reverse passive haemagglutination. *Vet. Micorobiol.*, **13**, 135–141.

EDWARDS S., WHITE H. & NIXON P. (1990). A study of the predominant genotypes of bovid herpesvirus 1 isolated in the U.K. *Vet. Microbiol*., **22**, 213–223.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 3RD EDITION (1997). Monograph 0696: Live freeze dried vaccine for infectious bovine rhinotracheitis. Council of Europe, Strasbourg, France.

FRANKENA K., FRANKEN P., VANDEHOEK J., KOSKAMP G. & KRAMPS J.A. (1997). Probability of detecting antibodies to bovine herpesvirus 1 in bulk milk after the introduction of a positive animal on to a negative farm. *Vet. Rec.,* **140**, 90–92.

FUCHS M., HUBERT P., DETTERER J. & RZIHA H.-J. (1999). Detection of bovine herpesvirus type 1 in blood from naturally infected cattle by using a sensitive PCR that discriminates between wild-type virus and virus lacking glycoprotein E. *J. Clin. Microbiol.*, **37**, 2498–2507.

GROM J., HOSTNIK P., TOPLAK I. & BARLIC-MAGANJA D. (2006). Molecular detection of BHV-1 in artificially inoculated semen and in the semen of a latently infected bull treated with dexamethasone. *Vet. J.,* **171**, 539–544.

KAASHOEK M.J., MOERMAN A., MADIC J., RIJSEWIJK F.A.M., QUAK J., GIELKENS A.L.J. & VAN OIRSCHOT J.T. (1994). A conventionally attenuated glycoprotein E-negative strain of bovine herpesvirus type 1 is an efficacious and safe vaccine. *Vaccine*, **12**, 439–444.

KEUSER V., SCHYNTS F., DETRY B., COLLARD A., ROBERT B., VANDERPLASSCHEN A., PASTORET P.-P. & THIRY E. (2004). Improved antigenic methods for differential diagnosis of bovine, caprine, and cervine alphaherpesviruses related to bovineherpesvirus 1. *J. Clin. Microbiol.*, **42**, 1228–1235.

KRAMPS J.A., BANKS M., BEER M., KERKHOFS P., PERRIN M., WELLENBERG G.J. & VAN OIRSCHOT J.T. (2004). Evaluation of tests for antibodies against bovine herpesvirus 1 performed in national reference laboratories in Europe.*Vet Microbiol.*, **102**, 169–181.

KRAMPS J.A., QUAK S., WEERDMEESTER K & VAN OIRSCHOT J.T. (1993). Comparative study on sixteen enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of antibodies to bovine herpesvirus 1 in cattle. *Vet. Microbiol.*, **35**, 11–21.

LEMAIRE M., WEYNANTS V., GODFROID J., SCHYNTS F., MEYER G., LETESSON J.J. & THIRY E. (2000). Effects of bovine herpesvirus type 1 infection in calves with maternal antibodies on immune response and virus latency. *J. Clin. Microbiol.,* **38**, 1885–1894.

LOVATO L., INMAN M., HENDERSON G., DOSTER A. & JONES C. (2003). Infection of cattle with a bovine Herpesvirus 1 strain that contains a mutation in the latencyrelated gene leads to increased apoptosis in trigeminal ganglia during the transition from acute infection to latency. *J. Virol.*, **77**, 4848–4857.

MAGYAR G., TANYI J., HORNYAK A. & BATHA A. (1993). Restriction endonuclease analysis of Hungarian bovine herpesvirus isolates from different clinical forms of IBR, IPV and encephalitis. *Acta Vet. Hung*., **41**, 159–170.

MARS M.H., DE JONG M.C.M., FRANKEN P. & VAN OIRSCHOT J.T. (2001). Efficacy of a live glycoprotein E-negative bovine herpesvirus 1 vaccine in cattle in the field. *Vaccine*, **19**, 1924–1930.

MASRI S.A., OLSON W., NGUYEN P.T., PRINS S. & DEREGT D. (1996). Rapid detection of bovine herpesvirus 1 in the semen of infected bulls by a nested polymerase chain reaction assay. *Can. J. Vet. Res*., **60**, 100–107.

MECHOR G.D., ROUSSEAUX C.G., RADOSTITS O.M., BABIUK L.A. & PETRIE L. (1987). Protection of newborn calves against fatal multisystemic infectious bovine rhinotracheitis by feeding colostrum from vaccinated cows. *Can. J. Vet. Res*., **51**, 452–459.

METZLER A.E., MATILE H., GASSMANN U., ENGELS M. & WYLER R. (1985). European isolates of bovine herpesvirus 1: a comparison of restriction endonuclease sites, polypeptides, and reactivity with monoclonal antibodies. *Arch. Virol.*, **85**, 57–69,

MOORE S., GUNN M. & WALLS D. (2000). A rapid and sensitive PCR-based diagnostic assay to detect bovine herpesvirus 1 in routine diagnostic submissions. *Vet. Microbiol.*, **75**, 145–153.

NYLIN B., STROGER U. & RONSHOLT L. (2000). A retrospective evaluation of a bovine herpesvirus-1 (BHV-1) antibody ELISA on bulk-tank milk samples for classification of the BHV-1 status of Danish dairy herds. *Prev. Vet. Med.*, **47**, 91–105.

PARSONSON I.M. & SNOWDON W.A. (1975). The effect of natural and artificial breeding using bulls infected with, or semen contaminated with, infectious bovine rhinotracheitis virus. *Aust. Vet. J*., **51**, 365–369.

PERRIN B., BITSCH V., CORDIOLI P., EDWARDS S., ELOIT M., GUERIN B., LENIHAN P., PERRIN M., RONSHOLT L., VAN OIRSCHOT J.T., VANOPDENBOSCH E., WELLEMANS G., WIZIGMANN G. & THIBIER M. (1993). A European comparative study of serological methods for the diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, **12**, 969–984.

PERRIN B., CALVO T., CORDIOLI P., COUDERT M., EDWARDS S., ELOIT M., GUERIN B., KRAMPS J.A., LENIHAN P., PASCHALERI E., PERRIN M., SCHON J., VAN OIRSCHOT J.T., VANOPDENBOSCH E., WELLEMANS G., WIZIGMANN G. & THIBIER M. (1994). Selection of European Union standard reference sera for use in the serological diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, **13**, 947–960.

RIJSEWIJK F.A., KAASHOEK M.J., LANGEVELD J.P., MELOEN R., JUDEK J., BIENKOWSKA-SZEWCZYK K., MARIS-VELDHUIS M.A. & VAN OIRSCHOT J.T. (1999). Epitopes on glycoportein C of bovine herpesvirus-1 (BHV-1) that allow differentiation between BHV-1.1 and BHV-1.2 strains. *J. Gen. Virol*., **80**, 1477–1483.

ROLA J., POLAK M. & ZMUDZINSKI J. (2003). Amplification of DNA of BHV 1 isolated from semen of naturally infected bulls. *Bull. Vet. Inst. Pulaway*, **47**, 71–75.

ROS C., RIQUELME M.E., OHMAN FORSLUND K. & BELAK S. (1999). Improved detection of five closely related ruminant alphaherpesviruses by specific amplification of viral genome sequences. *J. Virol. Methods*, **83**, 55–65.

SANTURDE G., SILVA N.D., VILLARES R., TABARES E., SOLANA A., BAUTISTA J.M., CASTRO J.M. & DA SILVA N. (1996). Rapid and high sensitivity test for direct detection of bovine herpesvirus-1 genome in clinical samples. *Vet. Microbiol.,* **49**, 81–92.

SCHROEDER C., HORNER S., BÜRGER N., ENGEMANN C., BANGE U., KNOOP E.V. & GABERT J. (2012). Improving the sensitivity of the IBR-gE ELISA for testing IBR marker vaccinated cows from bulk milk. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.*, **125**, 290–296.

SCHYNTS F., BARANOWSKI E., LEMAIRE M. & THIRY E. (1999). A specific PCR to differentiate between gE negative vaccine and wildtype bovine herpesvirus type 1 strains. *Vet. Microbiol.,* **66**, 187–195.

SMITS C.B., VAN MAANEN C., GLAS R.D, DE GEE A.L., DIJKSTRAB T, VAN OIRSCHOT J.T. & RIJISEWIJK F.A. (2000). Comparison of three polymerase chain reaction methods for routine detection of bovine herpesvirus 1 DNA in fresh bull semen. *J. Virol. Methods,* **85**, 65–73.

TERPSTRA C. (1979). Diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis by direct immunofluorescence. *Vet. Q.*, **1**, 138– 144.

THIRY J., KEUSER V., MUYLKENS B., MEURENS F., GOGEV S., VANDERPLASSCHEN A. & THIRY E. (2006). Ruminant alphaherpesviruses related to bovine herpesvirus 1. *Vet. Res*., **37**, 169–190.

VAN ENGELENBURG F.A., MAES R.K., VAN OIRSCHOT J.T. & RIJSEWIJK F.A. (1993). Development of a rapid and sensitive polymerase chain reaction assay for detection of bovine herpesvirus type 1 in bovine semen. *J. Clin. Microbiol.*, **31**, 3129–3135.

VAN ENGELENBURG F.A.C., VAN SCHIE F.W., RIJSEWIJK F.A.M. & VAN OIRSCHOT J.T. (1995). Excretion of bovine herpesvirus 1 in semen is detected much longer by PCR than by virus isolation. *J. Clin. Microbiol*., **33**, 308–312.

VAN OIRSCHOT J.T., KAASHOEK M.J., MARIS-VELDHUIS M.A., WEERDMEESTER K. & RIJSEWIJK F.A.M. (1997). An enzyme-linked immunosorbent assay to detect antibodies against glycoprotein gE of bovine herpesvirus 1 allows differentiation between infected and vaccinated cattle. *J. Virol. Methods*, **67**, 23–34.

VAN OIRSCHOT J.T., STRAVER P.J., VAN LIESHOUT J.A.H., QUAK J., WESTENBRINK F. & VAN EXSEL A.C.A. (1993). A subclinical infection of bulls with bovine herpesvirus type 1 at an artificial insemination centre. *Vet. Rec.*, **132**, 32–35.

VILCEK S., NETTLETON P.F., HERRING J.A. & HERRING A.J. (1994). Rapid detection of bovine herpesvirus 1 (BHV 1) using the polymerase chain reaction. *Vet. Microbiol*., **42**, 53–64.

WANG J., O'KEEFE J., ORR D., LOTH L., BANKS M., WAKELEY P., WEST D., CARD R., IBATA G., VAN MAANEN K., THOREN P., ISAKSSON M. & KERKHOFS P. (2008). An international inter-laboratory ring trial to evaluate a real-time PCR assay for the detection of bovine herpesvirus 1 in extended bovine semen. *Vet. Microbiol*., **126**, 11–19.

WEIBLEN R., KREUTZ L., CANABOROO T.F., SCHUCH L.C. & REBELATTO M.C. (1992). Isolation of bovine herpesvirus 1 from preputial swabs and semen of bulls with balanoposthitis. *J. Vet. Diag. Invest*., **4**, 341–343.

WELLENBERG G.J., VERSTRATEN E.R.A.M., MARS M.H. & VAN OIRSCHOT J.T. (1998a). Detection of bovine herpesvirus 1 glycoprotein E antibodies in individual milk samples by enzyme-linked immunosorbent assays. *J. Clin. Microbiol*., **36**, 409–413.
WELLENBERG G.J., VERSTRATEN E.R.A.M., MARS M.H. & VAN OIRSCHOT J.T. (1998B). ELISA detection of antibodies to glycoprotein E of bovine herpesvirus 1 in bulk milk samples. *Vet Rec.,* **142**, 219–220.

WERNIKE K., HOFFMANN B., KALTHOFF D., KOŃIG P. & BEER M. (2011). Development and validation of a triplex real-time PCR assay for the rapid detection and differentiation of wild-type and glycoprotein E-deleted vaccine strains of Bovine herpesvirus type 1. *J. Virol. Methods*, **174** (1–2), 77–84.

WIEDMANN M., BRANDON R., WAGNER P., DUBOVI E.J. & BATT C.A. (1993). Detection of bovine herpesvirus-1 in bovine semen by a nested PCR assay. *J. Virol. Methods,* **44**, 129–140.

WYLER R., ENGELS M. & SCHWYZER M. (1989). Infectious bovine rhinotracheitis/vulvovaginitis (BHV1). *In:* Herpesvirus Diseases of Cattle, Horses and Pigs, Wittmann G., ed. Kluwer Academic Publishers, Boston, USA, 1–72.

XIA J.Q., YASON C.V. & KIBENGE F.S. (1995). Comparison of dot blot hybridization, polymerase chain reaction, and virus isolation for detection of bovine herpesvirus-1 (BHV-1) in artificially infected bovine semen. *Can. J. Vet. Res.*, **59**, 102–109.

YASON C.V., HARRIS L.M., MCKENNA P.K., WADOWSKA, D. & KIBENAGE F.S.B. (1995). Establishment of conditions for the detection of bovine herpesvirus-1 by polymerase chain reaction using primers in the thymidine kinase region. *Can. J. Vet. Res.,* **59**, 94–101.

*
* *

ЖИЧ: Үхрийн халдварт ринотрахейт/Үтрээ, үүдэвчийн идээт тууралт өвчнийг оношлох ДМАЭМБ-ын Лавлах лаборатори бий
(Дэлгэрэнгүй мэдээллийг ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас авна уу:
https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

Үхрийн халдварт ринотрахейт/Үтрээ, үүдэвчийн идээт тууралтыг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудтай холбогдон авах боломжтой.

ЖИЧ: ҮХРИЙН ХАЛДВАРТ РИНОТРАХЕЙТ ГАРЧИГТАЙГААР 1990 ОНД АНХ, 2017 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

АРЬС ТОВРУУТАХ ӨВЧИН

А. УДИРТГАЛ

Арьс товруутах өвчин (АТӨ) анх 1929 онд Замби улсад илэрч, 1943 он гэхэд Ботсванад (Haig, 1957), дараа нь мөн онд Өмнөд Африкт тархан найман сая гаруй үхэр өвчлүүлж, эдийн засгийн томоохон хохирол учруулж байжээ. Энэ өвчин 1957 онд хонины цэцэг өвчний дэгдэлттэй холбоотойгоор Кенид нэвтэрсэн байна (Weiss, 1968). 1970 онд арьс товруутах өвчин хойд зүг рүү Судан улс хүртэл, 1974 он гэхэд баруун тийш Нигери улс хүртэл тархаж, 1977 онд Мавритан, Мали, Гана, Либери улсад бүртгэгджээ. 1981-1986 онд гарсан уг өвчний өөр нэг улс дамнасан тархалтад Танзани, Кени, Зимбабве, Сомали, Камерун улс өртсөн бөгөөд өвчилсөн үхрийн үхлийн түвшин 20% гэж бүтгэгдсэн байна. Сахарын цөлийн хойд хэсэг болон Африк тивээс өөр бүс нутагт АТӨ-ий гаралт 1988-1989 оны хооронд Египет, Израил улсад анх удаа батлагдсан ба 2006 онд дахин бүртгэгдсэн байна (Brenner нар, 2006). Сүүлийн 10 жилд Ойрх Дорнод, Европ, Азийн бүс нутагт АТӨ-ий гаралт бүртгэгдээд байна (хамгийн сүүлийн үеийн шинэчилсэн мэдээллийг ДМАЭМБ-ын Дэлхийн мал, амьтны эрүүл мэндийн мэдээллийн системээс (WOAH WAHIS) авна уу[1]). АТӨ-ий дэгдэлт мал, амьтны шилжилт хөдөлгөөн, дархлааны байдал, халдвар дамжуулагчийн популяцид нөлөөлөхүйц салхи, хур тунадас зэргээс шалтгаалан үе үе, хаа нэгтээ тохиолдох хандлагатай байдаг. Халдвар дамжих гол зам нь халдвар дамжуулдаг төрөл бүрийн үе хөлтнөөр механик байдлаар дамждаг гэж үздэг (Tuppurainen нар, 2015).

Арьс товруутах өвчний вирус (АТӨВ) нь *Poxviridae* овгийн *Chordopoxvirinae* дэд овогт хамаарах *Capripoxvirus (Каприпоксвирус*)-ийн төрөлд хамаарна. Бусад поксвирусийн адилаар АТӨВ халдварласан эсийн цитоплазмд репликацлагдаж, бөөм тойрсон вирусийн өвөрмөц бие үүсгэнэ. Арьс товруутах өвчний вирион нь том буюу 293–299 нм (урт), 262–273 нм (өргөн) хэмжээтэй, гонзгой дөрвөлжиндүү хэлбэртэй. АТӨВ-ийн геномын бүтэц бусад поксвирусийнхтэй төстэй бөгөөд 25% нь Гуанин, Цитозин (GC) баялаг суурьтай, ойролцоогоор 150,000 хос суурь (bp) урттай, 156 орчим нээлттэй уншигдах хүрээг (Open Reading Frame [ORF]) кодлодог давхар утаслаг, шугаман бүтэцтэй ДНХ-ээс бүрдэнэ. Шугаман геномын төгсгөл бүрд 2200-2300 хос суурь урттай урвуу төгсгөлийн давтагдмал дараалал байрлана. Геномын шугаман төгсгөлүүд үсний хавчааран гогцоогоор холбогддог. АТӨВ-ийн геномын төв хэсэгт вирусийн репликац, хэлбэржин хөгжихөд шаардагдах уургийг кодлодог ORF-ууд агуулагддаг бөгөөд бусад хөхтөн амьтны поксвирусийн геномтой маш төстэй. АТӨВ-ийн геномын гаднах хэсэг дэх ORF нь ижил төстэй байдал бага бөгөөд вирусийн хоруу чанар болон эзэн амьтны хүрээг тодорхойлоход оролцдог уургийг кодолно.

АТӨ-ий эмнэл зүйн шинж тэмдгийн илрэл янз бүр байдаг бөгөөд энэ нь вирусийн омог, эзэн амьтны нас, дархлааны статус, үүлдэр зэрэг олон хүчин зүйлээс хамаарна. Зебу үхэр (*Bos indicus*)-ээс бусад үхэр (*Bos taurus*) ерөнхийдөө эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлэн өвчлөх нь элбэг. Азийн одос үхрийг (*Bubalus spp.*) бас мэдрэмтгий гэж мэдээлжээ. *Bos taurus* зүйлийн дотроос Чайнел айланд үүлдрийн үхэр илүү хүндээр өвчилдөг бөгөөд саалийн үнээ хамгийн эрсдэлтэй ажээ. Гэсэн хэдий ч адил нөхцөлд нэг дор үржүүлж байгаа ижил үүлдрийн бүлэг үхрийн дунд илрэх эмнэл зүйн шинж тэмдэг ихээхэн ялгаатай (Carn & Kitching, 1995). Вирусийн хоруу чанар, эзэн амьтны дархлааны төлөв байдал, генотип, халдвар дамжуулагч үе хөлтний тархалт зэргээс шалтгаалж тухайн амьтны бүлэгт бүхэлд нь өвчин үүсгэгч вирус халдварлах боломжгүй байх магадлалтай. Халдварын тархалтын ийлдсийн тандалт, туршилтын халдвар, халдварын тохиолдлын мэдээллээс үзэхэд АТӨВ-ийн халдварт хэд хэдэн зүйлийн зэрлэг амьтан (ж. нь: өмнөд Африкийн зээр, импала гөрөөс, анааш, тэмээ, зүүн өмнөд Азийн зэрлэг үхэр) мэдрэмтгий болох нь харагдаж байна (Dao нар, 2022; Hedger & Hamblin, 1983; Kumar нар, 2023; Porco нар, 2023).Зэрлэг амьтанд гарсан өвчний дэгдэлтийн мэдээлэл ховор, явуулж байгаа судалгаа бага, ихэнхдээ судалгаанд хамрах амьтан цөөн учраас АТӨВ-ийн эпидемиологид зэрлэг амьтны оролцоог тодорхойлоход бэрхшээлтэй. Ямар ч дархлаагүй, мэдрэмтгий байж болзошгүй үхрийн төрлийн болон бусад хивэгч амьтан олноороо амьдрах газар зүйн шинэ бүс нутагт АТӨВ тархаж байгаа одоогийн нөхцөлд дээрх сэдвээр цаашид судалгаа хийх хэрэгтэй.

[1] https://www.woah.org/en/what-we-do/animal-health-and-welfare/disease-data-collection/

Энэ өвчний нууц үеийн үргэлжлэх хугацааг байгалийн халдварын үед тогтоогоогүй ч вирус халдварлуулж зориуд өвчлүүлэхэд халуурч эхлэх хүртэл 6-9 хоног байсан байна. Цочмог хэлбэрээр өвчилсөн малд нэг долоо хоног 41°С-аас дээш халуурах шинж тэмдэг илэрнэ. Ил харагдах тунгалгийн бүх зангилаа томорно. Саалийн үнээний сүүний гарц мэдэгдэхүйц буурна. Вирус халдварлуулж зориуд өвчлүүлснээс хойш 7-19 хоногийн дараа бие махбодод, ялангуяа толгой, хүзүү, дэлэн, хуухнаг, баян түрүү, хярзанд эмгэг өөрчлөлт илэрч байжээ (Coetzer, 2004). Арьсан бүрхүүл дээр илрэх онцлог эмгэг өөрчлөлт нь олон тооны, сайтар тусгаарлагдсанаас эхлээд нийлж томорсон, 0.5-5 см голчтой, хатуу, хавтгай гүвдрүү, товруун зангилаа үүсэх явдал юм. Товруун зангилаа нь арьсны жинхэнэ болон өнгөн давхаргыг хамрах ба арьсан доорх өөхөн давхарга, заримдаа зэргэлдээх хөндлөн судалт булчинг хамран томорно. Эдгээр зангилааны зүсэлтийн гадаргуу цайвар саарлаас цагаан өнгөтэй байх ба эхэндээ шүүдэст шингэн ялгарч байгаад дараагийн 2 долоо хоногийн дотор зангилааны төв хэсгээр овойж дотор нь үхэжсэн материал/үхэжсэн эдийн бөөгнөрөл үүсэж болно. Бичил бүтцийн эмгэгийн цочмог өөрчлөлтөд арьсны өнгөн давхаргад цитоплазмын доторх оршихууны бүтэц бүхий хоосовч үүсэх болон арьсны жинхэнэ давхаргын судасны үрэвсэл орно. Оршихууны бүтэц цитоплазмын дотор олноороо үүсэх бөгөөд эозиноор будагддаг, нэгэн жигдээс заримдаа мөхлөг хэлбэртэй байх ба эндотел эс, холбогч эдийн эс, макрофаг, арьсны эсэд үүсэж болно. Арьсны жинхэнэ давхаргад ширхэгэнцэрт үхжил бүхий судасны үрэвсэл, хаван, бөглөрөл, тунгалгийн зангилааны үрэвсэл, арьсны жинхэнэ давхарга өнгөн давхаргаасаа хөндийрөх, үрэвслийн холимог нэвчдэс үүсэх зэрэг эмгэг өөрчлөлт илэрнэ. Архагшсан гэмтэл нь гэржин үхэжсэн масс шигдсэн эд агуулах ба ихэвчлэн мөхлөгт эдээр хүрээлэгдэж, аажмаар ширхэгэнцэрт эд болж хувирна. Товруун зангилаа үүсэх үед нүд, хамраас салст идээт шүүдэс ялгарч, нүдний эвэрлэг бүрхэвч үрэвсэж болно. Мөн амны хөндийн салст бүрхэвч, тэжээл боловсруулах зам, ялангуяа жинхэнэ ходоод, түүнчлэн мөгөөрсөн хоолой, уушгинд зангилаа үүсэж, улмаар уушгины анхдагч болон хоёрдогч үрэвсэл үүсгэнэ. Нүд, хамар, ам, шулуун гэдэс, дэлэн, үржлийн эрхтний салст бүрхэвчид гарсан товруун зангилаа богино хугацаанд шархлах бөгөөд энэ үед биеийн бүхий л шүүрэл, нулимс, нус, шүлсэд АТӨВ агуулагдана. Үе мөч хавагнаж, мал явахдаа хойргошно. Хээлтэй үнээ хээл хаяж болзошгүй ба халдвар үтрээгээр дамжсан тухай мэдээлэл бий (Rouby & Aboulsoudb, 2016). Бух бүр мөсөн эсхүл түр үргүй болж, вирус үрээр дамжин удаан хугацаанд гадагшилж болно (Irons нар, 2005). Хүнд хэлбэрийн халдварын эдгэрэлт удаан; мал турж эцэх, уушгины үрэвсэл, дэлэнгийн үрэвслээр өвчилж болзошгүй бөгөөд ялааны нөлөөнд өртсөн байж болзошгүй арьсны үхэжсэн эдийн тав ховхорч арьс ширэнд гүн хонхор үлдээнэ (Prozesky & Barnard, 1982).

Гол нь үхрийн герпесвирус 2 (BoHV-2)-ээр үүсгэгддэг хуурамч арьс товруутах өвчнөөс ялгаварлан оношилно. Уг өвчин өнгөц зангилаа үүсгэж, хөнгөн хэлбэрийн эмнэл зүйн шинж тэмдгээр илэрдэг бөгөөд ихэвчлэн арьс товруутах өвчний эхэн үеийн шинж тэмдэгтэй төстэй байдаг. Эсийн бөөмийн доторх оршихууны бүтэц үүсэх, түүнчлэн нийлсмэл эс (синцити) бий болох нь BoHV-2 халдварын үед илрэх эмгэг бичил бүтцийн онцлог шинж бөгөөд арьс товруутах өвчний үед энэ шинж ажиглагддаггүй. Арьсны эмгэгийг дерматофилоз, дерматофитоз, үхрийн нокардиоз, гэрэлд хэт мэдрэмтгий болох, актиномикоз, актинобациллоз, чонон яр, шавжид хазуулах, безнойтоз, нокардиоз, демодикоз, онхоцеркоз, үхрийн хуурамч цэцэг, үхрийн цэцэг зэрэг өвчнөөс ялгаварлан оношилно. Салст бүрхэвчийн эмгэг өөрчлөлтийг шүлхий, хэл хөхрөх, салстын өвчин, үхрийн хорт салст халуурал, үхрийн халдварт ринотрахеит, үхрийн амны гүвдрүүт үрэвсэл зэрэг өвчнөөс ялгаварлан оношилно.

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Арьс товруутах өвчнийг оношлох шинжилгээнд ашиглаж буй арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	**Зорилго**					
	Популяци халдваргүйг тогтоох	Бодгалийг шилжилт хөдөлгөөнд оруулахаас өмнө халдваргүйг тогтоох	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх	Эмнэл зүйн тохиолдлыг батлах	Халдварын тархалт тогтоох – Тандалт	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгч илрүүлэх						
Вирус ялгах	+	++	+	+++	+	–
ПГУ	++	+++	++	+++	+	–

ДЭМ	–	–	–	+	–	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ВСУ	++	++	++	++	++	++
ФЭШБУ	+	+	+	+	+	+
ЕЛИЗА	++	++	++	++	++	++

Түлхүүр үг:
+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
++ = энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй.
ПГУ = полимеразагийн гинжин урвал;
ДЭМ = дамжуулагч электрон микроскоп
ВСУ = вирус саармагжуулах урвал;
ФЭШБУ = флюоресценц эсрэгбиеийн шууд бус урвал;
ЕЛИЗА = энзим холбоост дархлааны урвал.

1. Өвчний үүсгэгч илрүүлэх

1.1. Сорьц авах, илгээх, бэлтгэх

Вирус ялгах, эсрэгтөрөгч илрүүлэх сорьцыг задлан шинжилгээний үед биопси хэлбэрээр эсхүл арьсанд үүссэн товруунаас авна. Вирус ялгах сорьцыг эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрсэн эхний долоо хоногт, саармагжуулах эсрэгбие үүсэхээс өмнө авбал илүү зохистой (Davies, 1991; Davi нар, 1971); гэхдээ арьсанд үүссэн зангилаанаас наад зах нь 3-4 долоо хоногт вирусийг ялгаж авах боломжтой. Энгийн эсхүл бодит цагийн полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ)-аар ген илрүүлэх сорьцыг саармагжуулах эсрэгбие үүссэн байхад нь авч болно. Арьсанд анхны эмгэг өөрчлөлт илэрснээс хойш 35 хоног хүртэл хугацаанд вирус ялгах боломжтой бол вирусийн нуклеин хүчлийг ПГУ-аар 3 сар хүртэл хугацаанд илрүүлэх боломжтой (Tuppurainen нар, 2005; Weiss, 1968). Арьс товруутах өвчний вирус цусаар тарах шатанд (эмгэгшил нэлэнхий тархахаас өмнө эсхүл нэлэнхий тархсанаас хойш 4 хоногийн дотор) гепарин эсхүл ЭДТА (этилен диамин тетра цууны хүчил)-ээр үл бүлэгнүүлж авсан цусны сорьцын цагаан эсийн хөвмөл (бафи коат)-ийг вирус ялгахад мөн ашиглаж болно. Бичил бие бүтцийн сорьц авахдаа эмгэгшсэн хэсгийг эргэн тойрных нь (гэмтэлгүй) эдийг хамруулах ба хамгийн ихдээ 2 $см^3$ хэмжээтэй байна. Сорьцыг авсан даруйдаа түүний хэмжээнээс арав дахин их хэмжээний формальдегидийн 10%-ийн буфержүүлсэн саармаг уусмалд хийнэ.

Формалинд хийсэн эдийг тээвэрлэхэд биологийн эрсдэлтэй холбоотой тээвэрлэлтийн тусгай шаардлага тавьдаггүй. Цагаан эсийн хөвмөлөөс нь вирус ялгах зорилгоор авсан үл бүлэгнүүлэгчтэй цусны сорьцыг аажуухан хольсны дараа шууд мөсөн дээр байрлуулж, аль болох хурдан боловсруулна. Практикт сорьцыг боловсруулахаас өмнө 4°C-д хоёр хүртэл хоног байлгаж болох боловч хөлдөөж эсхүл тасалгааны хэмд хадгалж болохгүй. Вирус ялгах, эсрэгтөрөгч илрүүлэх эдийг 4°C, мөсөн дээр эсхүл -20°C-д хадгална. Хэрэв сорьцыг хол замд хөргүүргүй тээвэрлэхээс өөр аргагүй бол түүнийг 10%-ийн глицерин агуулсан тэжээлт орчинд хийж зөөвөрлөх ба эдийн сорьцын хэмжээ нь хангалттай (жишээ нь 10 мл-д 1 г) буюу зөөвөрлөх тэжээлт орчин нь вирус ялгахад хэрэглэх сорьцын гол хэсэгт нэвтрэхээргүй байна.

Бичил бие бүтцийн судалгааны сорьцыг стандарт арга зүйн дагуу бэлтгэж, гематоксилин-эозины (Г&Э) будгаар будна (Burdin, 1959).

Вирус ялгах, эсрэгтөрөгч илрүүлэх эмгэгт материалыг зориулалтын ариун, хурц хутга, хямсаагаар жижиглэсний дараа ариун ган үрэл бүхий холигчоор зөөлрүүлэх, эсхүл ариун элс, ижил хэмжээний фосфатын буфержүүлсэн давсны ариун уусмал (ФБУ) эсхүл пенициллин натри (1000 ОУН [IU]/мл), стрептомицин сульфат (1 мг/мл), микостатин (100 ОУН/мл), эсхүл фунгизон (амфотерицин, 2.5 мкг/мл), неомицин (200 ОУН/мл) агуулсан, ийлдэсгүй өөрчлөн тохируулсан Ийглийн тэжээлт орчин (МЕМ) бүхий ариун уур нухуур ашиглан цийдмэг бэлтгэнэ. Бэлтгэсэн цийдмэгийг гурван удаа хөлдөөн гэсгээсний дараа ширээний хурилдуураар 600 *g*-д 10 минут хурилдуурдаж тунгалагдуу болгоно. Сорьц бактериар бохирдсон гэж үзсэн тохиолдолд (арьсны сорьцоос вирус ялгах гэх мэт) багажаар

хурилдуурдах шатны дараа цийдмэгийн дээд шингэн хэсгийг 0.45 мкм нүхтэй шүүлтүүрээр шүүж болно. Бүлэгнээгүй цусыг 600 *g*-д 15 минут хурилдуурдаж цагаан эсийн хөвмөлийг ялган бэлтгэсний дараа уг үеийг Пастерийн ариун гуурс ашиглан болгоомжтой авч давхар нэрмэл 5 мл хүйтэн усанд хийнэ. 30 секундын дараа 5 мл өсгөврийн хоёр дахин их өтгөрүүлэгтэй хүйтэн тэжээлт орчин нэмж холино. Холимгийг 600 *g*-д 15 минут хурилдуурдаж, дээд шингэн хэсгийг зайлуулж тунашийг 5 мл Глазгогийн өөрчлөн тохируулсан Ийглийн тэжээлт орчин (GMEM) зэрэг тохирох өсгөврийн тэжээлт орчинд шингэлнэ. 600 *g*-д цааш 15 минут хурилдуурдсаны дараа үүссэн тунашийг 5 мл шинэ GMEM-д шингэлнэ. Энэ аргын оронд гепаринтай цусны сорьцоос цагаан эсийн хөвмөлийг Фиколын үелүүлэгч орчин ашиглан салгаж болно.

1.2. Эсийн өсгөвөрт вирус ялгах

АТӨВ-ийг үхэр, хонь эсхүл ямааны гаралтай эдийн өсгөвөрт өсгөвөрлөнө. Үхрийн бөөрний эс (MDBK) вирусийн ургалтыг сайн идэвхжүүлдгээс гадна шинж чанар нь сайтар судлагдсан тул ихэвчлэн энэ эсийг хэрэглэдэг (Fay нар, 2020). Хурганы төмсөг (LT) зэрэг анхдагч эс мөн адил вирусийн ургалтыг дэмждэг боловч үхрийн диарей өвчний вирус гэх мэт вирусийн бохирдолгүй байхад анхаарах шаардлага гардаг. Дээд тунгалаг шингэн хэсэг эсхүл цагаан эсийн хөвмөлөөс 1 мл-ийг авч эсийн өсгөврийн 25 см^2 эзлэхүүнтэй колбод ургасан дан үе эсэд тарьж, 37°C-д 1 цаг тавьж шингээнэ. Дараа нь өсгөврийг бүлээн ФБУ-аар угааж, GMEM зэрэг антибиотик, үнээний хээлийн 2%-ийн ийлдэс агуулсан 10 мл тохирох тэжээлт орчноор бүрхэнэ. Боломжтой бол зохих эс агуулж байгаа эдийн өсгөврийн хуруу шил, бүрхүүл шил, эсхүл эдийн өсгөврийн микроскопын тавиур шилийг мөн халдвартай зүйлээр үйчлүүлнэ.

Эс эмгэгшүүлэх нөлөө үүссэн эсэхийг нотлох зорилгоор колбо болон эд өсгөвөрлөх хуруу шилийг 7-14 хоногийн турш өдөр бүр шалгана. Халдвар авсан эсийн мембран эргэн тойрны эсээс хөндийрөх, сүүлдээ эс бөөрөнхийлөх, бөөмийн хроматин захлах зэргээр эс эмгэгшлийн онцлог шинж илэрнэ. Эс эмгэгшүүлэх нөлөө эхлээд багахан талбайд ажиглагдах ба заримдаа халдварлуулснаас хойш 2 хоноогүй байхад ч ажиглагдана. Дараагийн 4-6 хоногт эсийн дан үеийг бүхэлд нь хамарч тэлнэ. Хэрэв 14 дэх хоног хүртэл эс эмгэгшүүлэх нөлөө илрэхгүй бол өсгөврийг гурван удаа хөлдөөн гэсгээж, дээд талын тунгалаг шингэн хэсгийг дан үе эсэд шинээр халдварлуулна. Колбод эс эмгэгшүүлэх нөлөө үүссэн анхны шинж илрэх эсхүл түүнээс арай эрт халдварлуулсан бүрхүүл шил хэрэглэж байгаа бол хэд хэдэн бүрхүүл шил авч ацетонд бэхжүүлж гематоксилин-эозины (Г&Э) будгаар будна. Цитоплазмын доторх эозиноор будагдсан оршихууны бүтэц нь эсийн бөөмийн тал хэртэй янз бүрийн хэмжээтэй, тунгалаг цагаригаар хүрээлэгдсэн байвал поксвирусийн халдвар гэж оношилно. Г&Э-ны аргын оронд ПГУ-ыг онош баталгаажуулах нэг хувилбар болгон ашиглаж болно. Тэжээлт орчинд АТӨВ-ийн эсрэг өвөрмөц ийлдэс нэмж эс эмгэгшүүлэх нөлөө үүсэхээс сэргийлэх эсхүл саатуулж болно. Харин үхрийн хуурамч цэцэг өвчин үүсгэдэг херпесвирус нь бөөмд Коудригийн А хэлбэрийн оршихуун үүсгэдэг. Түүнчлэн нийлсэн эс бас үүсгэдэг байна.

Хонины төмсгийн дамжмал эс (ОА3.Т)-д каприпоксвирусийн өсгөврийг цааш ургуулж үнэлсэн (Babiuk нар, 2007) боловч энэ дамжмал эс үл гэмтээгч пестивирусээр бохирдсон болох нь тогтоогдсон тул болгоомжтой хэрэглэх хэрэгтэй.

1.3. Полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ)

Гельд суурилсан ПГУ-ын доор дурдсан энгийн арга нь ЭДТА-тай цус, үр, эсхүл эдийн өсгөврийн дээжээс каприпоксвирусийн геномыг илрүүлэх хялбар, түргэн, мэдрэмтгий арга юм (Tuppurainen нар, 2005).

1.3.1. Шинжлэх аргачлал

Доор дурдсан ДНХ ялгах аргыг худалдаанд гарсан ДНХ ялгах цомгоор орлуулж болно.

i) 200 мкл ЭДТА-тай цус, үр эсхүл эдийн өсгөврийн дээд шингэн хэсгийг хөлдөөн гэсгээсний дараа 5 М гуанидин тиоцианат, 5 mM калийн хлорид, 10 mM Трис/HCl (pH 8), 0.5 мл Твин 20 агуулсан 100 мкл задлагч буферт уусган сэргээнэ.

ii) Арьс болон бусад эдийн сорьцыг ариун, хурц хутга, хямсаа ашиглан жижиглэнэ. Уур, нухуурт хийж нухна. Эдийн дээжийг дээр дурдсан 800 мкл задлагч буферт уусган сэргээнэ.

iii) Цусны дээж дээр 2 мкл протеиназа К (20 мг/мл), эдийн дээж дээр 10 мкл протеиназа К (20 мг/мл) нэмнэ. Дулаан тогтоогуурын 56°С хэмд 2 цаг эсхүл хонуут байлгасны дараа 100°С-д 10 минут халаана. Дээж дээр фенол:хлороформ:изоамилийн спирт (25:24:1[э/э])-оос 1:1 харьцаагаар нэмнэ. Вортексоор хольж, тасалгааны хэмд 10 минут байлгасны дараа дээжийг 4°С-д 16,060 *g*-ээр 15 минут хурилдуурдана. Дээд шингэн үеийг болгоомжтой авч (200 мкл хүртэл), 2.0 мл-ийн цэвэрхэн цодонд хийнэ. 2 эзлэхүүн цэв хүйтэн этанол (100%), 1/10 эзлэхүүн 3 М натрийн ацетат (pH 5.3) нэмнэ. Дээжийг –20°С-д 1 цаг байлгасны дараа 4°С-д 16,000 *g*-ээр 15 минут дахин хурилдуурдаж, дээд шингэн хэсгийг зайлуулна. Ёроолын тунашийг цэв хүйтэн 70%-ийн этанол (100 мкл)-оор угаасны дараа 4°С-д 16,000 *g*-ээр 1 минут хурилдуурдана. Дээд шингэнийг зайлуулж ёроолын тунашийг сайтар хатаана. Тунашийг нуклеазагүй болгосон 30 мкл усанд уусгаж, тэр даруй –20°С-д хадгална (Tuppurainen нар, 2005). Энэ аргын оронд ДНХ ялгах шүүгч багана бүхий цомог хэрэглэж болно.

iv) Энэ ПГУ-ын праймерийг эсэд вирусийн бэхлэгдэх уургийг кодлодог генийн мэдээлэл ашиглан зохиосон байна. Урвалаас гарах бүтээгдэхүүний хэмжээ 192 хос суурь байна (Ireland & Binepal, 1998). Праймер нь генийн дараах дараалалтай:

Хөтлөх праймер 5'-TCC-GAG-CTC-TTT-CCT-GAT-TTT-TCT TAC-TAT-3'
Буцаах праймер 5'-TAT-GGT-ACC-TAA-ATT-ATA-TAC-GTA-AAT-AAC-3'

v) ДНХ-ийн олшруулалтыг 10 × өтгөрүүлэгтэй ПГУ-ын 10 мкл буфер, 1.5 мкл $MgCl_2$ (50 mM), 1мкл dNTP (10 mM), 1 мкл хөтлөх праймер, 1 мкл буцаах праймер, 1 мкл ДНХ-ийн темплат (~10 нг), 0.5 µl *Taq* ДНХ полимераза, 39 мкл нуклеазагүй болгосон ус агуулах 50 мкл эцсийн эзлэхүүнтэй холимог хэрэглэн явуулна.

vi) Дээжийг дулаан сэлгэгчид хийж дараах нөхцөлд шинжилнэ: 95°С-д 2 минут; дараа нь 95°С-д 45 секунд, 50°С-д 50 секунд, 72°С-д 1 минут (34 мөчлөг); 72°С-д 2 минут, сэлгэлт дуустал 4°С.

vii) 10 мкл дээж бүрийг ачаалагч будагтай хольж, TAE буфер (ЭДТА агуулсан трис/ацетат буфер) ашиглан 1.5%-ийн агароз гельд ачаална. 100 хос суурь ДНХ-ийн жиших хяналтыг зэрэгцүүлэн ачаална. Бүтээгдэхүүнийг электрофорезийн аргаар 40-60 минут, ойролцоогоор 8-10 В/см-ээр салгаж, тохирох ДНХ будгаар будаж трансиллюминаторт харна.

Тоон утгаар тодорхойлох бодит цагийн ПГУ-ын арга нь энгийн ПГУ-ын аргаас илүү хурдан бөгөөд мэдрэх чанар өндөртэй гэж мэдээлжээ (Balinsky нар, 2008; Bowden нар, 2008). АТӨВ, хонины цэцэг өвчний вирус, ямааны цэцэг өвчний вирусийг ялгаварлах бодит цагийн ПГУ-ын арга нийтлэгдсэн байна (Lamien нар, 2011).

Вакцинжуулалтын түгээмэл хэрэглэдэг Ниедлин (Neethling)-д суурилсан АТӨВ-ийн омог болон АТӨВ-ийн хээрийн төрлийн кластер 1.2 омгийг хооронд нь ялган илрүүлэх зорилгоор тоон утгаар тодорхойлох бодит цагийн ПГУ-ын шинжилгээг боловсруулжээ (Agianniotaki нар, 2017; Pestova нар, 2018; Vidanovic нар, 2016). Халдвар авсан болон вакцинжуулсан малыг ялган илрүүлэх шинжилгээ (DIVA) нь тухайлбал хээрийн гарлын кластер 1.2 вирусийн халдварын улмаас үүссэн өвчнийг АТӨВ-ийн Ниедлин вакцины омгоор вакцинжуулснаар үүссэн "Ниедлингийн хариу урвал"-аас ялгаварлан оношлох боломжтой. Гэвч халдвар авсан болон вакцинжуулсан малыг ялган илрүүлэх ПГУ-ын энэ шинжилгээгээр АТӨВ-ийн Ниедлин вакцины омгийг Азид гарсан дэгдэлтээс ялгаж авсан шинэ рекомбинант АТӨВ-ийн омгоос ялган илрүүлэх боломжгүй юм (Flannery нар, 2021). Мөн түүнчлэн халдвар авсан болон вакцинжуулсан малыг ялган илрүүлэх энэ шинжилгээ нь АТӨВ-ийн Ниедлин вакцины омог болон Өмнөд Африкаас гаралтай саяхан тодорхойлсон (түүхэн) кластер 1.1-т хамаарах хээрийн гарлын вирусийг хооронд нь ялган илрүүлэх боломжгүй байна (Van Schalkwyk нар, 2020; 2021). Иймээс рекомбинант омог (одоогийн байдлаар Азид, магадгүй өөр бусад газар) эсхүл хээрийн гарлын кластер 1.1 омог (одоогийн байдлаар Өмнөд Африкт, магадгүй өөр бусад газар) эргэлдэж байгаа бүс нутагт вакцины болон хээрийн төрлийн вирусийг хооронд нь ялгахад энэ шинжилгээний аргыг хэрэглэхэд тохиромжгүй юм. Иймд энэ бэрхшээлийг арилгахын тулд геномын бүрэн дараалыг тогтоох нь зүйтэй.

1.4. Дамжуулагч электрон микроскоп

Поксвирусийн вирионы өвөрмөц шинж тэмдгийг тодосгох будалтын аргаар будсаны дараа электрон микроскопоор харж болно. Олон янзын тодосгох будалтын арга зүй байдаг бөгөөд тэдгээрийн нэг жишээг доор оруулав.

1.4.1. Шалгах аргачлал

Хурилдуурдахын өмнө дамжуулагч электрон микроскопоор харж шинжлэх материалыг биопсийн эх цийдмэгээс бэлтгэхдээ пентиламины ууранр идэвхжүүлсэн пиолоформ-нүүрстөрөгчийн субстратаар бүрсэн зургаан өнцөгт 400 үүр бүхий электрон микроскопын торыг парафилм эсхүл ваксан хавтан дээр байрлуулсан нэг дусал цийдмэг дээр нь хөвүүлэн барина.

Нэг минутын дараа торыг нэг дусал pH 7.8-тай Трис/ЭДТА буферт шилжүүлэн 20 секунд байлгаж дараа нь нэг дусал pH 7.2-той 1%-ийн фосфорт вольфрамын хүчилд шилжүүлэн 10 секунд байлгана. Торыг шүүлтүүрийн цаас ашиглан хатааж электрон микроскоп дээр байрлуулна. Каприпоксын вирион нь гуурсанцар маягийн богино зүйлээр бүрхэгдсэн, тоосго шиг дөрвөлжиндүү хэлбэртэй, ойролцоогоор 290 x 270 нм хэмжээтэй байна. Зарим вирионыг эзэн эсээс гаралтай мембран хүрээлсэн байж болох бөгөөд вирионы хэлбэр дүрсийг баттай тогтоохын тулд аль болох олон вирионыг шалгаж үзнэ (Kitching & Smale, 1986).

Каприпоксвирусийн вирион ортопоксвирусийнхээс ялгагдахгүй боловч үхэрт бараг үл тохиолдох, тархмал халдвар үл үүсгэх үхрийн цэцэгийн вирус болон вакциниа вирусээс бусад ортопоксвирус үхэрт эмгэг үүсгэдэггүй. Гэхдээ вакциниа вирус дархлаа суларсан тугалд тархмал халдвар үүсгэж болно. Харин ортопоксвирус тэжээвэр одос үхэрт (*Bubalus bubalis*) арьсны өвчин үүсгэх нь элбэг бөгөөд ихэвчлэн дэлэн дээр цэврүүт гүвдрүү үүсэх шинж тэмдгээр илэрдэг ч мөн хярзан, бүдүүн гуя, толгой зэрэг бусад хэсгийн арьсыг гэмтээдэг одос үхрийн цэцэг өвчнийг үүсгэдэг. Электрон микроскопоор одос үхрийн цэцэг өвчин үүсгэдэг ортопоксвирусийг каприпоксвирусээс ялгах боломжгүй. Үхрийн амны гүвдрүүт үрэвсэл, үхрийн хуурамч цэцэг өвчин үүсгэдэг парапоксвирусийн вирион арай жижиг, зууван хэлбэртэй бөгөөд судалтай юм шиг харагдах тасралтгүй үргэлжлэх нэг гуурсанцраар бүрхэгдсэн байдаг. Каприпоксвирусийн вирион нь хуурамч арьс товруутах өвчин ("Аллертон" эсхүл үхрийн херпес вируст дэлэнгийн үрэвсэл гэгддэг) үүсгэдэг херпесвирусээс мөн ялгагдана.

1.5. Флюоресценц эсрэгбиеийн арга

Каприпоксвирусийн эсрэгтөрөгчийг флюоресценц эсрэгбиеийн аргаар халдварлуулсан бүрхүүл шил эсхүл эдийн өсгөврийн тавиур шил дээр илрүүлэн таньж болно. Бүрхүүл эсхүл тавиур шилийг угааж хатаасны дараа хүйтэн ацетонд 10 минут бэхжүүлнэ. Үхрийн дархлаат ийлдэс хэрэглэдэг шууд бус аргаар шинжлэхэд дэвсгэр өнгө нь гүн, өвөрмөц бус урвал ажиглагдана. Гэхдээ өвчлөөд эдгэрсэн үхрийн ийлдэс (эсхүл цэцэг өвчнөөр өвчлөөд эдгэрсэн хонь, ямааны ийлдэс) эсхүл цэвэршүүлсэн каприпоксвирусээр хэт дархлаа хийсэн туулайн ийлдэснээс коньюгат шууд бэлтгэж болно. Эсрэгбие эсийн бүрэлдэхүүн хэсэгтэй солбицох урвалд орж болзошгүй учраас (эдгээрийг дархлаат ийлдсээс урьдчилан шингээж авбал ийм асуудал гарахгүй) халдвар аваагүй эдийн өсгөврийг сөрөг хяналт болгон хэрэглэнэ.

1.6. Иммунгистохимийн арга

Зориудын халдвар хийсэн үхрийн арьсанд каприпоксвирусийн ORF 057-д өвөрмөц F80G5 ижил гарлын эсрэгбиеийг ашиглан АТӨВ-ийн эсрэгтөрөгч илрүүлэх иммунгистохимийн аргыг боловсруулсан байна (Babiuk нар, 2008).

1.7. Изотермал орчинд геном олшруулах арга

Гогцоон-холбоост изотермийн олшруулах (LAMP) аргаар каприпоксвирусийн геномыг илрүүлэх молекулын шинжилгээ нь илүү хялбар аргаар, бага өртгөөр бодит цагийн ПГУ-тай төстэй мэдрэх болон өвөрмөц чанараар каприпоксвирусийн геномыг илрүүлэх арга гэж тэмдэглэжээ (Das нар, 2012; Murray нар, 2013). Das нарын боловсруулсан LAMP аргыг цааш баталгаажуулсан талаар нийлэгдсэн байна (Omoga нар, 2016)

2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ

Каприпоксвурисийн төрлийн бүх вирус нь саармагжуулах эсрэгбие холбогдох нийтлэг эсрэгтөрөгчтэй тул ийлдэс судлалын аргаар үхэр, хонь, ямааны каприпоксвирусийн омгийг хооронд нь ялгаварлах боломжгүй юм.

2.1. Вирус саармагжуулах урвал

Шинжлэх ийлдсийг каприпоксвирусийн тогтмол таньцын (100 $TCID_{50}$ [эдийн өсгөвөрт халдварлуулах 50%-ийн тун]) эсрэг таньцлах эсхүл саармагжуулах индексийг тооцоолох зорилгоор шинжлэх ийлдэсний тогтмол шингэлэлтийн эсрэг вирусийн стандарт омгийг таньцалж болно. Каприпоксвируст эдийн өсгөврийн мэдрэх чанар янз бүр байхаас гадна хавтангийн үүрийг 100 $TCID_{50}$/үүр хэмжээг нарийн барьж олон дахин цэнэглэх нь төвөгтэй байдаг тул ихэнх лаборатори хэдийгээр их хэмжээний шинжилгээний ийлдэс шаардагдаг ч саармагжуулах индексийн аргыг хэрэглэхийг илүүд үздэг. 96 үүртэй хавтгай ёроолтой эдийн өсгөврийн зориулалтын бичил таньцын хавтан ашиглан урвал тавих аргыг энд тодорхойлов. Урвалыг эсийн өсгөврийн цодонд эзлэхүүнийг нь тохируулан өөрчлөөд мөн адил явуулж болох боловч эсийн өсгөврийн цодонд урвалын эцсийн цэгийн таньцыг тогтооход илүү төвөгтэй байдаг.

2.1.1. Шинжлэх аргачлал

i) Шинжлэх ийлдэс болон сөрөг, эерэг хяналтыг 1/5 харьцаагаар Eagle's/HEPES (N-2-гидроксиэтилпиперазин, N-2-этансульфоны хүчил) буферээр шингэлж, 56°C-д 30 минут байлгаж идэвхгүйжүүлнэ.

ii) Дараа нь бичил таньцын хавтангийн 1 ба 2-р багана, А-аас Н хүртэлх мөрөнд эхний идэвхгүйжүүлсэн ийлдэснээс 50 мкл-ыг нэмнэ. Хоёр дах ийлдсийг 3 ба 4-р баганад, гурав дах ийлдсийг 5 ба 6-р баганад, эерэг хяналтын ийлдсийг 7 ба 8-р баганад, сөрөг хяналтын ийлдсийг 9 ба 10-р баганад, 50 мкл Eagle's/HEPES-ийн буферийг 11 ба 12-р багана болон Н мөрний бүх үүрэнд тус тус нэмнэ.

iii) Нэг мл тутамд log_{10} 6 $TCID_{50}$-аас дээш таньцтай каприпоксвирусийн лавлагаа омог (ихэвчлэн эдийн өсгөвөрт сайн ургадаг вакцины омог)-ыг нэг мл тутамд log_{10} 5.0, 4.0, 3.5, 3.0, 2.5, 2.0, 1.5 $TCID_{50}$ -тай (50 мкл тутамд log_{10} 3.7, 2.7, 2.2, 1.7, 1.2, 0.7, 0.2 TCID50-тай тэнцэх) log шингэрүүлэлтийн цуврал бэлтгэхээр тооцож Eagle's/HEPES-ээр эргэдэг таглаатай шилэн бортогод шингэлнэ.

iv) G мөрнөөс эхлэн түүний үүр бүрд хамгийн их шингэрүүлэлттэй вирусийн бэлдмэлээс 50 мкл-ийг нэмнэ. Үүнийг вирусийн бэлдмэлийн шингэлэлт бүрд адилхан давтах ба хамгийн өндөр таньцтайгаар шингэлсэн вирусийн бэлдмэл А мөрөнд хийгдэнэ.

v) Хавтанг бүрхэж 37°C-д 1 цаг байлгана.

vi) Тохирох эсийн цийдмэг (MDBK эс зэрэг)-ийг антибиотик, үнээний хээлийн ийлдэс 2%-иар агуулсан Ийглийн тэжээлт орчинд 10^5 эс/мл цийдмэг болгон урьдчилан ургуулсан дан үе эсээс бэлтгэнэ. Бичил таньцын хавтанг дулаан тогтоогуурт байлгасны дараа тэжээлт орчны хяналт болгон ашиглах Н11 ба Н12 үүрнээс бусад бүх үүрэнд 100 мкл эсийн цийдмэгийг нэмнэ. Н мөрний үлдсэн үүрийг эс болон ийлдэсний хяналтаар ашиглана.

vii) Бичил таньцын хавтанг бүрхэж 37°C хэмтэй дулаан тогтоогуурт 9 хоног байлгана.

viii) Эс эмгэгшүүлэх нөлөө үүсэж байгааг нотлох зорилгоор 4 дэх өдрөөс эхлэн эсийн дан үеийг урвуу микроскопоор өдөр бүр шалгана. Н мөрний эсэд эмгэгшлийн нөлөө үүсэх ёсгүй. Каприпоксвирусийн 0240 KSGP вакцины омгийг жишиг болгон ашиглаж эцсийн уншилтыг 9 дэх өдөр хийх ба хос таньцлалт бүрийн вирусийн таньцыг Карберийн аргаар тооцоолно. Хэрэв удаан орхивол вирус эхлээд саармагжих, эсрэгбиеэс салах байдлаар эсэд гэнэтийн өөрчлөлт гарна.

ix) *Үр дүнг үнэлэх:* Саармагжуулах индекс нь сөрөг ийлдэс болон шинжилсэн ийлдэс дэх вирусийн таньц хоорондын лог таньцын зөрүү байна. ≥1.5 индексийг эерэг гэж үзнэ. Нэг малаас халдварын өмнө болон дараа нь авсан ийлдсийг шинжилбэл урвал илүү мэдрэмтгий байна. Каприпоксвирусийн эсрэг дархлаа ихэвчлэн эсээр дамжин үүсэх тул ийлдсийн шинжилгээгээр сөрөг үр дүн үзүүлэх, ялангуяа вакцинжуулалтын дараа эсрэгбиеийн хариу урвал бага байж

болох тул тухайн ийлдэс авч шинжилсэн малд дархлааны хамгаалалт байхгүй гэж үзэж болохгүй.

Каприпоксын эсрэгбие эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрснээс хойш 1-2 хоногт тодорхойлж болно. Эсрэгбие 7 сар хүртэл илэрсээр байна.

2.2. Энзим холбоост дархлааны урвал

Каприпоксвирусийн эсрэгбие илрүүлэх энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА) нь нийтлэг хэрэглэгддэг арга бөгөөд цомог хэлбэрээр худалдаанд гарчээ (Milovanovic нар, 2019; Samojlovic нар, 2019).

2.3. Флюоресценц эсрэгбиеийн шууд бус арга

Каприпоксвирус халдварлуулж бүрхүүл шил дээр ургуулсан эдийн өсгөвөр эсхүл микроскопын тавиур шил дээрх эдийн өсгөврийг флюоресценц эсрэгбиеийн шууд бус шинжилгээнд хэрэглэж болно. Вирус халдварлуулаагүй эдийн өсгөврийн хяналт, эерэг болон сөрөг хяналтын ийлдсийг хамт шинжилнэ. Вирус халдварлуулсан өсгөвөр болон хяналтын өсгөврийг ацетонд –20°C-д 10 минут бэхжүүлж 4°C-д хадгална. Шинжлэх ийлдсийг 1/20 эсхүл 1/40 харьцаагаар фосфатын буфержүүлсэн давсны уусмал (ФБУ)-аар шингэлэх ба эерэг дээжийг флуоресцеин изотиоцианаттай коньюгатласан хонь-эсрэг гамма-глобулинаар ялган илрүүлнэ. Халдварын дараа эсрэгбиеийн таньц 1/1000-аас илүү гарч болно. Ийлдсийг 1/50, 1/500 таньцтай байхад нь илрүүлж болно. Орф вирус (хонины шөвөг яр өвчний вирус), үхрийн амны гүвдрүүт үрэвслийн вирус болон магадгүй бусад поксвирустэй солбицох урвал үзүүлж болно.

2.4. Вестерн блотын урвал

Шинжлэх ийлдсийг каприпоксвирус эсийн задрагийн эсрэг вестерн блот хийх нь хэдийгээр өндөр өртөгтэй, хэрэглэхэд төвөгтэй ч каприпоксвирусийн бүтцийн уургийн эсрэгбиеийг илрүүлэх мэдрэмтгий бөгөөд өвөрмөц систем юм.

Эс эмгэгшүүлэх нөлөө 90% ажиглагдсан үед каприпоксвирус халдварлуулсан LT эсийг авч гурван удаа хөлдөөн гэсгээсний дараа хурилдуурдаж эсийн үлдэц хэсгийг тунаана. Дээд шингэн хэсгийг шинэ цодонд хийж уургийг SDS/PAGE (натрийн додецил сульфат/полиакриламидын гель электрофорез)-ээр салгана. pH 6.8-тай Трис (125 mM)-д уусгасан акриламид (5%), SDS (0.1%) бүхий бөөгнүүлэгч гель болон pH 8.7-той Трис (560 mM)-д уусгасан акриламид (10-12.5%), SDS (0.1%) бүхий салгагч гелийг ашиглан босоо тасалдалтай гелийн системийг Трис (250 mM), глицин (2 M), SDS (0.1%) агуулах глициний гүйлгэх буфертэй хамт хэрэглэхийг зөвлөдөг. Дээд шингэн хэсгийн дээжийг ачаалахын өмнө тохирох задлагч буферт 5 минут буцалгаж бэлтгэнэ. Эдийн өсгөврөөс гаргаж авсан эсрэгтөрөгчийг цэвэршүүлсэн вирус эсхүл рекомбинат эсрэгтөрөгчөөр орлуулах өөр хувилбар бий.

Молекул жингийн жишиг хяналтыг электрофорезд уургийн дээжтэй нэгэн зэрэг гүйлгэнэ. SDS/PAGE гельд салгасан уургийг элетрофорезын аргаар нитроцеллюлозын мембранд шилжүүлнэ. Шилжүүлсний дараа нитроцеллюлозын мембраныг фосфатын буфержүүлсэн давсны уусмал (ФБУ)-аар сайтар зайлж, ФБУ-д уусгасан 3%-ийн үхрийн ийлдэсний альбумин (ҮИА) эсхүл ФБУ-д уусгасан 5%-ийн тослогтой хуурай сүүгээр саатуулалт хийж эргэлдүүлэн зайлагч дээр 4°C-д хонуут зайлна. Үүний дараа ийлдэсний олон дээжийг зэрэгцүүлэн шинжлэх боломж бүрдүүлэх үүднээс нитроцеллюлозын мембраныг худалдаанд байгаа багажаар эсхүл гараар тууз болгон зүсээд тууз бүрийг тогтмол хэмд тус тусад нь байлгана. Нитроцеллюлозын мембраныг эргэлдүүлэн зайлагч дээр тавьж ФБУ-ыг 5 минутаар таван удаа сольж сайтар угаасны дараа саатуулагч буфер (ФБУ-д уусгасан 3%-ийн ҮИА, 0.05%-ийн Твин 20; эсхүл ФБУ-д уусгасан 5%-ийн хуурай сүү, 0.05%-ийн Твин 20)-ээр 1/50 харьцаагаар шингэлсэн тохирох ийлдсийн хамт тасалгааны температурт зайлагч дээр 1.5 цаг байлгана. Мембраныг дахин сайтар угааж, шингэлэлтийг нь таньцалж тогтоосон мал, амьтны зүйл-эсрэг иммунглобулин тунхууны-пероксидаза-коньюгаталсан иммунглобулин бүхий саатуулагч буферт байлгана. Тасалгааны хэмд үргэлжлүүлэн 1.5 цаг байлгасны дараа мембраныг угааж, диаминобензидин тетрагидрохлоридын уусмал (50 мл-т 10 мг pH 7.5-тай 50 ммТрис/HCl, 20 мкл 30%-ийн [э/э] устөрөгчийн хэт исэл) нэмнэ. Зайлагч дээр тасалгааны хэмд ойролцоогоор 3-7 минут байлган байнга ажигласны дараа дэвсгэр өнгө хэт тодрохоос өмнө нитроцеллюлозын мембраныг ФБУ-аар угааж урвалыг зогсооно. Эерэг болон сөрөг хяналтын ийлдсийг шинжилгээ бүрд хэрэглэнэ.

В. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

1. Оршил: Үндэслэл, хэрэглэх зориулалт

АТӨ-тэй тэмцэх гол хэрэгсэл бол вакцин юм. АТӨ-ий төрөл бүрийн вакциныг зохион бүтээснээс хэд хэдэн вакцин худалдаанд гарчээ (Tuppurainen нар, 2021).

АТӨВ-ийн Ниедлин омогт суурилсан сулруулсан амьд вакцин (САВ) (нэг угсааны САВ) АТӨ-ий эсрэг хүчтэй хамгаалалт үүсгэдгийг (Haegeman нар, 2021) туршилт судалгаа харуулсан учраас түүнийг зарим улс орон үйлдвэрлэлийн нөхцөлд үхрийн бүх популяциа дараалсан хэдэн жил төлөвлөгөөтэйгөөр вакцинжуулж уг өвчинтэй амжилттай тэмцэж байна (Klement нар, 2020).

Нэг угсааны омгийн вакцин тарьсан малд халуурах, тарьсан хэсэгт хариу урвал ажиглагдах, сүүний гарц түр зуур буурах, ховор тохиолдолд “Ниедлин”-гийн хариу урвал илэрнэ (Ben-Gera *нар,* 2015; Davies, 1991; Haegeman нар, 2021). Гэвч нэг угсааны омгийн вакцин хэрэглэснээс хэдхэн хоноод ихэнхдээ арилдаг ийм гаж нөлөөнөөс илүү олон дахин ашиг олно. АТӨВ-ийн сулруулсан амьд, сайн чанарын вакцины үүсгэсэн дархлаа хамгийн багадаа 18 сар үргэлжилдэг байна (Haegeman нар, 2023).

Каприпоксвирус төрөл дотроо солбицон хамгаалалт үүсгэдэг учраас хонины цэцэг өвчний вирус эсхүл ямааны цэцэг өвчний вирус агуулсан өөр угсааны омгийн САВ-ыг үхрийг АТӨ-өөс хамгаалахад туршин хэрэглэсэн байна. Хонины цэцэг өвчний вирус ашиглан хийсэн өөр угсааны омгийн вакцин дахь вирусийн тун хонинд хэрэглэдгээс ихэвчлэн өндөр байдаг. Тэдгээр вакциныг үхэрт АТӨ-ий эсрэг хэрэглэхэд хэдийгээр аюулгүй боловч үр дүн нь нэг угсааны омгийн вакцин хэрэглэхтэй харьцуулахад доогуур байсан байна (Ben-Gera нар, 2015; Zhugunissov нар, 2020). Ямааны цэцэг өвчний вирусийн омог ашиглан үхрийг АТӨ-аас хамгаалахад зориулан хийсэн өөр угсааны омгийн вакциныг хөгжүүлээд удаагүй байна. Горгенийн омог ашиглан хийсэн ийм төрлийн нэгэн вакцин туршилтын нөхцөлд нэг угсааны омгийн вакцинтай адилхан хамгаалалт үзүүлсэн байна (Gari нар, 2015). Нөгөө талаар ямааны цэцэг өвчний сулруулсан Уттаркаши омогт суурилсан ямааны цэцэг өвчний эсрэг вакцин Энэтхэг улсын үйлдвэрлэлийн нөхцөлд төдийлөн сайн үр дүн өгөөгүй нь (Naveem *нар*, 2023) ямааны цэцэг өвчний вируст суурилсан вакциныг АТӨ-ий эсрэг үхэрт хэрэглэдэг нэг угсааны омгийн вакцинтай адилхан хамгаалалт үүсгэнэ гэж батлахаасаа өмнө нэмж судалгаа хийх шаардлагатайг харуулж байна.

Үүнээс гадна АТӨ-ий идэвхгүйжүүлсэн нэг угсааны омгийн вакциныг хөгжүүлэн туршиж байгаа бөгөөд (Haegeman нар, 2023; Hamdi нар, 2020; Wolff нар, 2022) тэдгээрийг аюулгүй, үр дүнтэй гэж мэдээлжээ. Гэвч ийм вакциныг тарьснаас хойш нэг сарын дараа сэргээх вакцинжуулалт хийх шаардлагатай ба дархлаа нэг жил хүрэхгүй хугацаанд үргэлжлэх учраас 6 сар тутамд давтан вакцинжуулна.

Худалдаанд гарсан нэг ч вакцин үйлдвэрлэл дээр ХАВАЯ боломж олгодоггүй. Одоогоор боловсруулалт, туршилтын янз бүрийн шатад байгаа шинэ төрлийн вакциныг (жишээ нь вектор-вакцин, дэд нэгжийн вакцин, мРНХ вакцин) нэвтрүүлснээр цаашид энэ асуудлыг шийдвэрлэж магадгүй юм.

2. АТӨ-ий вакцины үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны тодорхойлолт

Вакцины үйлдвэрлэл, түүний дотор АТӨ-ий вакциныг үйлдвэрлэл нь судалгаа, хөгжил (С&Х)-ийн байгууламжид загвар вакциныг үйлдвэрлэж түүний чанар, аюулгүй чанар, үр нөлөөг нотлон харуулах эмнэл зүйн өмнөх судалгаанаас эхэлнэ.

Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэлийн янз бүрийн шатад тавих хамгийн наад захын шаардлагыг *Газрын амьтны өвчний оношилгоо, вакцины гарын авлагын* холбогдох бүлэгт оруулав. Эдгээр шаардлагыг вакцин үйлдвэрлэх, түүнийг хэрэглээнд гаргахад мөрдөх тухайн улсын зохицуулалтын тусгай шаардлагатай хамтатган хэрэглэнэ. Энд бид АТӨ-ий амьд болон идэвхгүйжүүлсэн вакцин үйлдвэрлэлийн хамгийн гол чухал шаардлагыг оруулав. Тавигдах бүх шаардлагыг 1.1.8. *Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэлийн зарчим,* 2.3.3 *Вакцин үйлдвэрлэлийн байгууламжийн зохион байгуулалт, удирдлагад тавих хамгийн наад захын шаардлага*, 2.3.4 *Вакцин үйлдвэрлэх, чанарыг шалгахад тавих хамгийн наад захын шаардлага* бүлэгт тус тус оруулав.

2.1. Чанарын баталгаажуулалт

Сайн чанарын бүтээгдэхүүн үйлдвэрлэхийн тулд АТӨ-ий вакцин үйлдвэрлэх байгууламжид лабораторийн зохистой дадал (ЛЗД) болон үйлдвэрлэлийн зохистой дадал (ҮЗД)-ын үзэл санаанд нийцсэн үйл ажиллагаагаа явуулах ёстой. Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны

салшгүй хэсэг болох зохих ёсны баримтаар нотлон тогтоодог чанарын эрсдэлийн удирдлага, чанарын хяналт хэрэгжүүлдэг байх хэрэгтэй. Зарим ажлыг өөр этгээдээр гүйцэтгүүлдэг бол хийлгэх ажлыг сайтар тодорхойлж, биелэлтийг бүртгэж тэмдэглэн хяналт тавьж байх хэрэгтэй.

Вакцин үйлдвэрлэх үйл явцыг (үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны тодорхойлолт) стандарт ажиллагааны заавар (САЗ)-ын багцад эсхүл вакцины цуврал бүрийг болон эцсийн бүтээгдэхүүнийг хэрхэн үйлдвэрлэхийг тодорхойлсон бусад баримт бичгээр (үүний дотор хэрэглэх анхдагч материал, үйлдвэрлэлийн үе шат, явцын хяналт, бэлэн бүтээгдэхүүний хяналт) баримтжуулна. Вакцин үйлдвэрлэх үйл явцын баримтжуулалтад тавих дэлгэрэнгүй шаардлагыг 2.3.3 дугаар бүлэгт оруулав.

Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны иж бүрэн тодорхойлолтыг загвар вакцинд зөвшөөрөл хүссэн өргөдөлд хавсаргах ба түүнийг үйлдвэрлэлийн явц болон бүтээгдэхүүнийг үнэлэх ажилд ашиглана.

2.2. Баталгаажуулах үйл явц

Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны тодорхойлолт хавсаргасан загвар вакцины албан ёсны зөвшөөрөл хүссэн өргөдлийг бүрэн эрх бүхий байгууллага тухайн орон нутгийн эрх зүйн зохицуулалтын шаардлагад нийцэж байгаа эсэхийг хянан үзэж зөвшөөрөл олгоно. Бусад үзүүлэлтүүдээс чанар, аюулгүй чанар, үр нөлөөний баримт тоон мэдээлэлд үнэлгээ хийнэ. Эдгээр үзүүлэлтийг тогтооход шаардагдах аргачлалыг хойно тодорхойлон оруулав.

Тухайн улсын тохируулагч эрх бүхий байгууллага эцсийн бүтээгдэхүүн болон цувралуудад төрийн лабораториудаар дахин шинжилгээ хийлгэж (шалгах шинжилгээ) албан ёсны эрх бүхий хяналт тавих эсхүл тухайн цувралд гуравдагч этгээдээр хараат бус чанарын хяналт хийлгэж болно.

3. АТӨ-ий загвар вакцинд тавих шаардлага, цувралын хяналт

3.1. Анхдагч материалд тавих шаардлага

АТӨ-ий эсрэг сулруулсан амьд вакцин (САВ) болон идэвхгүйжүүлсэн вакцин (ИВ)-ыг үндсэн эх омог болон ажлын эх омгийн вирус, эсийн санг хамгийн дээд хэмжээг нь тогтоосон зорчуулалтын хязгаартай, хяналттай систем ашиглан үйлдвэрлэнэ. Ийм шийдэл нь олон давтагдах зорчуулалтын улмаас эх омог болон эсийн шинж чанарт аажимдаа болзошгүй болон гарч үл болох өөрчлөлт гарахаас сэргийлэх зорилго агуулна.

3.1.1. Эх вирусийн шинж чанар

Үндсэн эх омог нь эх өсгөврөөс гаралтай нэг ижил бүтэцтэй, хэдэн удаа зорчуулсныг баримтжуулсан, хадгалах савнуудад нэгэн зэрэг хуваарилан хийгээд тогтвортой чанарыг нь хадгалж чадах (гүн хөлдөөх эсхүл хөлдөөн хатаах) нөхцөлд хадгална. Үндсэн эх омгийг (ҮЭО) эсийн өсгөвөрт өсгөвөрлөгдөхдөө хялбар эсэх, вирусийн гарц, бүс нутгийн өвчний эпидемиологид үзүүлэх ач холбогдлыг харгалзан сонгох нь илүү оновчтой. Мөн түүнчлэн тархи сархиатах дамжин халдварладаг өвчнөөр бохирдохыг багасгах арга хэмжээ авна (хэсэг В.3.5.1 *Цэвэршүүлэлтийн шалгалтыг* үзэх).

АТӨ-ий вакцин үйлдвэрлэхэд сонгон авсан эх омог тус бүрд дараах мэдээлэл дагалдуулна:

- Түүхчилсэн баримт: газар зүйн гарал үүсэл, вирус ялган авсан амьтны зүйл, ялган авсан аргачлал, эсийн өсгөвөрт аль эсхүл амьтанд зорчуулсан тухай бүх баримт
- Ялгагдах чанар: ДНХ дараалал тогтоох замаар үүсгэгчийн зүйл болон омгийг ялган тогтоосон баримт
- Цэвэршүүлэлт: бактери, мөөгөнцөр, микоплазм, бусад вирус агуулаагүй байх *(Бүлэг 1.1.9 мал эмнэлэгт хэрэглэх биологийн материалын ариун чанар, бохирдолгүйг тогтоосон шалгалт)*

- Аюулгүй чанар: (тун хэтрүүлэх, нэг удаа/давтан олгох тунгийн шалгалт, хоруу чанар эргэж сэргэсэн эсэхийг тогтоосон шалгалт) (В.3.3. *Вакцины аюулгүй чанар* хэсгийг үзэх)
- Тодорхой тунгаар (хамгаалах тун) хэрэглэхэд үзүүлсэн үр нөлөөний баримт, тоон мэдээлэл (В.3.4 *Вакцины үр нөлөө* хэсгийг үзэх)
- Тогтвортой чанарыг тогтоосон дүн

АТӨ-ий сулруулсан амьд вакцины үйлдвэрлэлд сонгосон үндсэн эх омог тус бүрийг амьтанд дахиад зорчуулахад суларсан хэвээрээ байх ёстой бөгөөд (В.3.3. *Вакцины аюулгүй чанар* хэсгийг үзэх) түүнийг зөвлөсөн замаар олгосны дараа хоруу чанартай омгоор зориуд халдварлуулахад бүрэн хамгаалж эмнэл зүйн хариу урвал хамгийн бага түвшинд үзүүлэхээс гадна хамгийн гол нь цааш дамжин халдварлахгүй байх ёстой.

Үндсэн эх омгийн вирусийн зарим хэсгийг ажлын эх омог, үйлдвэрлэлийн эх омог бэлтгэхэд зориулан бэлтгэж хадгална. Үндсэн эх омгоос бэлтгэсэн ажлын эх омгийг эсийн өсгөвөрт нэг удаа аль эсхүл дахиад (гэхдээ хязгаартай) зорчуулж болох ба вакциныг цувралаар үйлдвэрлэхэд ашиглана. Эх омгийн зорчуулалтыг ийнхүү хязгаарлах шийдэл нь үйлдвэрлэлийг нэгэн жигд, тогтвортой явуулахад тус болно.

3.1.2. Эх эсийн нөөц

АТӨ-ий вакцин үйлдвэрлэх үйл ажиллагаанд вакцины вирусийг өсгөвөрлөхөд ашиглах хамгийн цөөн болон хамгийн олон зорчуулалттайг нь тогтоосон үндсэн эх эсийн (ҮЭН) нөөц системийг ашиглах нь илүү тохиромжтой байдаг. Ердийн эд эрхтнээс бэлтгэсэн анхдагч эсийн өсгөврийг үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаанд ашиглаж болох ч түүнд дамжмал эсийн өсгөвөртэй (шинж чанарыг сайтар тогтоосон) харьцуулахад эс бэлтгэсэн амьтнаас дамжин ирэх хөндлөнгийн эмгэг төрүүлэгчийн бохирдол байх өндөр эрсдэлтэй учраас үр нөлөөтэй вакцин үйлдвэрлэх өөр хувилбар арга байгаа бол анхдагч эсийн өсгөвөр хэрэглэхгүй байх нь зүйтэй. ҮЭН үйлдвэрлэгч дараах нотолгоог ирүүлнэ:

- ҮЭН-ийн ялгагдах чанар
- үйлдвэрлэлд ашигладаг хамгийн цөөн болон хамгийн олон зорчуулалтаас сэлгэн өсгөвөрлөхөд генетикийн хувьд тогтвортой байх чанар
- ҮЭН-ийн хромосомын бүрдэл тогтвортой, дэд клони үүсгэдэггүй байх,
- үйлдвэрлэлд ашиглаж болох хамгийн өндөр зорчуулалт бүхий эс ашиглан *in-vivo in-vivo* хийсэн судалгаагаар хавдар үүсгэгч бодис эсхүл хавдар болон хувирахаар эс агуулаагүй нь тогтоогдсон,
- ҮЭН гаднын бактери, мөөгөнцөр, микоплазм, вирус агуулаагүй,
- Тархи сархиатах дамжин халдварладаг өвчин үүсгэгчээр бохирдох эрсдэлийг хамгийн бага түвшинд бууруулах арга хэмжээ хэрэгжүүлдэг (В.3.5.1 *Цэвэршүүлэлтийн шалгалт* хэсгийг үзэх).

3.2. Вакцин үйлдвэрлэх арга

3.2.1. АТӨ-ий вакцины цувралын үйлдвэрлэл

В хэсгийн эхний өгүүлбэрт дурдсанчлан вакцины цуврал үйлдвэрлэхэд шаардагдах бүх үе шатыг үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны тодорхойлолтод тодорхой бичиж баримтжуулсан байвал зохино. Эх омог агуулсан шаардагдах тооны ажлын цодонгийн агуулагдахууныг тохирох тэжээлт орчинд уусган сэргээгээд цийдмэг эсхүл дан үе эс хэлбэрээр ургаж байгаа анхдагч эсхүл дамжмал эсэд өсгөвөрлөлтийн хамгийн эрчимтэй шугаман өсөлтийн (илтгэгч) шатад нь халдварлуулахаас АТӨ-ий эсрэг САВ болон ИВ-ны үйлдвэрлэл эхэлнэ. Вирусийн өсгөвөржилт дээд хэмжээндээ хүрэх үед хэт богино авиагаар эсхүл ээлжлэн хөлдөөн гэсгээсээр эс доторх вирусийг цитоплазмаас чөлөөлнө. Дараа нь эсийн задардсыг хурилдуурдан эсийн хаягдал үлдцийг зайлуулаад дээд талын шингэнийг үлдээн тунгалагшуулна.

Жижиглэн тасалж хуваасан вирусийн цийдмэг дэх вирусийн таньцыг тогтооно. САВ-ны хувьд вирус агуулсан цийдмэгийг шингэлээд (загвар вакцины тухайд түүнийг шалган үнэлгээ өгөх үед хэрэглэсэн тунгийн хэмжээнд хүртэл; харин батлагдсан вакцины тухайд нэгэнт тогтоосон хамгаалах тунгийн хэмжээнд хүртэл) дараа нь тохирох хадгалааслагчтай хольж –80°C, эсхүл хөлдөөн хатаахад зориулан нэг бүрчлэн шошголсон лонх эсхүл уутанд савлана. Вакцины аливаа цуврал хэрэглэсэн бүх аргачлалыг бичиж тэмдэглээд хадгална.

3.2.2. АТӨ-ий идэвхгүйжүүлсэн вакцин үйлдвэрлэхэд хэрэглэх эсрэгтөрөгчийг идэвхгүй болгох

АТӨ-ий идэвхгүйжүүлсэн вакцин нь САВ-тай адилгүй бөгөөд идэвхгүйжүүлсэн эсрэгтөрөгч болон вакцинжуулалтаар үүссэн дархлааны хариу урвалыг хүчжүүлэх зорилготой хүчлүүрийг агуулна. Дор дурдсанаар вакциныг шалган үнэлгээ өгөх явцад дархлааны хамгаалалтын хариу урвал үүсгэхэд шаардагдах эсрэгтөрөгчийн хэмжээг тогтоож өгөх хэрэгтэй. Идэвхгүйжүүлэхийн өмнө 10^4 таньцтай, эсийн өсгөвөр халдварлуулах тун 50 (CCID50)/мл байсан АТӨ-ий нөөц вирусээр бэлтгэж идэвхгүйжүүлсэн вакциныг өсвөр үхэрт хэрэглээд дараа нь зориудын халдвар хийхэд эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлэн өвчлөх, цусанд вирус үжих, вирус гадагшлахаас тус тус хамгаалж дархлааны хангалттай хариу урвал үзүүлж байгааг харуулсан мэдээлэл саяхан нийтлэгдлээ (Wolf *нар,* 2022).

Идэвхгүйжүүлэлтийн явц, эсрэгтөрөгчийг хэрхэн идэвхгүйжүүлсэн түвшинд хяналт-шинжилгээ хийхийн тулд идэвхгүйжүүлэлтийн явцад тодорхой зайтайгаар сорьц авч таньцална. Идэвхгүйжүүлэх явцад нэгээр үл барам хүчин зүйл түүний эцсийн үр дүнд нөлөөлж болох учраас идэвхгүйжүүлэлтийн нөхцөл, эхний болон давтан нөлөөлсөн хугацааг дэлгэрэнгүй тэмдэглэж баримтжуулна. Идэвхгүйжүүлэлтийн кинетик урьдчилан тооцоолсон зорилтот түвшинд хүрэх ёстой бөгөөд жишээ нь APHIS (2013)-ийн зөвлөснөөр сая тун тутамд халдвартай нэг нэгж (1×10^{-6} халдварлах боломжтой нэгж/тун) үлдэнэ гэсэн тооцоолол байж болох юм. Идэвхгүйжүүлэлтийн хяналт-шинжилгээний ажлын чухал хэсэг болсон идэвхгүйжүүлэлтийг баталгаажуулах шалгалтыг вакцины цуврал бүрд хийнэ. Дээр дурдсан бүх аргачлалаас гадна идэвхгүйжүүлэлтийн аргачлалыг болон эсрэгтөрөгчийн идэвхжүүлэлтийг бүрэн хийсэн, тэр нь шаардлага хангаж байгааг нотлон харуулах шинжилгээг үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны тодорхойлолтод нэмэлтээр оруулан баримтжуулна.

3.3. Вакцины аюулгүй чанар

Албан ёсоор бүртгүүлэхээр зорьж байгаа вакцины тогтоосон тунгийн аюулгүй болохыг нотлон харуулахын тулд вакциныг хөгжүүлэх явцдаа түүний аюулгүй чанарыг вакцин хэрэглэх заалттай амьтанд шалгана (цуврал бүрийн аюулгүй чанарыг вакцин хэрэглэх заалттай амьтанд шалгах–ЦАЧАШ). Уг вакциныг хэрэглэх заалттай бүх амьтны төлөөлөлд (зүйл, нас, онцлог шинжийн ангилал [тугал, гунж, бух, үнээ]) аюулгүй чанарыг шалгана. Вакцинжуулсан болон хяналтын бүлгийн амьтныг тавлаг байдлын стандартын дагуу тохиромжтой цаг уурын нөхцөлд дасгаж, хашаа байраар ханган арчилж маллана. Өвчилсөн амьтныг зайлуулж эсхүл цөөлж, үхлүүт амьтныг унтуулах нь зохистой байдаг.

Аюулгүй чанарыг тогтоох судалгаагаар үнэлэх маш чухал үзүүлэлтэд вакцинжуулсны дараа илрэх хэсэг газрын болон тогтолцооны урвал, үүний дотор вакцин хэрэглэсэн хэсэгт үүсэх хариу урвал, халууралт, сүүний гарц бууралт, “Ниэдлин”-гийн хариу урвал үүссэн эсэх орно. Шаардлагатай бол нөхөн үржихүйд үзүүлэх нөлөөг тогтоох шаардлагатай.

САВ болон ИВ-ы аюулгүй чанарын шалгалтыг вакцины үр нөлөөг тогтоох (С.3.4 *Вакцины үр нөлөө* хэсгийг үзэх) зориудын халдвар хийхээс өмнөх вакцинжуулалт хийсний дараа илрэх хэсэг газрын болон тогтолцооны хариу урвалыг хэмжих замаар хийж болно.

Аюулгүй чанарын шалгалтын удирдамжийг Европын Эмнэлгийн бүтээгдэхүүний Агентлаг (ЕЭБА)-ийн VICH GL44: САВ болон ИВ-д зориулсан ЦАЧАШ (ЕЭБА, 2009) д оруулсан байна. АТӨ-ий САВ болон ИВ-ы аюулгүй чанарыг үнэлэхдээ:

3.3.1. САВ-ы тун хэтрүүлэх шалгалт

Вакцины хамгийн өндөр таньцыг 10 дахин ихэсгэсэн байх тооцоогоор тунг хэтрүүлэх үед үүсэх хэсэг газрын болон тогтолцооны хариу урвалыг тогтооно. Хэрэв вакцины хамгийн өндөр таньцыг заагаагүй бол вакцины хамгийн бага таньцыг 10 дахин ихэсгээд биеийн хэд хэдэн хэсэгт тарина. 10 дахин өсгөсөн тунг нэг тунгийн эзлэхүүн хүчлүүр эсхүл шингэлэгчид уусгах нь хамгийн оновчтой. Ерөнхийдөө бүлэг бүрд найман амьтан оруулна (ЕЭБА, 2009).

3.3.2. Нэг удаагийн тун, давтан тунгийн шалгалт

Энэ шалгалт нь вакциныг бүртгүүлэх зорилгоор вакцинжуулалтын ажилд хэрэглэх вакцины тунгийн аюулгүй чанарыг шалгах зорилготой. АТӨ-ий САВ-ыг жил бүр нэг тун олгодог бол ИВ-ы тухайд эхний тун дээр нэмээд сэргээх тун шаардлагатай. Энэ хоёр тун олгох хамгийн бага хугацаа 14 хоног байх нь зохистой.

Ерөнхийдөө өөрөөр заагаагүй бол бүлэг тус бүрд найман амьтан ашиглана (ЕЭБА, 2009). Вакцин хэрэглэх заалттай амьтны зүйл бүрийн шалгалтад вакцины шошго дээр хамгийн мэдрэмтгий гэж анхааруулсан үүлдэр, нас, хүйсийн амьтныг ашиглана. Ийлдсийн сөрөг урвалтай амьтан ашиглана. Бодит шалтгааны улмаас ийлдсийн сөрөг урвалтай амьтан байхгүй бол өөр үндэслэл гаргана.

3.3.3. Эргэж хоруу чанартай болоогүйг тогтоох шалгалт

Вакцинжуулсан амьтнаас вакцины вирус гадагшилж ойр хавьталд байсан амьтанд дамжин халдварлаад тэр нь эзэн амьтанд дахин дахин зорчвол сулруулсан амьд вакцины вирусийн хоруу чанар эргэж сэргэх эрсдэл угаасаа байдаг. Ийм учраас АТӨ-ий САВ эргэж хоруу чанартай болсон эсэхийг зорчуулалтын аргаар судалж тогтооно. Вакцины вирусийг (ҮЭО, эцсийн хэрэглээний вакцин биш) уг вакциныг хэрэглэх заалттай амьтны мэдрэмтгий насны бүлэгт уг халдварыг авч болох байгалийн замаар эсхүл халдварлаж болох хамгийн их магадлалтай замаар халдварлуулна. Улмаар вакцины вирусийг эд эрхтэн эсхүл ялгадаснаас сэргээн ялгаж дараагийн бүлэг амьтанд шууд халдвар хийхэд ашиглана. Дөрвөөс доошгүй удаа зорчуулсны дараа (1.1.8 дугаар хэсгийг үзэх) өөрөөр хэлбэл нийт таван бүлэг амьтан ашиглах ба дахин ялган авсан вирусийн шинж чанарыг үндсэн эх омгийн шинж чанарыг тогтооход хэрэглэсэнтэй ижилхэн аргачлалаар бүрэн тогтоох ёстой.

3.3.4. Хүрээлэн буй орчинд нөлөөлөх байдал

АТӨ-ий САВ биеэс гадагшлах, тархах, вакцин хэрэглэх заалттай болон үл хэрэглэх амьтанд халдварлах, хүрээлэн буй орчинд орогнох боломжтой эсэхийг шалгаж хүрээлэн буй орчинд нөлөөлөх байдлыг тогтооно.

3.4. Вакцины үр нөлөө

Загвар вакциныг бүртгүүлэх өргөдөлд хавсаргасан баримт, тоон мэдээлэлд бүтээгдэхүүний шошгоны зөвлөмжид заасан вакцинжуулалтын бүдүүвч бүрээр хэрэглэхэд амьтны зүйл тус бүрд вакцины үзүүлсэн үр нөлөө харагдана. Үүнд дархлааны хамгаалалт эхлэх болон үргэлжлэх хугацааг тогтоосноо албан ёсоор эцэслэн мэдэгдэхдээ дархлааны хамгаалалт хэзээ эхлэхтэй холбоотой судалгааны дүнг оруулна. Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны тодорхойлолтод тусгасан ёсоор үр нөлөөний судалгааг вакцин үйлдвэрлэхэд зөвшөөрсөн хамгийн олон тооны зорчуулалт хэрэглэн үйлдвэрлэсэн загвар вакцинд хийх хэрэгтэй.

Уг вакциныг хэрэглэхээр төлөвлөж байгаа, ийлдсийн сөрөг урвалтай, вирусийн нийтлэг эмгэг төрүүлэгч агуулаагүй нь шинжилгээгээр тогтоогдсон, эрүүл амьтны төлөөллийг (зүйл, нас, ангилал) авч вакцинжуулсны дараа зориудын халдвар хийж вакцины үр нөлөөг (болон аюулгүй чанарыг) нотлон харуулах шаардлагатай.

Вакцинжуулсны дараа зориудын халдвар хийж шалгах жишээг энд оруулав. Дурдсан бүлгийн тоог хэрэв үндэслэлээ зөв гэж үзвэл өөрчилж болно. Том амьтны өндөр хамгаалалт бүхий тусгаарлах байранд арван гурван үхэр оруулж хоёр бүлэгт хуваана:

- дан/давтах тунг шалгах бүлэг (*n*=8) – вакциныг бүртгүүлэх зорилгоор вакцины заасан тун, замаар олголно (АТӨ-ий эсрэг ИВ-ны тухайд эхний вакцинжуулалтаас хойш 14

хоногийн дараа сэргээх тун).

- Хяналтын бүлэг (*n*=5) – вакцинжуулаагүй амьтан

in-vivo туршилтын хугацаанд бүх амьтанд эмнэл зүйн нарийвчилсан үзлэг хийж биеийн халууныг шулуун гэдсээр хэмжиж тэмдэглэнэ. Цус, ийлдэс, арчдасны сорьц тогтмол авч лабораторид шинжлүүлнэ. CAB-аар вакцинжуулснаас хойш эсхүл ИВ бол сэргээх тун олгосноос хойш 21 хоногийн дараа хоёр бүлгийн амьтанд АТӨ-ий хоруу чанартай нь тодорхой тогтоогдсон вирусийг зориуд халдварлуулна. Халдварлуулсан вирусийн уусмалын таньц тодорхой байх, гаднын вирус агуулаагүйг шинжилж тогтоосон байх шаардлагатай. Амьтанд хийсэн өмнөх туршилтуудаас хуримтлуулсан туршлагаас үзвэл халдварлуулах вирусийн тун $10^{4.0}$ болон $10^{6.5}$ TCID50-ийн хооронд байвал туршилтад ашигласан мэдрэмтгий үхрийн хагас орчимд эмнэл зүйн шинжээр өвчин илэрч байв (Tuppurainen *нар*, 2021).

Зориудын халдвар хийснээс хойш 14 хоногийн дотор эмнэл зүйн хариу урвал илэрнэ. Вакцинжуулсан амьтанд халдвар хийсэн хэсэг газарт илрэх урвалаас өөр эмнэл зүйн шинж тэмдэг илрэхгүй байх ёстой. Вакцинжуулаагүй хяналтын бүлгийн наад зах нь нэг амьтанд АТӨ-ий эмнэл зүйн шинж тэмдэг илрэх ёстой. АТӨВ-ийн халдварын үед шинж тэмдэг илрэхгүйгээс эхлээд хүндээр илэрдэг учраас хэдийгээр вакцинжуулаагүй хяналтын амьтан бүрд арьсны түгмэл товруу илрэхгүй байж магадгүй ч наад зах нь хэсэг газрын урвал илэрнэ.

АТӨ-ий загвар вакцины аюулгүй чанар, үр нөлөө болон үүсгэх дархлааны хариу урвалыг эмнэл зүйн болон лабораторийн шинжилгээгээр тогтооно. Туршилтын хугацааны янз бүрийн цаг үед ийлдэсний сорьц авч түүнд вакциныг бохирдуулж болзошгүй гэж үзсэн вируст өвчний үүсгэгчийн эсрэгбиеийн хариу урвал илрэх, өөрчлөгдөх эсэхийг судлах замаар тэдгээр өвчний халдвар байгаа эсэхийг шалгадаг байна.

3.5. Вакцины цувралыг хэрэглээнд нийлүүлэхийн өмнөх шалгалт

ҮЭО-ийн чанар болон загвар вакцины аюулгүй чанар, үр нөлөөг АТӨ-ий шинэ вакциныг үнэлэх үйл ажиллагааны явцад шалгана. Вакциныг үйлдвэрлэлийн нөхцөлд хэрэглэх зөвшөөрөл олгосны дараа цаашид үйлдвэрлэх вакцины цуврал бүрт хийх чанарын баталгаажуулалт чухал хэвээрээ байх болно. Цувралын чанарын хяналтыг хараат бус үнэлгээгээр эсхүл тухайн улсын болон олон улсын зохицуулалтын эрх бүхий байгууллагын шаардлагаар хийлгэж болно.

3.5.1. Цэвэршилтийн шалгалт

Вакцин болон холбогдох шингэлэгч/хүчлүүрт янз бүрийн бохирдуулагч (бактери, мөөгөнцөр, микоплазм, бусад вирус; 1.1.9 дүгээр бүлэгт бүх дэлгэрэнгүй мэдээллийг үзэх) байхгүй байхыг цэвэр гэж үзнэ. Вирус ялган авах, бактери өсгөвөрлөх шалгалтын аргыг үржих чадвартай бичил биетэн байхгүй болохыг харуулахад ашиглаж болох ба харин молекул шинжилгээний арга түргэн, мэдрэмтгий боловч геномын үелбэр, үржих чадваргүй болсон бичил биетэн эерэг дүн үзүүлж болзошгүй.

Дээр дурдсан бохирдуулагчаас гадна үйлдвэрлэгч амьтны гаралтай дараах орцод TSE-ийн бохирдол байх эрсдэлийг хамгийн доод түвшинд байлгах арга хэмжээ хэрэгжүүлдгээ нотлон харуулна:

- үйлдвэрлэлийн байгууламж дахь амьтны гаралтай аливаа орц үхрийн тархи сархиатах өвчний байж болох хамгийн бага эрсдэлтэй гэж хүлээн зөвшөөрөгдсөн улсаас ирсэн,
- хэрэглэж байгаа эд эсхүл бусад зүйл бүгдээрээ TSE үүсгэгч агуулах эрсдэл бага эсхүл тэг гэдэг нь хүлээн зөвшөөрөгдсөн

3.5.2. Ялгагдах чанарын шалгалт

ҮЭО-ийн ялгагдах чанарын шалгалтаас гадна үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны тодорхойлолтод заасны дагуу вакцинд каприпоксвирусийн сонгосон зүйл болон омог дангаараа байгаа бөгөөд каприпокс төрөлд хамаарах омог болон үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны явцад тохиолдож болох бусад вирусийн бохирдол байхгүй болохыг нотлон харуулах зорилгоор эцсийн бүтээгдэхүүний цувралын ялгагдах чанарын шалгалт хийнэ. Ялгагдах чанарын шалгалтыг шинжилгээний баталгаатай арга

(жишээ нь ПГУ, дараалал тогтоох Сенгерийн арга, дараалал тогтоох шинэ үеийн арга) хэрэглэн гүйцэтгэнэ.

3.5.3. Дархлаа төрүүлэх идэвхийн шалгалт

Дархлаа төрүүлэх идэвхийг шалгахад шаардагдах стандартыг Европын фармакопейн Холбооны зохицуулалтын кодексын 113 хэсэг, 9 дүгээр хэсэг болон энэхүү *Газрын амьтны өвчний оношилгоо, вакцины гарын авлагаас* лавлаж болно.

3.5.3.1. Амьд вакцин

АТӨ-ий САВ-ы дархлаа төрүүлэх идэвхийг вирус таньцлах аргаар тодорхойлж болно. Журамласан ёсоор вирусийн таньц нь үр нөлөөний шалгалтаар тогтоогдсон загвар вакцины хамгаалах идэвхээс илт илүү байх ёстой. Ийм байвал таньц нь хүчинтэй хугацаа дуустал ямар ч үед наад зах нь өмнө тогтоосон хамгаалах таньцтай тэнцүү байх болно. Одоо худалдаанд гарсан АТӨ-ий нэг угсааны омгийн вакцины таньц нь нэг тунд 103-104 халдварлах чадвартай нэгж байна (Tuppurainen *нар*, 2021).

3.5.3.2. АТӨ-ий идэвхгүйжүүлсэн вакцин

АТӨ-ий идэвхгүйжүүлсэн вакцины дархлаа төрүүлэх идэвхийг эзэн амьтанд вакцинжуулалтын дараа зориудын халдвар хийж үр нөлөөг судалж тогтооно (B.3.4. *Вакцины үр нөлөө* хэсгийг үзэх)

3.5.4. Аюулгүй чанар/үр нөлөө

Загвар вакцины үнэлгээний явцад аюулгүй чанарын болон үр нөлөөний шалгалт хийдэг бөгөөд тэдгээрийг олон улсын болон тухайн улсын хууль журамд нийцүүлэн дахин найдвартай үр дүн гартал вакцины хэд хэдэн цувралд шалгана. Улмаар үйлдвэрлэлийн зохистой дадлыг ягштал хэрэгжүүлэхийн хамт эх омгийн бэлдцийг хэрэглэж байгаа үед дархлаа төрүүлэх идэвхийн шалгалтаар таньцыг тогтоосон бол тухайн орон нутгийн зохицуулалтаас хамааруулан VICH50 ба VICH55-д тодорхойлсон ЦАЧАШ-ыг хийхгүй байж болно. Хэрэв вакцинжуулсны дараах хэсэг газрын болон тогтолцооны урвал нь загвар вакциныг бүртгүүлэх өргөдөлд болон бүтээгдэхүүний танилцуулгад тодорхойлсонтой нийцэж байвал тухайн цувралыг шаардлага хангана гэж үзнэ.

3.5.4.1. Үйлдвэрлэлд хэрэглэхэд аюулгүй чанар, үр нөлөөний шалгалт

Вакциныг ердийн хэрэглээнд гаргахын өмнө түүнийг хэрэглэх зааллтай бүх ангиллын мал амьтныг хамруулан хоёр ба түүнээс дээш цувралын вакциныг үйлдвэрлэлийн нөхцөлд хэрэглэж шалгана (1.1.8 дугаар бүлгийг үзэх). Энэ судалгааны зорилго нь мал амьтныг маллаж байгаа үйлдвэрлэлийн жирийн нөхцөлд болон бүтээгдэхүүний үйлчлэлд нөлөөлж болох элдэв хүчин зүйл бүхий газар зүйн янз бүрийн байршилд хэрэглэхэд вакцины аюулгүй чанар болон үр нөлөө ямар болохыг нотлон харуулах явдал юм. Ажиглалт судалгааны болон бүртгэл боловсруулалтын ямар аргачлал хэрэглэхээ тодорхой тогтсоны дараа үйлдвэрлэлийн нөхцөлд вакцины аюулгүй чанар/үр нөлөөг шалгах зааврыг боловсруулна. Гэвч үйлдвэрлэлийн нөхцөлд үр нөлөөг тогтоон харуулах статистик үнэмшил бүхий баримт тоон мэдээлэл олж авах ерөнхийдөө нэлээд хүндрэлтэй. Үйлдвэрлэлийн үр нөлөөний судалгааны удирдамжийг нягт нямбай төлөвлөсөн ч гадаад орчны нөлөөллөөс шалтгаалан уг судалгаанаас дүгнэлт гаргах боломжгүй болдог.

3.5.4.2. Дархлаа үргэлжлэх хугацаа

Вакцинжуулалтын дараа үргэлжлэх дархлааг зориудын халдвар хийж эсхүл ийлдэс судлалын баталгаажсан шинжилгээгээр нотлон харуулна. Хамгаалалт үргэлжлэх тодорхой тогтоосон хугацааны төгсгөлд хийх үр нөлөөний шалгалтыг уг вакциныг хэрэглэх зааллтай амьтны зүйл тус бүрд хийх эсхүл үйлдвэрлэгч ямар зүйлийн амьтанд дархлааны үргэлжлэх хугацааг тодорхойлоогүй болохыг зааж өгнө. Үүний адилаар зөвлөж багаа сэргээх тунгийн үр дүнгийн талаар үйлдвэрлэгч эдгээр удирдамжийн дагуу ихэвчлэн ийлдэсний хариу урвалын түвшин, кинетикийг хэмжих замаар нотлон харуулна.

4. Хэрэглээнд гаргасны дараа вакцинд хийх судалгаа

4.1. Тогтвортой чанар

Тогтвортой чанарын шалгалтыг Европын холбооны 2019/6 хуулийн II дугаар хавсралтад болон Ph. Eur. 0062: Бүрэн хэмжээний үйлдвэрлэлийг харуулж чадах гурваас доошгүй төлөөллийн мал эмнэлэгт хэрэглэх цуврал вакцин хэсэгт тус тус заасны дагуу хийнэ. Тогтоосон хүчинтэй хугацааны төгсгөлд ариун чанарыг ариун чанарын шалгалтаар эсхүл савны битүүмжлэлийн найдвартай байдлаар дахин үнэлж тогтооно. Вакцины тогтвортой байдлыг тогтоох дахин таньцлалтыг олон удаагийн цуврал вакцинд вакцины хүчинтэй хугацааны турш үе үе хийж байна.

4.2. Зах зээлд гаргасны дараах тандалт

Хэрэглээнд нийлүүлсний дараа вакцины үйлчлэл үйлдвэрлэлийн нөхцөлд ямар байгаад хийх хяналт-шинжилгээг эрх бүхий, чадамжтай байгууллага болон үйлдвэрлэгч өөрөө үргэлжлүүлэн явуулах хэрэгтэй. Загвар вакцины аюулгүй чанар, үр нөлөөг үнэлэх эмнэл зүйн туршилтад хязгаарлагдмал тооны амьтан ашигладаг учраас вакцинаас учирч болох гаж нөлөө бүрэн тогтоогдохгүй байж болох юм. Нийлүүлэлтийн дараах тандалт судалгаа нь вакциныг аж ахуйн ердийн нөхцөлд хэрэглэхэд түүний үр нөлөө хэрхэн илэрч байгаа мэдээ баримт болж өгнө. Жишээ нь ийм судалгаа вакцины үүсгэх дархлааны үргэлжлэх хугацааг тодруулж хүрээлэх орчинд үзүүлэх хорон чанарын мэдээлэл болно.

Юуны өмнө хэрэглэгчийн санал хүсэлт болон илэрсэн гаж нөлөөг мэдээлэх тогтолцоо хэрэгждэг байх хэрэгтэй. Хоёрдугаарт вакциныг зах зээлд нийлүүлсний дараа хэрэглэгчдийн мэдээлсэн ажиглалт баримт нь уг бүтээгдэхүүнийг үнэхээр хэрэглэсэнтэй холбоотой эсэхийг шинжлэн судалж вакцин хэрэглэснээс шалтгаалсан байж болох, түүний цаашдын хэрэглээнд нөлөөлж болзошгүй аливаа ноцтой асуудлыг аль болохоор эрт олж тогтоох зорилготой нийлүүлэлтийн дараах тандалт судалгааг бий болгох нь зүйтэй. АТӨ-ий вакцин, тэр дундаа амьд вакцинтай холбоотой аливаа зохицуулалтын ажлын салшгүй хэсэг нь болж өгөх вакцинд тавих хяналтыг байнга хийдэг байх ёстой.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

AGIANNIOTAKI E.I., CHAINTOUTIS S.C., HAEGEMAN A., TASIOUDI K.E., DE LEEUW I., KATSOULOS P.D., SACHPATZIDIS A., DE CLERCQ K., ALEXANDROPOULOS T., POLIZOPOULOU Z.S., CHONDROKOUKI E.D. & DOVAS C.I. (2017). Development and validation of a TaqMan probe-based real-time PCR method for the differentiation of wild type lumpy skin disease virus from vaccine virus strains. *J. Virol. Methods*, 249, 48–57.

BABIUK S., BOWDEN T.R., PARKYN G., DALMAN B., MANNING L., NEUFELD J., EMBURY-HYATT C., COPPS J. & BOYLE D.B. (2008). Quantification of lumpy skin disease virus following experimental infection in cattle. *Transbound. Emerg. Dis.*, 55, 299–307.

BABIUK S., PARKYN G., COPPS J., LARENCE J.E., SABARA M.I., BOWDEN T.R., BOYLE D.B. & KITCHING R.P. (2007). Evaluation of an ovine testis cell line (OA3.Ts) for propagation of capripoxvirus isolates and development of an immunostaining technique for viral plaque visualization. *J. Vet. Diagn.Invest.*, 19, 486–491.

BALINSKY C.A, DELHON G, SMOLIGA G, PRARAT M, FRENCH R.A, GEARY S.J, ROCK D.L & RODRIGUEZ L.L. (2008). Rapid preclinical detection of sheep pox virus by a real-time PCR assay. *J. Clin. Microbiol*., 46, 438–442.

BEN-GERA J., KLEMENT E., KHINICH E, STRAM Y. & SHPIGEL N. (2015). Comparison of the efficacy of Neethling lumpy skin disease virus and x10RM65 sheep-pox live attenuated vaccines for the prevention of lumpy skin disease – The results of a randomized controlled field study. *Vaccine*, 33, 4837–4842.

BISWAS S., NOYCE R.S., BABIUK L.A., LUNG O., BULACH D. M., BOWDEN T.R., BOYLE D. B., BABIUK S. & EVANS D.H. (2020). Extended sequencing of vaccine and wild-type capripoxvirus isolates provides insights into genes modulating virulence and host range. *Transbound. Emerg. Dis.*, 67, 80–97.

BOWDEN, T.R, BABIUK S.L, PARKYN G.R., COPPS J.S. & BOYLE D.B. (2008). Capripoxvirus tissue tropism and shedding: A quantitative study in experimentally infected sheep and goats. *Virology*, 371, 380–393.

BRENNER J., HAIMOVITZ M., ORON E., STRAM Y., FRIDGUT O., BUMBAROV V., KUZNETZOVA L., OVED Z., WASERMAN A., GARAZZI S., PERL S., LAHAV D., EDERY N. & YADIN H. (2006). Lumpy skin sease (LSD) in a large dairy herd in Israel. *Isr. J. Vet. Med*., 61, 73–77.

BURDIN M.L. (1959). The use of histopathological examination of skin material for the diagnosis of lumpy skin disease in Kenya. *Bull. Epizoot. Dis. Afr*., 7, 27–36.

CARN V.M. & KITCHING, R.P. (1995). The clinical response of cattle following infection with lumpy skin disease (Neethling) virus. *Arch. Virol.*, 140, 503–513.

COETZER J.A.W. (2004). Lumpy skin disease. *In:* Infectious Diseases of Livestock, Second Edition Coetzer J.A.W. & Justin R.C., eds. Oxford University Press, Cape Town, South Africa, 1268–1276.

DAO T.D., TRAN L.H., NGUYEN H.D., HOANG T.T., NGUYEN G.H., TRAN K.V.D., NGUYEN H.X., VAN DONG H., BUI A.N. & BUI V.N. (2022). Characterization of Lumpy skin disease virus isolated from a giraffe in Vietnam. *Transbound. Emerg. Dis*., 69(5):e3268-e3272. doi: 10.1111/tbed.14583. Epub 2022 May 10. PMID: 35502589

DAS A., BABIUK S. & MCINTOSH M.T. (2012). Development of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of capripoxviruses. *J. Clin. Microbiol.,* 50, 1613–1620.

DAVIES F.G. (1991). Lumpy Skin Disease, a Capripox Virus Infection of Cattle in Africa. FAO, Rome, Italy.

DAVIES F.G., KRAUSS H., LUND L.J. & TAYLOR M. (1971). The laboratory diagnosis of lumpy skin disease. *Res. Vet. Sci*., 12, 123–127.

FAY P.C., COOK C.G., WIJESIRIWARDANA N., TORE G., COMTET L., CARPENTIER A., SHIH B., FREIMANIS G., HAGA I.R. & BEARD P.M. (2020). Madin-Darby bovine kidney (MDBK) cells are a suitable cell line for the propagation and study of the bovine poxvirus lumpy skin disease virus. *J. Virol. Methods*, 285, 113943. doi: 10.1016/j.jviromet.2020.113943.

FLANNERY J., SHIH B., HAGA I.R., ASHBY M., CORLA A., KING S., FREIMANIS G., POLO N., TSE A.C., BRACKMAN C.J., CHAN J., PUN P., FERGUSON A.D., LAW A., LYCETT S., BATTEN C. & BEARd P.M. (2021). A novel strain of lumpy skin disease virus causes clinical disease in cattle in Hong Kong. *Transbound. Emerg. Dis*., doi: 10.1111/tbed.14304

GARI G., ABIE G., GIZAW D., WUBETE A., KIDANE M., ASGEDOM H., BAYISSA B., AYELET G., OURA C.A.L., ROGER F. & TUPPURAINEN E.S.M. (2015). Evaluation of the safety, immunogenicity and efficacy of three capripoxvirus vaccine strains against lumpy skin disease virus. *Vaccine*, 33, 3256–3261. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.01.035.

HAIG D. (1957). Lumpy skin disease. *Bull. Epizoot. Dis. Afr.*, 5, 421–430.

HEDGER R.S. & HAMBLIN C. (1983). Neutralising antibodies to lumpy skin disease virus in African wildlife. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.,* 6, 209–213. doi: 10.1016/0147-9571(83)90012-7. PMID: 6627909 DOI: 10.1016/0147- 9571(83)90012-7

HAEGEMAN A., DE LEEUW I., MOSTIN L., VAN CAMPE W., AERTS L., VENTER E., TUPPURAINEN E., SAEGERMAN C. & K. DE CLERCQ (2021). Comparative Evaluation of Lumpy Skin Disease Virus-Based Live Attenuated Vaccines. *Vaccines*, 9, 473. https://doi.org/10.3390/vaccines9050473

HAEGEMAN A., DE LEEUW I., MOSTIN L., VAN CAMPE W., PHILIPS W., ELHARRAK M., DE REGGE N. & DE CLERCQ K. (2023). Duration of immunity induced after vaccination of cattle with a live attenuated or inactivated Lumpy skin disease virus vaccine. *Microorganisms*, 11, 210. https://doi.org/10.3390/microorganisms11010210

HAMDI J., BOUMART Z., DAOUAM S., EL ARKAM A., BAMOUH Z., JAZOULI M., OMARI TADLAOUI K., FASSI FIHRI O., GAVRILOV B. & EL HARRAK M. (2020). Development and Evaluation of an Inactivated Lumpy Skin Disease Vaccine for Cattle. *Vet. Microbiol*., 245, 108689. doi: 10.1016/j.vetmic.2020.108689.

IRELAND D.C. & BINEPAL Y.S. (1998). Improved detection of capripoxvirus in biopsy samples by PCR. *J. Virol. Methods*, 74, 1–7.

IRONS P.C., TUPPURAINEN E.S.M. & VENTER E.H. (2005). Excretion of lumpy skin disease virus in bull semen. *Theriogenology*, 63, 1290–1297.

KARA P.D., AFONSO C.L., WALLACE D.B., KUTISH G.F., ABOLNIK C., LU Z., VREEDE F.T., TALJAARD L.C., ZSAK A., VILJOEN G.J. & ROCK D.L. (2003). Comparative sequence analysis of the South African vaccine strain and two virulent field isolates of Lumpy skin disease virus. *Arch. Virol*., 148, 1335–1356.

KITCHING R.P. & SMALE C. (1986). Comparison of the external dimensions of capripoxvirus isolates. *Res. Vet. Sci*., 41, 425–427.

KLEMENT E., BROGLIA A., ANTONIOU S.-E., TSIAMADIS V., E. PLEVRAKI, PETROVIĆ T., POLAČEK V., DEBELJAK Z., MITEVA A., ALEXANDROV T., MAROJEVIC D., PITE L., KONDRATENKO V., ATANASOV Z., GUBBINS S., STEGEMAN A. & CORTIÑAS ABRAHANTES J. (2020). Neethling vaccine proved highly effective in controlling lumpy skin disease epidemics in the Balkans. *Prev. Vet. Med.,* 181, 104595 https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.12.001

KUMAR R., GODARA B., CHANDER Y., KACHHAWA J.P., DEDAR R.K., VERMA A., RIYESH T., PAL Y., BARUA S., TRIPATHI B.N. & KUMAR N. (2023). Evidence of lumpy skin disease virus infection in camels. *Acta Trop*., 242, 106922. doi: 10.1016/j.actatropica.2023.106922. Epub 2023 Apr 7. PMID: 37031926

LAMIEN C.E., LELENTA M., GOGER W., SILBER R., TUPPURAINEN E., MATIJEVIC M., LUCKINS A.G. & DIALLO A. (2011). Real time PCR method for simultaneous detection, quantitation and differentiation of capripoxviruses *J. Virol. Methods*, 171, 134–140.

MILOVANOVIC M., DIETZE K., MILICEVIC V., RADOJICIC S., VALCIC M., MORITZ T. & HOFFMANN B. (2019). Humoral immune response to repeated lumpy skin disease virus vaccination and performance of serological tests. *BMC Vet. Res*., 15, 80. doi: 10.1186/s12917-019-1831-y.

MURRAY L., EDWARDS L., TUPPURAINEN E.S., BACHANEK-BANKOWSKA K., OURA C.A., MIOULET V. & KING D.P. (2013). Detection of capripoxvirus DNA using a novel loop-mediated isothermal amplification assay. *BMC Vet. Res.*, 9, 90.

OMOGA D.C.A., MACHARIA M., MAGIRI E., KINYUA J., KASIITI J. & HOLTON T. (2016). Molecular based detection, validation of a LAMP assay and phylogenetic analysis of capripoxvirus in Kenya. *J. Adv. Biol. Biotech*., 7, 1–12.

PESTOVA Y., BYADOVSKAYA O., KONONOV A. & SPRYGIN A. (2018). A real time high-resolution melting PCR assay for detection and differentiation among sheep pox virus, goat pox virus, field and vaccine strains of lumpy skin disease virus. *Mol. Cell. Probes*, 41, 57–60.

PORCO A., CHEA S., SOURS S., NOU V., GROENENBERG M., AGGER C., TUM S., CHHUON V., SORN S., HONG C., DAVIS B., DAVIS S., KEN S., OLSON S.H. & FINE A.E. (2023). Case report: Lumpy skin disease in an endangered wild banteng (Bos javanicus) and initiation of a vaccination campaign in domestic livestock in Cambodia. *Front. Vet. Sci*., 10:1228505. doi: 10.3389/fvets.2023.1228505

PROZESKY L. & BARNARD B.J.H. (1982). A study of the pathology of lumpy skin disease in cattle. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 49, 167–175.

ROUBY S. & ABOULSOUDB E. (2016). Evidence of intrauterine transmission of lumpy skin disease virus. *Vet. J*., 209, 193– 195.

SAMOJLOVIC M., POLACEK V., GURJANOV V., LUPULOVIC D., LAZIC G., PETROVIĆ T., LAZIC S. (2019). Detection of antibodies against lumpy skin disease virus by virus neutralization test and ELISA methods. *Acta Vet*., 69, 47–60.

SPRYGIN A., BABIN Y., PESTOVA Y., KONONOVA S., WALLACE D.B., VAN SCHALKWYK A., BYADOVSKAYA O., DIEV V., LOZOVOY D. & KONONOV A. (2018). Analysis and insights into recombination signals in lumpy skin disease virus recovered in the field. *PLoS One*, 13, e0207480.

SPRYGIN A., VAN SCHALKWYK A., SHUMILOVA I., NESTEROV A., KONONOVA S., PRUTNIKOV P., BYADOVSKAYA O. & KONONOV A. (2020). Full-length genome characterization of a novel recombinant vaccine-like lumpy skin disease virus strain detected during the climatic winter in Russia, 2019. *Arch. Virol*., 165, 2675–2677.

TUPPURAINEN E., DIETZE K., WOLFF J., BERGMANN H., BELTRAN-ALCRUDO D., FAHRION A., LAMIEN EULOGE C., BUSCH F., SAUTER- LOUIS C., CONRATHS F.J., DE CLERCQ K., HOFFMANN B. & SASCHA K. (2021). Review: Vaccines and Vaccination against Lumpy Skin Disease. *Vaccines* (Basel). *9*, 1136. doi: 10.3390/vaccines9101136

TUPPURAINEN E.S.M., VENTER E.H. & COETZER J.A.W. (2005). The detection of lumpy skin disease virus in samples of experimentally infected cattle using different diagnostic techniques. *Onderstepoort J. Vet. Res.,* 72, 153–164.

TUPPURAINEN E.S., VENTER E.H., COETZER J.A. & BELL-SAKYI L. (2015). Lumpy skin disease: attempted propagation in tick cell lines and presence of viral DNA in field ticks collected from naturally-infected cattle. *Ticks Tick Borne Dis*., 6, 134–140.

VAN ROOYEN P.J., KOMM N.A.L., WEISS K.E. & ALEXANDER R.A. (1959). A preliminary note on the adaptation of a strain of lumpy skin disease virus to propagation in embryonated eggs. *Bull. Epizoot. Dis. Afr*., 7, 79–85.

VAN SCHALKWYK A., BYADOVSKAYA O., SHUMILOVA I., WALLACE D.B. & SPRYGIN A. (2021). Estimating evolutionary changes between highly passaged and original parental lumpy skin disease virus strains. *Transbound. Emerg. Dis*., doi: 10.1111/tbed.14326.

VAN SCHALKWYK A., KARA P., EBERSOHN K., MATHER A., ANNANDALE C.H., VENTER E.H. & WALLACE D.B. (2020). Potential link of single nucleotide polymorphisms to virulence of vaccine-associated field strains of lumpy skin disease virus in South Africa. *Transbound. Emerg. Dis*., 67, 2946–2960.

VIDANOVIC D., SEKLER M., PETROVIC T., DEBELJAK Z., VASKOVIC N., MATOVIC K. & HOFFMAN B. (2016). Real time PCR assay for the specific detection of field Balkan strain of lumpy skin disease virus. *Acta Vet. Brno*, 66, 444–454.

WANG Y., ZHAO L., YANG J., SHI M., NIE F., LIU S., WANG Z., HUANG D., WU H., LI D., LIN H. & LI Y. (2021). Analysis of vaccine-like lumpy skin disease virus from flies near the western border of China. *Transbound. Emerg. Dis*., doi: 10.1111/tbed.14159

WEISS K.E. (1968). Lumpy skin disease. *Virol. Monogr*., 3, 111–131.

WOLFF J., BEER M. & HOFFMANN B. (2022). High Efficiency of Low Dose Preparations of an Inactivated Lumpy Skin Disease Virus Vaccine Candidate. *Vaccines* (Basel), 10, 1029. doi: 10.3390/vaccines10071029.

ZHUGUNISSOV K., BULATOV Y., ORYNBAYEV M., KUTUMBETOV L., ABDURAIMOV Y., SHAYAKHMETOV Y., TARANOV D., AMANOVA Z., MAMBETALIYEV M., ABSATOVA Z., AZANBEKOVA M., KHAIRULLIN B., ZAKARYA K. & TUPPURAINEN E. (2020). Goatpox virus (G20-LKV) vaccine strain elicits a protective response in cattle against lumpy skin disease at challenge with lumpy skin disease virulent field strain in a comparative study. *Vet Microbiol*., 245, 108695. doi: 10.1016/j.vetmic.2020.108695.

*

* *

ЖИЧ: Арьс товруутах өвчнийг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлагаа лаборатори бий
(Дэлгэрэнгүй мэдээллийг ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас авна уу:
https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

Арьс товруутах өвчнийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлагаа лабораториудтай холбогдож авна уу.

ЖИЧ: 1989 ОНД АНХ, 2024 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

БҮЛЭГ 31 (3.6.1)

АДУУНЫ АФРИК МЯЛЗАН (АДУУНЫ АФРИК МЯЛЗАН ӨВЧНИЙ ВИРУСИЙН ХАЛДВАР)

А. УДИРТГАЛ

1. Өвчний тодорхойлолт, нөлөө

Sedoreoviridae овогт хамаарах давхар утаслаг РНХ агуулсан орбивирусээр үүсдэг Африк мялзан (ААМ) (*Peste equina africana, Peste equine*) нь хавьтлын замаар бус, харин үе хөлтнөөр дамжин халдварладаг өвчин юм. Энэ өвчний вируст адууны овгийн бүх амьтан мэдрэмтгий боловч голчлон адуу өвчилнө. Байгаль дээр энэ өвчний үүсгэгч вирусийг дамжуулдаг наад зах нь хоёр үе хөлтөн байдаг: *Culicoides imicola* болон *C. Bolitinos.*

ААМ өвчин Сахарын цөлөөс урагш орших Африкийн бүс нутагт энзоот тархалттай боловч өмнөд Африкт (1965, 1989–1990, 2007–2010), Ойрх Дорнодод (1959–1961), Азид (Тайланд 2020), Европт (Испани: 1966, 1987–1990; Португал: 1989) хаа нэгтээ дэгдэж байжээ (LU нар, 2020).

ААМ өвчин уушгины, зүрхний, холимог, адууны эмгэгт халуурлын гэсэн эмнэл зүйн илрэлийн дөрвөн сонгомол хэлбэртэй. Хэт цочмог явцтай уушгины хэлбэр нь маш мэдрэмтгий амьтанд тохиолдох бөгөөд богино хугацаанд, ихэвчлэн хэдхэн цаг үргэлжилдэг, хорогдлын хувь өндөр хэлбэр юм. Халдвар авсан амьтан зовуурьтай амьсгалах, толгой, хүзүүгээ сунгах, их хэмжээгээр хөлрөх шинж тэмдэг үзүүлнэ. Үхэхийн өмнө хамраас хөөсөрхөг шүүдэс ялгарна. Зүрхний хавант хэлбэр илүү цочмогдуу явцтай бөгөөд хорогдол 50 хувьд хүрнэ. Толгой, хүзүү ихээхэн хавдаж өвчүү хүрч болно. Ухархайн дээд хэсгээр хавагнах нь энэ өвчний үед илрэх сонгомол шинж тэмдэг бөгөөд нүдний салст бүрхэвч хөөж цэг маягаар цус харваж болно. Улаан хоолой саажсанаар уушгины сорогдолт үрэвсэл үүсгэх ба хэлэн доор цус харвах нь өвчний тавилан муудахын шинж юм. Цочмог явцтай холимог хэлбэр нь хамгийн нийтлэг тохиолдох ба зүрх болон уушгины хэлбэр хавсарч илэрнэ. Энэ хэлбэрийн үед хорогдлын түвшин 70%-д хүрч болно. Адууны эмгэгт халуурлын хэлбэр нь голдуу анзаарагдахгүй, өвчин хөнгөн хэлбэрээр илрэх бөгөөд дархлаа бүрэн тогтоогүй адуу, энэ өвчинд илүү тэсвэртэй илжиг зэрэг адууны овгийн зарим амьтанд, түүнчлэн зориудын халдвар хийсний дараа судалт тахьд ажиглагдана (Coetzer & Guthrie, 2005).

Амьсгалын замын цочмог хямралын хам шинж эсхүл гэнэт үхэх зэрэг эмнэл зүйн шинж тэмдгээр нохой өвчилсөн тохиолдлууд мөн тэмдэглэгдсэн байдаг. Нохойд хорогдлын түвшин өндөр бөгөөд өвчний тархалтад чухал үүрэг гүйцэтгэдэг байх магадлалтай. Өмнө нь халдвартай адууны махны хэрэглээтэй холбоотойгоор халдвар дамжин тархдаг гэж үздэг байсан ч сүүлийн үеийн нотолгоогоор халдвар дамжуулагч үе хөлтнөөр дамждаг байж болох нь харагдсан байна (O'Dell нар, 2018; van Sit- tert 2013).

Уг өвчин улирлын чанартай (зуны сүүл/намар) тохиолдохоос гадна Африкийн өмнөд хэсэгт Эль-Нино буюу далай-агаар мандлыг хамарсан цаг уурын дулаарлын тодорхой мөчлөгийн үеэр томоохон эпизоот хэлбэрээр тохиолдоно. ААМ-ийн улмаас хорогдох эсэх нь халдварт өртсөн адууны овгийн амьтны зүйл, өмнө нь тогтсон дархлааны байдал (ж. нь: вакцинжуулалтаар), вирусийн омог эсхүл ийлдсэн хэвшилээс хамаарна. Адууны овгийн амьтны зүйл дотроос ААМ өвчинд адуу хамгийн мэдрэмтгий, хорогдлын түвшин 50–95% хүрэх ба дараа нь луус орж өвчилсөн амьтны 50% хорогддог байна. Энзоот тархалттай Африкийн бүс нутагт илжиг ААМ-д маш тэсвэртэй бөгөөд халдвар авсан ч эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлэн өвчилдөггүй. Харин Европ болон Азийн улс оронд илжиг бага зэрэг мэдрэмтгий бөгөөд хорогдлын түвшин 10%-д хүрнэ. Судалт тахь уг өвчинд илэрхий тэсвэртэй, зөвхөн зориудын халдвар хийсний дараа халуурахаас бусад эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлдэггүй бөгөөд харин цусанд нь вирус удаан хугацаагаар (40 хоног хүртэл) тархах нь бий.

Эдүгээ адуу, луус, илжигт хэрэглэх сулруулсан амьд вакцин (нэг цэнтэй болон олон цэнтэй) худалдаанд гарчээ.

2. Эмгэг төрүүлэгчийн мөн чанар, ангилал

Адууны Африк мялзан өвчин нь *Sedoreoviridae* овгийн *Orbivirus* төрлийн *Orbivirus alphaequi* зүйлд хамаарах Адууны Африкийн мялзангийн вирусээр үүснэ. *Orbivirus*-ийн төрөлд хэл хөхрөх өвчин, эпизоот цусархаг халдвар өвчний вирус мөн хамаарах ба хэлбэр зүй, биохимийн шинжээрээ адилхан

мөртөө эмгэг төрүүлэх болон эсрэгтөрөгчийн шинжээрээ, түүнчлэн өвчилдөг амьтнаараа ялгагдана. Вирус саармагжуулах урвал (ВСУ)-аар ААМ өвчний эсрэгтөрөгчөөрөө ялгаатай есөн ийлдсэн хэвшлийн вирусийг ялган тогтоосон ба 1 болон 2; 3 болон 7; 5 болон 8; 6 болон 9-ийн хооронд солбицох урвал өгдөг, харин бусад тогтоогдсон орбивирусийн хооронд солбицох урвал явагддаггүй байна. Вирус 72°C-д 120 минутад идэвхгүйжнэ (Веро дамжмал эсэд гурван удаа таамгаар зорчуулалт хийж баталгаажуулсан).

Вирион нь 70 нм орчим хэмжээтэй дугтуйгүй биенцэр юм. ААМ өвчний вирусийн геном бүтцийн долоон уургийг (VP1-7) болон бүтцийн бус дөрвөн уургийг (NS1, NS2, NS3, NS3A) кодолдог давхар утаслаг РНХ-ийн арван сегментээс бүрдэнэ. VP2 ба VP5 уураг вирионы гадна капсидыг бүрдүүлэх бол VP3 болон VP7 нь дотор капсидыг бүрдүүлдэг гол уураг юм. Харин VP1, VP4, VP6 уураг нь дотор капсидын жижиг уургийг бүрдүүлнэ (Roy нар, 1994). NS3 нь ААМ өвчний вирусийн хамгийн хувирамтгай хоёрдох уураг бөгөөд хамгийн хувьсамхай нь гадаад капсидын гол уураг болох VP2 юм. Энэ VP2 уураг нь ААМ өвчний вирусийн ийлдсэн хэвшлийг тодорхойлогч уураг болохын зэрэгцээ VP5 уурагтай хамт вирус саармагжуулах идэвхийг илрүүлэхэд бай болж өгдөг.

3. Хүнд халдварлах магадлал, биоаюулгүй ажиллагаа болон биохамгааллын шаардлага

Байгалийн замаар болон зориудын халдвар авсан амьтантай харьцах аль эсхүл лабораторид энэ өвчний вирустэй харьцаж ажиллах аль ч тохиолдолд ААМ өвчний байгалийн ямар ч омгоор хүн халдварласан тухай нотолгоо байхгүй. Гэвч ААМ өвчний вакцины савлагааны цехийн дөрвөн ажилтанд вакцины омог тодорхойлогдсон ч энэ нь тухайн нөхцөлд үүссэн тархины нийтлэг тохиолддог үрэвслийн омогтой холбоотой байсан агаад ААМ өвчний вирус хүнд эмгэг төрүүлдэг гэж гэж үзэх нотолгоо байхгүй болохыг онцлон тэмдэглэх хэрэгтэй (van der Meyden нар, 1992). Биологийн эрсдэлийн дүн шинжилгээгээр тогтоосон тусгаарлалтын зохих түвшинд лабораторийн ажлыг гүйцэтгэнэ (1.1.4. Биоаюулгүй ажиллагаа ба биохамгаалал: *Мал эмнэлгийн лаборатори, туршилтын амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандарт* бүлгийг үз).

4. Ялгаварлах оношилгоо

Үнэн зөв, баталгаатай онош тогтооход лабораторийн оношилгоо зайлшгүй шаардлагатай. Хэдийгээр уг өвчнийг илтгэх эмнэл зүйн зарим өвөрмөц шинж тэмдэг, эмгэг хувирал тодорхой илэрдэг ч ААМ өвчин бусад өвчинтэй андуурагдаж болно. Жишээлбэл цочмогдуу явцтай ААМ өвчний үед адууны ухархай хавагнах нь элбэг учраас түүнийг өвчний тухайн тохиолдлын түүхтэй уялдуулан дүгнэж үзээд урьдчилсан онош тавихад хангалттай. Харин бусад шинж тэмдэг, эмгэг хувирал нь ААМ өвчинд өвөрмөц бус байх учраас адууны тархины үрэвсэл, адууны цус багасах халдварт өвчин, Хендра вирус, адууны тараагуур судасны үрэвсэлт өвчин, хачгийн халуун, цусан толбошилт, цус харвалт зэрэг бусад өвчнөөс ялгаварлан оношлох хэрэгтэй (ДМАЭМБ, 2010).

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Адууны Африкийн мялзан өвчнийг оношлох шинжилгээний арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүйг тогтоох[а]	Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох[б] [в]	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд[г]	Эмнэл зүйн тохиолдлыг батлах[д]	Халдварын тархалт тогтоох – Тандалт[е]	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох[ё]
Үүсгэгч илрүүлэн ялган тогтоох [ж]						
Бодит цагийн УТ-ПГУ	☑□□	☑☑☑	☑☑☑	☑☑☑	☑☑□	□□□
Агароз гельд суурилсан УТ-ПГУ	☑□□	☑☑□	☑☑□	☑☑□	☑□□	□□□
Вирус ялгах	□□□	☑□□	□□□	☑☑☑	□□□	□□□
Вирус ялган авах						
ЕЛИЗА (ийлдсэн хэвшил өвөрмөц VP7-д суурилсан)	☑☑☑	☑☑☑	☑☑□	☑□□	☑☑☑	☑☑□
ХХУ	☑□□	☑□□	☑□□	☑□□	☑□□	☑□□

ВСУ	☑□□	☑□□	□□□	☑□□	☑□□	☑☑☑

Түлхүүр:

☑☑☑ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
☑☑□ = энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
☑□□ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
□□□ = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй;
ЕЛИЗА = энзим холбоост дархлааны урвал;
УТ-ПГУ = урвуу транскрипцт полимеразагийн гинжин урвал;
ХХУ = хавсарга холбох урвал
(а) Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 1-р хавсралтаас үзэх
(б) Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 2-р хавсралтаас үзэх
(в) Ийлдэс судлалын шинжилгээний хувьд Газрын амьтны эрүүл мэндийн кодексын 12.1-р бүлэг: “Адууны Африкийн мялзан өвчний вирус”болон 12.1.7-р зүйл ‘ААМ өвчний халдвартай улс, бүсээс импортлоход өгөх зөвлөмж”-ийн дагуу хос дээж шаардагдана.
(г) Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 3-р хавсралтаас үзэх
(д) Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 4-р хавсралтаас үзэх
(е) Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 5-р хавсралтаас үзэх
(ё) Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 6-р хавсралтаас үзэх
(ж) эмнэл зүйн нэг ижилхэн дээжээс үүсгэгч илрүүлэх аргыг хамтруулан хэрэглэхийг зөвлөдөг.

Боломжтой бол ААМ өвчний дэгдэлтийн оношилгоог, ялангуяа өвчний эх үүсвэрийг тогтоохдоо ганцхан аргаар бус харин полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ)-аар эхэлж шинжлээд дараа нь эсийн өсгөвөрт вирус ялган авах арга хэрэглэнэ. Ийлдсэн бүлгийг өвөрмөцөөр илрүүлэх энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА)-ыг халдвар эхлэх болон арилах үед авсан ийлдэсний хос дээжний үзүүлэх урвалын өөрчлөлтийг тогтоох замаар халдварыг илрүүлдэг аргад хавсарга болгон ашиглаж болно. Ийлдсийн хэвшил ялган тогтоох вирус саармагжуулах урвал (ВСУ), хэвшил өвөрмөц УТ-ПГУ эсхүл нуклеотидийн байршлын дараалал тогтоох шинжилгээг аль болохоор өвчний дэгдэлтийн эхэн үед хийж, үүсгэгчийн ийлдсэн хэвшлийг ялган тогтоож тохирох вакциныг зөв сонгох хэрэгтэй.

Эдүгээ ААМ өвчний вирусийг ялган тогтооход зориулсан олон улсын стандарт вирусийн болон эсрэгбиеийн багц хоёул болон өвөрмөц эсрэгбие Европын холбооны ААМ өвчний лавлах лабораторид бэлэн бий. 1-9 ийлдсэн хэвшлийн лавлагааны идэвхгүйжүүлсэн вирусийг УТ-ПГУ-аар илрүүлэх аргыг хэрэглэх болон түүний анализын мэдрэх чанарыг бодит цагийн УТ-ПГУ-ын аргачлалтай харьцуулан тогтоох зорилгоор ДМАЭМБ-ын Испани улс дахь лавлах лабораториос авах боломжтой (Agüero нар, 2008). Эдгээр материал дэлхийн олон улс оронд нийлүүлэгдэж байна.

2007 оноос эхлэн Европын холбооны ААМ өвчний лавлах лабораториос жил бүр ур чадварын сорил зохион байгуулж байна. Сорилд дэлхийн дахинаа ААМ өвчинтэй албан ёсоор тэмцэж байгаа улсын лабораториуд оролцсон. Оролцогсод ААМ өвчний вирусийн эсрэгбие илрүүлэх худалдаанд гарсан, саатуулагч ЕЛИЗА-г нийтлэг ашиглахад гүйцэтгэл нь сайн байсныг урвалын үр дүн нь харуулжээ. Вирусийн геном илрүүлэхийн тухайд бодит цагийн УТ-ПГУ-ыг нийтлэг хэрэглэсэн ба төрөл бүрийн УТ-ПГУ-ыг хэрэглэхэд адилхан үр дүн гарсан байна.

Оношилгоонд гол анхаарах зүйл нь дээж сонгон авах, зөв илгээх, аюулгүй тээвэрлэн хүргэхэд оршино. Орбивирус этилен-ди-амин-тетра цууны хүчил (EDTA)-д 4°C-д нэг долоо хоног эсхүл –80°C-д удаан хугацаагаар хадгалахад амьдрах чадвараа хадгална. Эд эрхтний сорьцыг –80°C-д 48–72 цаг хөлдөөнө. Эсрэгбие илрүүлэх ийлдсийн дээжийг >1 долоо хоног хадгалах бол –20°C-д байлгана. Олон улсын агаарын тээврийн холбоо (IATA) болон Олон улс хоорондын авто замаар аюултай ачаа бараа тээвэрлэх тухай Европын хэлэлцээр (ADR)-ийн аль алиных нь дагуу ААМ өвчний вирус агуулж буй эмнэл зүйн сорьц, өсгөврийг В UN 3373 ангилалд хамруулсан байдаг (1.1.3 *Биологийн материал тээвэрлэх* бүлгийг үзэх).

1. Үүсгэгчийг ялган таних

1.1. Вирус ялган авах

Өвчтэй амьтнаас өвчний халуурах эхний шатад авсан бүлэгнүүлээгүй бүхэл цус, түүнчлэн үхсэн амьтнаас авсан дэлүү, уушги, тунгалгийн зангилааниас жижиг сорьц (2–4 г)-ыг оношилгоонд сонгон ашиглана. Сорьцыг тээвэрлэх болон боловсруулахын өмнө түр хадгалахдаа 4°C-д байлгана.

1.1.1. Эсийн өсгөвөр

ААМ өвчний вирусийг найдвартай шууд ялган авахын тулд үхэр зусгийн гөлчгийний бөөрний эс (BHK-21), сармагчны тогтвортой (MS) болон Африкийн ногоон сармагчны

бөөрний (Веро) эс, хөхтөн амьтны дамжмал эс, *Culicoides* болон цус сорогч шавжийн дамжмал эсийн өсгөврийг ашиглана. Цус үл бүлэгнүүлэгч тохирох бодис ашиглан цуглуулсан цусны сорьцыг шингэлэлгүйгээр халдвар хийхэд ашиглана. Ажлын орчны хэмд эсхүл 37°C-д 15-60 минут шингээсний дараа тэжээлт орчныг угааж тогтворжуулагч тэжээлт орчныг нэмнэ. Үүнээс гадна илүү нийтлэг арга нь цусыг угааж 1/10-аар шингэлэх арга юм. Энэ ажиллагаагаар сул вирусийг саармагжуулдаг хэрэгцээгүй эсрэгбиеийг зайлуулах, цусны улаан эсийн мембранд холбогдсон вирусийг суллахыг дэмжинэ. Дэлүү, уушги зэрэг эдийн сорьц хэрэглэж байгаа үед фосфатын буфержүүлсэн уусмалд (ФБУ) эсхүл антибиотик агуулсан эсийн тэжээлт орчинд эдийн 10%-ийн цийдмэг бэлтгэнэ.

Хөхтөн амьтны эсэд халдвар хийснээс хойш 2-10 хоногийн дараа эс эмгэгшүүлэх нөлөө (ЭЭН) илэрнэ. Дээжийг сөрөг гэж тогтоохоос өмнө гурван удаагийн таамаг зорчуулалт хийнэ. Шавжийн эсэд ЭЭН илэрдэггүй боловч вирус байвал 5-7 хоногийн дараа бодит цагийн УТ-ПГУ-аар эсийн өсгөврийн дээд талын шингэнд илрүүлж болно. Халдвар авсан шавжийн эсийн өсгөврийн дээд талын шингэнийг дараа нь хөхтөн амьтны эсэд зорчуулахад 1-2 зорчуулалтын дараа ЭЭН илэрнэ. ЭЭН илэрвэл бодит цагийн УТ-ПГУ эсхүл ВСУ-аар баталгаажуулна. Бодит цагийн УТ-ПГУ эерэг дүн үзүүлэх нь дээжид халдварлах чадвартай вирус байгааг илтгэхгүй тул урвалын үр дүнг тайлж үнэлгээ өгөхдөө анхааралтай хандах хэрэгтэй.

1.2. Нуклейн хүчлийн арга

1.2.1. Урвуу транскрипцт полимеразагийн гинжин урвал

УТ-ПГУ нь халдвар авсан амьтны цус болон бусад эдэд ААМ өвчний вирусийн нуклеин хүчлийг ялган тогтооход мэдрэх чанар өндөр шинжилгээний арга юм. Вирус амьдрах чадвараа алдсан, шавжийн аль эсхүл хөхтөн амьтны эсэд шинэ халдвар үүсгэх боломжгүй болсны дараа ч УТ-ПГУ-ын аргаар тухайн вируст өвөрмөц нуклеин хүчлийг илрүүлнэ.

ААМ өвчний вирусийн РНХ-ийн 3,7 эсхүл 8 дугаар сегментийг онилон өвөрмөцөөр илрүүлэх, гельд суурилсан УТ-ПГУ-ын хэд хэдэн аргыг боловсруулжээ (Aradaib, 2009; Bremer 1998; Viljoen, 1998; Zientara нар, 1994). Хамгийн өргөн хэрэглэгддэг арга нь РНХ-ийн 7 дугаар (VP7 уургийг кодолдог) сегментийн 5’ төгсгөлийн (1–21 нуклеотид) болон 3’ төгсгөлийн (1160–1179 нуклеотид) нуклеотидтэй холбогдох праймер ашиглан вирусийн тэрхүү сегментийг олшруулдаг арга юм (Zientara нар, 1994).

ААМ өвчний вирусийн РНХ-г маш сайн мэдэрч өвөрмөц чанарыг нь таньж илрүүлэх бодит цагийн УТ-ПГУ-ыг уг вирусийн 3,5 эсхүл 7 дугаар сегментийн нуклеотидийн тогтвортой хадгалагддаг дарааллаас гаралтай хос праймер, тэмдэглэгээт пробыг ашиглахад суурилан боловсруулсан байна (Agüero нар, 2008; Bachanek-Bankowska нар, 2014). Вирусийн геномын 7 ба 8 дугаар сегментийг (VP7 ба NS2 уургийг тус тус кодолно) онилон илрүүлэх бодит цагийн дуплекс УГ-ПГУ-ыг боловсруулжээ (Quan нар, 2010).

Хэдийгээр гельд суурилсан болон бодит цагийн УТ-ПГУ-ын аль ч аргачлалаар вирусийн есөн ийлдсэн хэвшлийн лавлагааны омгийг илрүүлэх боловч бодит цагийн УТ-ПГУ нь илүү хурдан, мэдрэмтгий, өндөр бүтээмжтэй автоматжуулсан шинжилгээнд тохирох байдлаараа агарозын гельд суурилсан УТ-ПГУ-аас давуу талтай. Гэсэн хэдий ч гельд суурилсан УТ-ПГУ нь ялангуяа РНХ-ийн урт хэрчмийг олшруулах (Zientara нар, 1994), олшруулсан бүтээгдэхүүнд дараалал тогтоох замаар вирусийн генетикийн шинж чанарыг лавшруулан судлахад маш их ач холбогдолтой. Үүнээс гадна түүнийг бодит цагийн ПГУ явуулах боломжгүй лабораторид хэрэглэхэд ач тустай.

2015 онд ДМАЭМБ-ын ААМ өвчний лавлах лаборатори ААМ өвчний вирусийн оношилгооны голлох лабораториудад хэрэглэдэг янз бүрийн аргын гүйцэтгэлийн талаар мэдээлэлтэй болох үүднээс олон улсын ур чадварын сорил зохион байгуулж, УТ-ПГУ-ын 10 өөр аргачлалд үнэлгээ өгсөн байна. Хэдийгээр энэ сорилын хүрээнд зарим шинжилгээг нэг хоёрхон лабораторид явуулах боломжтой байсан ч маш сайн үр дүн үзүүлсэн учраас эдгээр шинжилгээ цаашдын үнэлгээ, баталгаажуулалтад хэрэглэхэд тохиромжтой гэж үзжээ. Агуэро нарын (2008) болон Гатри нарын (2013) боловсруулсан УТ-ПГУ-аар олон улсын ур чадварын сорилд ашигласан янз бүрийн эх үүсвэртэй омгийг болон шинжлэхэд мэдрэх чанар өндөртэйгөөр хээрийн сорьц

дахь байгалийн омгийг зөв илрүүлсэн нь судалгаагаар тогтоогдсон байна. Эдгээр аргыг бодгаль амьтны шилжилт хөдөлгөөний өмнө эрүүл мэндийн гэрчилгээ олгоход зориулан баталгаажуулсан ба дор тодорхойлон оруулав.

Гельд суурилсан УТ-ПГУ болон бодит цагийн УТ-ПГУ аргыг дор дэлгэрэнгүй өгүүлэв.

Шинжилгээг зөв явуулахын тулд ААМ өвчний вирусийн РНХ-ийг өндөр чанартайгаар ялган авах шаардлагатай. Эмнэл зүйн дээжээс нуклеин хүчлийг ялган авахад өөрийнхөө лабораторид бэлтгэсэн болон хэрэглээнд гаргасан төрөл бүрийн бэлэн цомгийг хэрэглэнэ.

ААМ өвчний вирусийн геном давхар утаслаг РНХ-ээс бүрддэг учраас ялган авсан РНХ-г УТ-ПГУ явуулахын өмнө денатурацид оруулна.

1.2.2. Агарозын гельд суурилсан УТ-ПГУ-ын аргачлал (Zientara нар, 1994)

Үүсгэгч/ Бай ген	Праймер/проб (5’–3’)	Төвшрүүлэг	Дулаан сэлгэх мөчлөг[(a)]
Арга 1: Zientara нар, 1994; ПГУ-ын бүтээгдэхүүний хэмжээ: 1179 х.с.			
ААМӨВ хэрчим 7 (VP7)	Хөт: 5’-GTT-AAA-ATT-CGG-TTA-GGA-TG-3’ Буц: 5’-GTA-AGT-GTA-TTC-GGT-ATT-GA-3’	250 nM (праймер тус бүр)	37°C/1 цаг эсхүл 55°C/45 мин; 95°C/5–10 мин; 40 мөчлөг: 94–95°C/1 мин, 55°C/1–1.5 мин, 70–72°C/2–2.5 мин; төгсгөх уртасгалт: 70–72°C/7–8 мин

(a) Дулаан сэлгэлтийн өмнөх денатурацийн шат ороогүй

1.2.3. Бодит цагийн УТ-ПГУ-ын аргачлал

Европын Холбооны гишүүн орнуудын үндэсний лавлах лабораториудын хооронджил тутамд явуулдаг ур чадварын 2023-2024 оны сорилын үеэр энэхүү бүлэг-өвөрмөц бодит цагийн УТ-ПГУ-ыг хэрэглэхэд маш сайн үр дүн үзүүлжээ. Үүнээс гадна 2015 онд ДМАЭМБ-ын Лавлах лабораторийн сүлжээний дэмжлэгтэйгээр зохион байгуулсан олон улсын лаборатори хоорондын харьцуулсан сорилтоор эдгээр арга хоёул дээгүүр эрэмбэлэгджээ.

Дээж дэх хуурамч сөрөг үр дүн үзүүлэхэд хүргэж болох саатуулагч бодисыг илрүүлэхийн тулд ПГУ-д дотоод хяналтыг хамт хэрэглэж байхыг зөвлөдөг. VP7 болон VP7 дээр нэмэх нь β-актин аль алинд нь тохируулан оновчтой болгосон уг арга нь одоо эргэлдэж байгаа ААМ өвчний вирусийн нэгэнт тодорхой болсон бүх ийлдсэн хэвшил болон омгийг илрүүлэх чадвартай.

Үүсгэгч/ Бай ген	Праймер/проб (5’–3’)	Төвшрүүлэг	Дулаан сэлгэх мөчлөг[(a)]
Арга 1: Agüero нар, 2008			
ААМӨВ хэрчим 7 (VP7)	Хөт: 5’-CCA-GTA-GGC-CAG-ATC-AAC-AG-3’ Буц: 5’-CTA-ATG-AAA-GCG-GTG-ACC-GT-3’ Проб:5’-FAM–GCT-AGC-AGC-CTA-CCA-CTA–MGB-3’	1000 nM (праймер тус бүр) 250 nM (проб)	48°C/25 мин; 96°C/10 мин; 40 мөчлөг: 95°C/15 сек, 55°C/35 сек, 72°C/30 сек
Арга 2: Guthrie нар, 2013			
ААМӨВ хэрчим 7 (VP7)	Хөт: 5’-AGA-GCT-CTT-GTG-CTA-GCA-GCC-T-3’ Буц: 5’-GAA-CCробG-ACG-CGA-CAC-TAA-TGA -3’ П 5’-FAM–TGC-ACG-GTC-ACC-GCT–MGB-3’	200 nM (праймер тус бүр) 120 nM (проб)	48°C/10 мин; 95°C/10 мин; 40 мөчлөг: 95°C/15 сек, 60°C/45 сек

а) Дулаан сэлгэлтийн өмнөх денатурацийн шат ороогүй

i) Үр дүнг боловсруулах

Жич: лаборатори бүрд гарсан эерэг/эргэлзээтэй/сөрөг босго утгыг хэрэглэж байгаа багаж төхөөрөмж урвалж бодисоо ашиглан баталгаажуулж тохируулна.

Олшруулалтын муруй хэвийн ба босго утга (Ct) (тогтоосон босго утгыг давах үед өнгө үүсэхэд шаардагдах полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ)-ын мөчлөгийн тоо) нь ПГУ-ын 40 мөчлөгийн дотор тогтоосон босго утгын хязгаар (35)-аас бага эсхүл тэнцүү байвал (Ct≤35) шинжилгээг эерэг гэж үзнэ.

Олшруулалтын муруй хэвийн ба босго утга нь ПГУ-ын 40 мөчлөгийн дотор тогтоосон босго утгын хязгаар (35)-аас их байвал (Ct≥35) шинжилгээг хүчингүйд тооцно.

Олшруулалтын муруй хэвтээ, ПГУ-ын 40 мөчлөгийн дотор босго утгын хязгаар шугамыг даваагүй байвал уг шинжилгээг сөрөг гэж үзнэ.

1.3. ААМ вирусийн хэвшил тогтоох

Саяхныг хүртэл ВСУ нь хэвшил тогтоох, түүнчлэн хээрийн өсгөврөөс ялгасан ААМ өвчний вирусийг хэвшил өвөрмөц эсрэг ийлдэс ашиглан ялган тогтоох (Verwoerd, 1979) эн тэргүүнд хэрэглэгддэг “алтан” стандарт арга байв. Энэ шинжилгээний хариу гарах хүртлээ 5 ба түүнээс дээш хоног шаардагдана. ААМ өвчний вирусийг илрүүлэх, ялгаварлахын тулд ААМ өвчний вирусийн Seg-2-ыг онилсон хэвшил өвөрмөц, гельд суурилах УТ-ПГУ (Maan нар, 2011 Van Schalkwyk нар, 2019,) болон эрлийзжүүлсэн проб ашиглан явуулах бодит цагийн УТ-ПГУ (Koekemoer, 2008), мөн түүнчлэн тун саяхан боловсруулсан тэмдэглэгээт ДНХ проб-MGB ашигладаг бодит цагийн, хэвшил өвөрмөц УТ-ПГУ (Bachanek-Bankowska нар, 2014; Villalba нар, 2024; Weyer нар, 2015) зэрэг аргуудыг хөгжүүлснээр эдийн дээж болон цусанд ААМ өвчний вирусийн хэвшлийг түргэн тодорхойлох боломжийг бүрдүүлээд байна. ВСУ-тай харьцуулахад эдгээр аргыг ашигласнаар ААМ өвчний есөн хэвшлийн вирусийг илрүүлэх, ялган тогтоох шинжилгээний хурд, найдвартай байдлыг үлэмж нэмэгдүүлэх боломжтой.

Гэвч цаг улирахын хэрээр ААМ өвчний вирусийн геномд, тэр дундаа вирусийн хэвшил тогтоох өвөрмөц праймер/пробыг зохиохдоо үлгэр авсан VP2 уургийг кодлогч мужид генетикийн өөр хувилбар гарч болох учраас ийлдсэн хэвшил тус бүр дэх генетикийн бүх хувилбарыг энэ төрлийн аргаар илрүүлэхэд төвөгтэй болно. Ийм учраас хэдийгээр молекул шинжилгээний арга эерэг нь тогтоогдсон хээрийн янз бүрийн сорьцод ААМ өвчний вирусийн хэвшлийг түргэн тогтоож болох ч ААМ өвчний вирусийн өсгөврийн хэвшил тогтоох алтан стандарт арга нь ВСУ хэвээр байна.

2. Ийлдэс судлалын арга

ААМ өвчний вирусийн уусдаг эсрэгтөрөгч аль эсхүл рекомбинант VP7 уураг (Laviada нар, 1992; Maree & Paweska, 2005) ашиглан хийх шууд бус болон өрсөлдөөнт саатуулагч ЕЛИЗА нь ААМ өвчний вирусийн бүлэгт урвалж чанартай эсрэгбие илрүүлэхэд, ялангуяа өргөн хүрээтэй судалгаа шинжилгээнд тохирох сайн арга болох нь батлагджээ. Амьтны зүйл өвөрмөц эсрэг-глобулин шаардахгүй учраас зэрлэг амьтны шинжилгээнд өрсөлдөөнт саатуулагч ЕЛИЗА ашиглаж болно. ААМ өвчний эсрэгбие илрүүлэхэд (Laviada нар, 1992), ялангуяа цөөн тооны ийлдэс шинжлэхэд иммунблотын шинжилгээг тохируулан хэрэглэж байна. ХХУ-ыг өргөн хэрэглэдэг боловч зарим ийлдсэнд, ялангуяа илжиг, луусанд хавсаргын эсрэг нөлөө илэрнэ.

2.1. Энзим холбоост дархлааны саатуулагч урвал

Өрсөлдөн саатуулах ЕЛИЗА-ын шинжилгээгээр адууны аливаа зүйлийн амьтанд байгаа ААМ өвчний вирусийн эсрэгбиеийг илрүүлнэ. ААМ өвчний вирусийн молекул бүтэц дэх эсрэгтөрөгчийн шинж чанартай үндсэн уураг нь VP7 бөгөөд энэ нь ААМ өвчний вирусийн есөн ийлдсэн хэвшил бүгдэд нь тогтвортой хадгалагдана. VP7-ийн эсрэг гаргасан ИГЭБ-ийг энэ шинжилгээнд ашигладаг учир энэ шинжилгээний мэдрэх болон өвөрмөц чанар өндөр байдаг. Үүнээс гадна адууны овгийн бусад зүйл (ж. нь: илжиг, судалт тахь гэх мэт) амьтдыг энэ аргаар шинжилбэл шууд бус ЕЛИЗА-г хэрэглэхэд хааяа гардаг өвөрмөц чанарын асуудал гарахаас сэргийлнэ. Рекомбинант VP7 эсрэгтөрөгч халдваргүй учир аюулгүй байдлыг өндөр түвшинд хангана).

Энэхүү шинжилгээний аргын зарчим нь хавтангийн үүрний хананд шингээсэн рекомбинант VP7 уураг болон VP7 уургийн эсрэг ижил гарлын коньюгатласан эсрэгбиеийн хооронд явагдах өвөрмөц урвалыг саатуулах явдал юм. Энэ урвалыг сэжигтэй ийлдэсний дээжид байгаа ААМ өвчний вирусийн эсрэгбие саатуулна. Урвалын өнгөний хэмжээ буурах нь ийлдэсний дээжид ААМ өвчний вирус байгаагийн нотолгоо болно.

Өрсөлдөн саатуулах ЕЛИЗА цомог худалдаанд гарсан. Уг шинжилгээний аргын тохирцод олон улсын лаборатори хоорондын харьцуулах сорилын хүрээнд үнэлгээ хийсэн байна (Durán-Ferrer нар, 2018).

2.1.1. Шинжилгээний аргачлал

Энд жишээ болгон саатуулагч ЕЛИЗА шинжилгээний аргыг оруулав.

i) *Хатуу фаз:* 96 үүртэй ЕЛИЗА хавтангийн үүрний ханыг 9.6 pH бүхий карбонат/ бикарбонат буферт шингэлсэн 50–100 нг рекомбинант ААМ вирусийн VP7 уургаар бүрнэ. 4°C-д хонтуут байлгана.

ii) Хавтанг 0.135 M NaCl болон 0.05% (э/э) Твин 20 (угаах уусмал) агуулсан 0.1 х ФБУ-аар гурван удаа угаана. Хавтанг уруу харуулан шингээгч материал дээр зөөлөн цохих маягаар угаалтаас үлдсэн аливаа зүйлийг зайлуулна.

iii) *Шинжлэх дээж:* шинжлэх ийлдэсний дээж, эерэг болон сөрөг хяналтын ийлдсийг (хэрэв цомог үйлдвэрлэгч хэрэглэхэд бэлэн бусаар нийлүүлсэн бол) 0.35 M NaCl, 0.05% Твин 20, 0.1% Катон агуулсан шингэлэгчээр 1/5-аар шингэлээд үүр бүрд 100 мкл хийнэ. 37°C-д 1 цаг байлгана.

iv) Хавтанг 0.135 M NaCl болон 0.05% (э/э) Твин 20 (угаагч уусмал) агуулсан 0.1х ФБУ- аар таван удаа угаана. Хавтанг уруу харуулан шингээгч материал дээр зөөлөн цохих маягаар угаалтаас үлдсэн аливаа зүйлийг зайлуулна.

v) *Коньюгат:* тунхууны пероксидазагаар коньюгатласан VP7 уургийн эсрэг ИГЭБ-ийг тохирох шингэлэгчээр хамгийн оновчтой харьцаагаар шингэлээд 100 мкл/үүр хэмжээгээр хуваарилан хийнэ. Худалдааны бэлэн цомогт ИГЭБ болон шингэлэгч байж болзошгүй. 37°C-д 30 минут байлгана.

vi) Хавтанг iv-р шатад заасны дагуу угаана.

vii) *Субстрат/хромоген:*, ж. нь: pH 4 бүхий 0.03% H_2O_2 агуулсан 0.1 M фосфат/цитратын буферт 1/10-аар шингэлсэн 5 мг/мл ABTS зэрэг субстрат/хромогений уусмалаас 100 мкл/үүр хэмжээгээр нэмээд тасалгааны хэмд 10 минут байлгана.

2% (ж/э) SDS-ийг 100 мкл/үүр хэмжээгээр нэмж өнгө үүсэлтийг зогсооно.
Хромогений өөр систем ашиглаж болно (ж.нь.тетраметил бензидин).

viii) Хавтанг 405 нм-д уншина.

ix) *Шинжилгээний баталгаажилт:* эерэг хяналт 0.2-оос бага, сөрөг хяналт 1.0-ээс илүү байна.

x) *Үр дүнг боловсруулах:* дараах томьёо ашиглан дээж тус бүрийн саатуулах хувийг тодорхойлно (СХ):

$$\text{СХ} = \frac{\text{Abs (сөрөг хяналт)} - \text{Abs (дээж)}}{\text{Abs (сөрөг хяналт)} - \text{Abs (эерэг хяналт)}} \text{ x } 100$$

Саатуулах хувь 45%-иас бага дээжийг ААМ өвчний вирусийн эсрэгбие агуулаагүй сөрөгт тооцно. Саатуулах хувь 55%-иас илүү дээжийг ААМ өвчний вирусийн эсрэгбие агуулсан эерэг дээжид тооцно. Саатуулах хувь 45%-аас 50%-ийн хооронд байвал эргэлзээтэй гэж үзэн давтан шинжилнэ. Давтан шинжилсэн дүн адилхан байвал 2 долоо хоногийн дараа дээж шинээр авч шинжилнэ.

2.2. Энзим холбоост дархлааны шууд бус урвал

ААМ өвчний вирусийн эсрэгбиеийг илрүүлэн тодорхойлох мэдрэх болон өвөрмөц чанар өндөр эсрэгтөрөгч болгон рекомбинант VP7 уургийг ашиглаж байна (Laviada нар, 1992; Maree & Paweska, 2005). Энэхүү эсрэгтөрөгч тогтвортой бөгөөд халдварлах чанаргүйд түүний бас нэг давуу тал оршино. Энэ аргад хэрэглэдэг коньюгат нь адуу, луус, илжигтэй урвалд ордог тунхууны пероксидаза бүхий адуу-эсрэг гамма-глобулин юм. Түүнчлэн судалт

тахийн ийлдсэнд урвал үзүүлдэг G уургийг коньюгатаар ашиглах аргыг Мари болон Павеска нар (2005) боловсруулсан байна. Шууд бус ЕЛИЗА саяхнаас худалдаанд гарсан.

2.2.1. Шинжилгээний аргачлал

Шинжилгээний хэд хэдэн аргачлал боловсруулснаас ААМ өвчинд хэрэглэх шууд бус нэг ЕЛИЗА-г жишээ болгон оруулав.

i) *Хатуу фаз*: 96 үүртэй ЕЛИЗА хавтангийн үүрний ханыг 9.6 pH бүхий карбонат/ бикарбонат буферт шингэлсэн рекомбинант AHSV-4 VP7 уургаар бүрнэ. 4°C-д хонуут байлгана.

ii) Хавтанг 0.01% (э/э) Твин 20 (угаах уусмал) агуулсан 0.1х ФБУ-аар таван удаа угаана. Хавтанг уруу харуулан шингээгч материал дээр зөөлөн цохих маягаар угаалтаас үлдсэн аливаа зүйлийг зайлуулна.

iii) pH 7.2 бүхий +5% (ж/э) тослоггүй сүүтэй ФБУ-аас 200 мкл/үүр хэмжээгээр хийж хавтанд саатуулалт хийгээд 37°C-д 1 цаг байлгана.

iv) Саатуулагч уусмалыг зайлуулаад хавтанг уруу харуулан шингээгч материал дээр зөөлөн цохино.

v) *Шинжилгээний дээж:* шинжлэх ийлдэсний дээж, эерэг болон сөрөг хяналтын ийлдсийг 5% (ж/э) тослоггүй сүүтэй ФБУ + 0.05% Твин 20; 0.1% агуулсан шингэлэгчээр 1/25-аар шингэлээд үүр бүрд 100 мкл хийнэ. 37°C-д 1 цаг байлгана. Таньцлахдаа 1/25-аас эхлэн хоёр дахин дараалан шингэлж нэг ийлдсийг хавтан бүрийн баганад, бас өөр хоёр баганад (100 мкл/үүр) нэмнэ. Эерэг сөрөг хяналтыг үүний адилаар хийнэ. 37°C-д 1 цаг байлгана

vi) Хавтанг ii-р шатад заасны дагуу угаана.

vii) *Коньюгат:* тунхууны пероксидазагаар коньюгатласан адуу-эсрэг гамма-глобулинийг pH 7.2 бүхий + 5% (ж/э) тослоггүй сүүтэй ФБУ + 0.05% Твин 20 агуулсан шингэлэгчээр шингэлээд 100 мкл/үүр хэмжээгээр хуваарилан хийнэ. 37°C-д 30 минут байлгана.

viii) Хавтанг ii-р шатад бичсэний дагуу угаана.

ix)) *Субстрат/хромоген:* субстрат/хромогений уусмалаас (10 мл 80.6 mM DMAB [3-(диметиламино) бензинээ хүчил] + 10 мл 1.56 mM MBTH [3-метил-2-бензотиазолинон гидразон] + 5 мкл H_2O_2) 200 мкл/үүр хэмжээгээр нэмнэ. Тасалгааны хэмд 10 минут байлгана. Ойролцоогоор 5–10 минутын дараа (сөрөг хяналт өнгө үзүүлж эхлэхээс урьтаж) өнгө үүсэлтийг 50 мкл 3 N H_2SO_4 нэмж зогсооно. Хромогений өөр хувилбар болох ABTS, тетраметил бензидин, ортофенил диамин ашиглаж болно.

x) Хавтанг 600 нм-д (хэрэглэсэн хромогенээс хамааруулан 620 нм эсхүл 450 нм) уншина.

xi) *Үр дүнг боловсруулах:* Сөрөг хяналтын утга дээр 0.06-г нэмж босго утгыг тооцоолно (0.06 гэдэг нь сөрөг 30 ийлдэсний бүлгээс гарсан стандарт хазайлт). Шинжилж байгаа дээжийн гэрэл шингээлт босго утгаас бага бол сөрөг гэж үзнэ. Шинжилж байгаа дээжийн гэрэл шингээлт босго утга + 0.15-аас их бол эерэг гэж үзнэ. Сөрөг, эергийг заах гэрэл шингээлтийн хооронд байгаа дээжийг эргэлзээтэйд тооцож үр дүнг баталгаажуулах зорилгоор хоёрдох шинжилгээ хийнэ.

2.3. Хавсарга холбох урвал

ХХУ-ыг өргөн хэрэглэж ирсэн ч эдүгээ олон лаборатори түүнийг илрүүлэх шинжилгээнд ЕЛИЗА-аар орлуулан хэрэглэснээр хэрэглээ нь буурч байна. ЕЛИЗА шинжилгээний мэдрэх чанар өндөр болон стандартчиллын төрөл олон, нөгөө талаар хавсаргын эсрэг идэвхтэй ийлдэс олон байдаг учраас ХХУ ийнхүү эрчимтэй солигдож байна. Гэсэн хэдий ч ААМ өвчний эндемик тархалттай нутаг оронд саяхан гарсан халдвар эсхүл вакцинжуулалтын дараах ААМ өвчний вирусийн бүлгийн эсрэг өвөрмөц IgM-ийг илрүүлэх, таньц тогтооход ХХУ ач холбогдолтой хэвээр байна.

2.3.1. Урвалж

i) 1% желатин агуулсан, вероналаар буфержүүлсэн давсны уусмал (VBSG).

ii) Улаан эс агуулаагүй ийлдэсний дээжийг: адууны ийлдсийг 56°C, судалт тахийн ийлдсийг 60°C, илжигний ийлдсийг 62°C-д 30 минут байлгаж дулаанаар идэвхгүйжүүлнэ.

iii) Эсрэгтөрөгч нь ААМ өвчний вирусээр халдварласан хулганын тархины сахароз ацетоны хандмал юм. Халдваргүй хулганын тархийг дээрхийн адил аргаар хандлан авч хяналтын эсрэгтөрөгч бэлтгэв. Олон улсад стандартчилсан ийлдэс байхгүй бол эсрэгтөрөгчийг дотооддоо бэлтгэсэн хяналтын эерэг ийлдэс ашиглан таньцлана. Шинжилгээнд дөрвөөс найман нэгж хэрэглэнэ. Тохирох эсийн өсгөвөрт вирус халдварлуулан эсрэгтөрөгч бэлтгэж болно (дээрх Б.1 хэсгийг үзэх).

iv) Хавсарга нь усан гахайн хэвийн ийлдэс байна.

v) Цус задлуур нь хонины улаан эс (ХУЭ)-ийн эсрэг туулайн хэт дархлаат ийлдэс байна.

vi) Хонины гүрээний хураагуур судаснаас үжилгүй аргаар цус авч ХУЭ бэлтгээд Алсеверийн$_2$ эсхүл нимбэг хүчлийн уусмалд хадгалааслана.

vii) Цус задлуурыг цус задлах хоёр тун болгон шингэлж цус задлах системийг (ЦЗС) бэлтгээд угаасан ХУЭ-ийг үүгээр мэдрэгжүүлнэ. ХУЭ-ийг 3%-ийн төвшрүүлэгтэй болгон стандартчилна.

viii) *Хяналтын ийлдэс:* Хяналтын эерэг ийлдсийг орон нутагтаа бэлтгэж баталгаажуулна. Эрүүл, эсрэгбие агуулаагүй адууны ийлдсийг сөрөг хяналтын ийлдсээр ашиглана.

2.3.2. Шинжилгээний аргачлал

i) Урвалыг дугуй ёроолтой 96 үүртэй бичил таньцын хавтанд 100 мкл/үүр эцсийн эзлэхүүнээр эсхүл макро арга хэрэглэх бол цодонд 4°C-д 18 цаг явуулна.

ii) Бүх ийлдэс, дээж, хяналтыг VBSG-д 1/5-аар шингэлээд ийлдэс тус бүрээс хос үүр тус бүрд 25 мкл-ийг нэмнэ. Ийлдэс бүрд 1/5-аас 1/180 хүртэл хоёр дахин дараалан шингэлэлт хийнэ.

iii) Өмнөх таньцлалтад хэрэглэсэн шигээр шингэлсэн эсрэгтөрөгчөөс 25 мкл нэмнэ.

iv) Өмнөх таньцлалтад хэрэглэсэн шигээр шингэлсэн хавсаргаас 25 мкл нэмнэ.

v) 4°C-д 18 цаг байлгана.

vi) Бичил таньцын хавтангийн бүх үүрэнд цус задлах системээс 25 мкл нэмнэ.

vii) Хавтанг 37°C-д 30 минут байлгана.

viii) Хавтанг 200 g-д хурилдуурдаад цус задралын байдлаар нь үүрнүүдэд оноо өгнө. Хяналтын ийлдэс, хавсарга, эсрэгтөрөгч, цус задлах системийг хэрэглэнэ.

ix) 50%-ийн цус задралыг эцсийн цэг гэж үзэн үүнийг ашиглан урвалын үр дүнг уншиж гаргана. Хавсарга холбох эсрэгтөрөгчтэй хавсаргыг өвөрмөцөөр холбож байгаа ийлдсийн хамгийн өндөр шингэлэлтийн урвуу утгыг таньц гэж нэрлэнэ.

x) 1/10 эсхүл түүнээс өндөр таньцыг эерэг, харин 1/10-аас бага байвал сөрөг гэж үзнэ.

2.4. Вирус саармагжуулах ийлдэс судлалын арга

ВСУ хэрэглэн ийлдсэн хэвшилд өвөрмөц эсрэгбиеийг илрүүлнэ (House нар, 1990). ВСУ хэрэглэх нь эпидемиологийн тандалт, дамжин халдварлалтын судалгаа, вирусийн олон ийлдсэн хэвшил эндемик хэлбэрээр тархсан байж болох нутагт зарим ач холбогдолтой.

2.4.1. Саармагжуулах урвалын аргачлал

i) Эсийн өсгөвөрт зориулсан, хавтгай ёроолтой үүр бүхий бичил таньцын хавтанд шинжлэх ийлдсийг эсийн өсгөврийн тэжээлт орчныг шингэлэгчээр ашиглан 1/5 шингэлэлтээс эхлэн хоёр дахин дараалан шингэлнэ. Дээж тус бүрийн шингэлэлт бүрд хоёр үүр хуваарилна. Тухайн багц шинжилгээнд хяналтын эерэг ба сөрөг ийлдэс оруулж шинжилнэ. Үүр бүрд ААМ өвчний 100 $TCID_{50}$ (эсийн өсгөврийн 50%-д халдварлах тун) агуулсан вирусийн нөөцөөс адил эзлэхүүнээр (ж.нь. 25 мкл) нэмнэ.

ii) Шинжилгээний үүр бүрд 0.1 мл Веро эсийн цийдмэг (200,000 эс/мл) нэмэхийн өмнө нь ийлдэс/вирусийн холимгийг 37°C-д 95%-ийн чийгшилтэй, 5% CO_2-той орчинд 60 минут байлгана.

iii) Шинжилгээ бүрд зориулан 4 үүрэнд тус бүр арав дахин шингэлэлттэй 25 мкл вирусийн нөөцөд урвуу таньцлалт хийнэ. Шинжилгээний хавтанг 37°C-д 95%-ийн чийгшилтэй, 5% CO_2-той орчинд 4-5 хоног, нөөц вирус 30–300 $TCID_{50}$ агуулж байгааг урвуу таньцлалтаар тогтоох хүртэл байлгана.

iv) Тогтмол дулаанд 4-5 хоног байлгасны дараа урвуу микроскоп ашиглан шинжилгээний дүнг уншина. ЭЭН илэрсэн эсэхээс хамааруулан хавтангийн үүрэнд оноо өгнө. Ийлдэсний дээжтэй үүрэнд ЭЭН илрэх нь энэ шинжилгээнд ашигласан вирусийг саармагжуулж чадах эсрэгбие шинжилж байгаа ийлдсэнд байхгүй байсан учраас вирус эсийг задалж улмаар үе эсийг устгаж байгааг харуулна.

Үүний эсрэгээр, ийлдэсний дээжтэй үүрэнд ЭЭН илрэхгүй байх нь өвөрмөц эсрэгбие шинжилж байгаа ийлдсэнд агуулагдаж байгаа учраас вирусийг саармагжуулж эсийн үе бүтэн үлдэж байгааг харуулна.

v) Өөр нэг хувилбар нь хавтанг бэхжүүлсний дараа 2% (э/э) глутаральдгидад бэлтгэсэн 0.15% (ж/э) кристал ягаанаар будаж усаар зайлах эсхүл 70% этанолд бэхжүүлээд 1% суурилаг фуксинээр будна.

vi) Ийлдэсний эцсийн цэгийн таньцын 50%-ийг Спийрман-Карберийн аргаар тооцоолж үр дүнг сөрөг log10-аар илэрхийлнэ.

B. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

1. Оршил

1.1. Үндэслэл ба бүтээгдэхүүний зориулалт

Веро эсийн өсгөвөрт генетикийн хувьд тогтвортой вируст толбонцроос сонголт хийн гарган авсан ААМ өвчний олон болон дан цэнт сулруулсан амьд вакциныг Африкт болон бусад бүс нутагт хэрэглэж байна. Олон цэнт вакцин худалдаанд гарсан байна.

ААМ өвчний сулруулсан амьд вакцинаар вакцинжуулсан амьтанд вирусийн геномыг вакцинжуулснаас хойш 16 долоо хоног хүртэл илрүүлж байсныг тэмдэглэх нь зүйтэй (Weyer нар, 2017).

Вирусийг цэвэршүүлж формалинаар идэвхгүйжүүлсэн ААМ өвчний идэвхгүйжүүлсэн дан цэнт вакциныг (ийлдсэн хэвшил - 4) 1990-ээд оны эхээр үйлдвэрлэж худалдаанд гаргаж байсан ч (House нар, 1992) худалдах зорилгоор одоо үйлдвэрлэхээ больсон байна. Тун саяхнаас идэвхгүйжүүлсэн вакцин үйлдвэрлэж бүх ийлдсэн хэвшлийн эсрэг амжилттай хэрэглэсэн байна (Rodríguez нар, 2020). Дан болон давхар рекомбинант экспреслэгч бакуловирусийн векторуос гарган авсан ААМ өвчний 4 дүгээр ийлдсэн хэвшлийн вирусийн гадна капсидийн VP2 уураг болон VP5 уураг дээр нэмэх нь дотор капсидийн VP7 уургаар бэлтгэсэн дэд нэгжийн вакциныг янз бүрээр хослуулан туршилтын журмаар адуу дархлаажуулахад хэрэглэж үзжээ (Martinez нар, 1996). Дэд нэгжийн вакцин дахь VP2 уургийн хамгаалах үр нөлөөг мөн тогтоосон байна (Scanlen нар, 2002). Гэхдээ эдгээр вакцин худалдаанд гараагүй. Одоогоор худалдаанд гараагүй шинэ үеийн, туршилтын бусад вакцины жишээнд вирус-векторт вакцин (ж.нь: өөрчилсөн вакциниа Анкара вирус: Alberca нар, 2014), ургамлаас гаралтай вирус төст биенцэрт вакцин (O'Kennedy нар, 2024), түүнчлэн

урвуу генетикийн аргаар боловсруулсан ECRA (entry-competent replicative-abortive) болон DISA (disabled infection single animal) вакцин орно (VanRijn нар, 2018).

2. Уламжлалт вакцин үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны тодорхойлолт, тавигдах наад захын шаардлага

Эдүгээ ААМ өвчний зөвхөн сулруулсан амьд вакцин (олон цэнт болон дан цэнт) худалдаанд бий. Энэ гарын авлагын 1.1.8 *Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зарчим* бүлэгт мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зааварчилгааг оруулав. Энэ хэсэгт болон 1.1.8 дугаар бүлэгт оруулсан зааварчилгаа нь ерөнхий агуулгатай учир тухайн улсын болон бүс нутгийн шаардлагыг нэмж оруулж болно.

3. Адууны Африк мялзангийн сулруулсан амьд вакцин

3.1. Эх омгийн шинж чанар

3.1.1. Биологийн шинж чанар

Эх вирусийг ААМ өвчний цөөн зорчуулсан вирусийн Веро эсийн өсгөвөр дэх генетикийн хувьд тогтвортой вируст том толбонцрыг шилэн сонгож бэлтгэнэ. Мутантын биенцэр нь Веро эсэд гурван удаа зорчуулахад цааш үржинэ. Их хэмжээний энэ эсрэгтөрөгчийг хөлдөөн хатааж эх нөөц эсрэгтөрөгч болгон –20°C-д хадгална.

3.1.2. Чанарын шалгуур

Эх вирус нь бохирдуулагч вирус, бактери, мөөгөнцөр, микоплазм агуулаагүй болохыг шаардлага хангасан аргаар тогтоосон байх ёстой. Эх вирусийн ийлдсэн хэвшлийг ялган тогтоосноо баталгаажуулна.

3.2. Үйлдвэрлэлийн арга

3.2.1. Аргачлал

Үйлдвэрлэл эхэлмэгц эх нөөц эсрэгтөрөгчөөс ажлын эсрэгтөрөгчийг ВНК-21 аль эсхүл Веро эсэд бэлтгэнэ. Ажлын эсрэгтөрөгчийн ариун чанар, цэвэршилт, ялгагдах чанарыг шалгах ба наад зах нь халдварлах чадвартай вирусийн 1 х 10^6 толбо үүсгэх нэгж (ТҮН)/мл агуулах ёстой.

3.2.2. Субстрат, тэжээлт орчинд тавих шаардлага

Эргэлддэг савand Веро эсхүл ВНК-21 эсийг гамма туяагаар шарсан үхрийн ийлдэс ашиглан өсгөвөрлөх орчинд ургуулна. Эсийн өсгөвөр тасралгүй үргэлжлэн ургавал тэжээлт орчныг асгаж, эсэд ажлын эсрэгтөрөгчийг суулгана. Нэг цагийн дараа эсийн өсгөвөрт ердийн тогтворжуулагч тэжээлт орчин нэмнэ. 37°C-д 2–3 цаг байлгана. ЭЭН ойртох үед эс болон тэжээлт орчин аль алийг хурааж авна. Нэг ижил ийлдсэн хэвшлийн бүтээгдэхүүнийг нийлүүлээд 4°C-д хадгална.

3.2.3. Явцын хяналт

Нэг ижил ийлдсэн хэвшлийн нийлүүлсэн бүтээгдэхүүнийг хурааж аваад ариун чанарыг болон халдварлах чадварыг Веро эсийн өсгөвөрт Вируст толбонцрыг ашиглан таньцлах аргаар шалгана. Хүлээн авч болох хамгийн бага таньц нь 1 х 10^6 ТҮН/мл байна. Эцэст нь 1, 3, 4 ийлдсэн хэвшлийг хооронд нь, бас 2, 6, 7, 8 ийлдсэн хэвшлийг хооронд нь тус бүр ижил эзлэхүүнээр авч холиод олон хэвшилтэй хоёр вакциныг бүрдүүлж бэлтгэнэ. 5 ба 9 дэх ийлдсэн хэвшлийг вакцины бүрэлдэхүүнд оруулахгүй. Дан цэнт хэвшлийн вакцин бас бэлтгэж болно. Тохирох тогтворжуулагч нэмсний дараа вакцины 1.0 мл эзлэхүүнтэй шилэн цодонд хуваарилан хийгээд хөлдөөн хатаана.

3.2.4. Эцсийн бүтээгдэхүүний цуврал хийх шалгалт

i) Ариун чанар

Хөлдөөн хатаасны дараа таван лонх вакциныг санамсаргүй түүврээр сонгоод олон улсын хэмжээнд зөвшөөрсөн аргаар ариун чанарыг шалгана. Биологийн

материалын цэвэршилт, бохирдолгүй болохыг тогтоох шалгалтыг энэ гарын авлагын 1.1.9. Мал эмнэлгийн зориулалтаар хэрэглэх биологийн материалын ариун чанар, бохирдолгүйг шалгах бүлэгт оруулав.

ii) Аюулгүй чанар

Вакцины хоргүй чанарыг уусган сэргээсэн вакциныг хулгана (хэвлийн хөндийд 0.25 мл), усан гахай (хэвлийн хөндийд 1.0 мл), адуунд (арьсан дор 5.0 мл) зориуд олгож тодорхойлно. Туршилтын бүх амьтныг 14 хоног өдөр бүр үзэж шалгана. Адууны биеийн халууныг шулуун гэдсээр 14 хоног өдөрт хоёр удаа хэмжихэд хэзээд 39°C-ээс хэтрэхгүй байх ёстой.

iii) Цувралын идэвх

Вакцины идэвх нь түүнд агуулагдах вирусийн төвшрүүлгээс ихээхэн хамаарна.

Ийлдсэн хэвшил тус бүрийн дархлаа төрүүлэх хамгийн бага тун нь 1 x 10^3 ТҮН / тун орчим байдаг. Эцсийн бүтээгдэхүүн дэх халдварлах чадвартай вирусийн таньцыг Веро эсийн өсгөвөрт вирусийн үүсгэх толбонцрыг ашиглан таньцлах аргаар тогтоох ба энэ нь наад зах нь 1 x 10^5 ТҮН/тун байх ёстой. Аюулгүй чанарыг шалгахад ашигласан адууг вакцины дархлаа төрүүлэх чанарыг тогтооход мөн ашиглаж болно.

Вакцинжуулсан өдөр нь болон түүнээс 21 хоногийн дараа авсан цусны ийлдсэнд ийлдсэн хэвшил тус бүрийн эсрэг саармагжуулах эсрэгбиеийг тодорхойлох ба ингэхдээ ийлдсийг хоёр дахин шингэлж вирусийн 100 орчим ТҮН ашиглан Вируст толбонцор үүсэлтийн бууралтыг шалгах аргаар тодорхойлно. Дөрвөн цэнт вакцин олгосон адуунд дөрвөн ийлдсэн хэвшлийн гурваас доошгүй ийлдсэн хэвшлийн эсрэг саармагжуулах эсрэгбие үүсэж таньц нь 20-иос доошгүй байх ёстой.

3.3. Зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага

ААМ өвчний вакцинд зориулан боловсруулсан тусгайлсан зөвлөмж байхгүй. Гэвч хэл хөхрөх өвчний вирус зориулан онцгой нөхцөл байдалд хэрэгжүүлэх Европын холбооноос гаргасан зөвлөмжийг ААМ өвчний вирусийн эсрэг ашиглаж болох юм. Энэ зөвлөмжид хэл хөхрөх өвчний вирусийн эсрэг вакциныг онцгой нөхцөл байдалд яаралтай хэрэглэхээр үйлдвэрлэх зөвшөөрөл олгох хугацааг хамгийн багаар тогтоох (ЕХ-ны журам N726/2004, ялангуяа үүний 38, 39, 43 дугаар зүйл, 2001 /82/ЕС удирдамжийн 26 дугаар зүйл), үүний дотор шинэ эсхүл вирусийн төрөл бүрийн ийлдсэн хэвшлийг даруй оруулдаг байх арга хэмжээ орно.

4. Биотехнологид суурилсан вакцин

4.1. Хэрэглэхэд бэлэн болсон вакцин, тэдгээрийн давуу тал

Худалдаанд гарсан ийм төрлийн вакцин байхгүй. Туршилтын вакциныг янз бүрийн арга технологиор зохион бүтээсэн байна (В.1.1 хэсэг дэх Үндэслэл ба бүтээгдэхүүний хэрэглэх зориулалт хэсгийг үзэх).

4.2. Биотехнологийн вакцинд тавих тусгай шаардлага

Байхгүй.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

AGÜERO M., GУMEZ-TEJEDOR C., ANGELES CUBILLO M., RUBIO C., ROMERO E. & JIMÉNEZ-CLABEPO A. (2008). Real-timefluorogenic Буцerse transcription polymerase chain reaction assay for detection of African horse sickness virus. J. Vet. Diagn. Invest.,20, 325–328.

ALBERCA B., BACHANEK-BANKOWSKA K., CABANA M., CALVO-PINILLA E., VIAPLANA E., FROST L., GUBBINS S., URNIZA A., MERTENSP. & CASTILLO-OLIVARES J. (2014). Vaccination of horses with a recombinant modified vaccinia Ankara virus (MVA)expressing African horse sickness (AHS) virus major capsid protein VP2 provides complete clinical protection againstchallenge. Vaccine, 32, 3670–3674.

ARADAIB I.E. (2009). PCR detection of African horse sickness virus serogroup based on genome segment three sequence analysis. J. Virol. Methods, 159,1–5.

BACHANEK-BANKOWSKA K., MAAN S., CASTILLO-OLIVARES J., MANNING N.M., MAAN N.S., POTGIETER A.C., DI NARDO A.,SUTTON G., BATTEN C. & MERTENS P.P. (2014). Real-time УТ-ПГУ assays for detection and typing of African horse sicknessvirus. PLoS One, 9 (4), e93758.

BREMER C.W. & VILJOEN G.J. (1998) Detection of African horsesickness virus and discrimination between two equineorbivirus serogroups by Буцerse transcription polymerase chain reaction. Onderstepoort J. Vet. Res., 65, 1–8.

COETZER J.A.W. & GUTHRIE.A.J. (2005). African horsesickness. In: Infectious Diseases of Livestock, Секундond Edition. Coetzer J.A.W. & Tustin R.C., eds. Oxford University Press, Cape Town, 1231–1246.

DURЂN-FERRER M., AGÜERO M., ZIENTARA S., SMITH S., POTGIETER C., RUEDA P., SASTRE P., MONACO F., VILLALBA R., TENA-TOMЂS C., BATTEN C., FROST L., FLANNERY J., GUBBINS S., LUBISI B.A., SЂNCHEZ-VIZCAHNO J.M., EMERY M., STUR-GILL T., OSTLUND E. & CASTILLO-OLIVARES J. (2018). Assessment of reproducibility of a VP7 Blocking ЕЛИЗА diagnostic test for African horse sickness. Transbound. Emerg. Dis., doi: 10.1111/tbed.12968.

GUTHRIE A.J., MACLACHLAN N.J., JOONE C., LOURENS C.W., WEYER C.T., QUAN M., MONYAI M.S. & GARDNER I.A. (2013).Diagnostic accuracy of a duplex real-time Буцerse transcription quantitative PCR assay for detection of African horsesickness virus. J. Virol. Methods, 189, 30–35.

HOUSE C., MIKICIUK P.E. & BERNINGER M.L. (1990). Laboratory diagnosis of African horse sickness: comparison of serological techniques and evaluation of storage methods of samples for virus isolation. J. Vet. Diagn. Invest., 2, 44– 50.

HOUSE J., LOMBARD M., HOUSE C., DUBOURGET P. & MEBUS C. (1992). Efficacy of an inactivated vaccine for African horse sickness serotype 4. In: Bluetongue, African Horse Sickness and Related Orbiviruses: Proceedings of the Секундond International Sympo- sium, Walton T.E. & Osburn B.l., eds. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 891–895.

KOEKEMOER J.J. (2008). Serotype-specific detection of African horsesickness virus by real-time PCR and the influence of genetic variations. J. Virol. Methods, 154, 104–110.

LAVIADA M.D., ROY P. & SANCHEZ-VIZCAINO J.M (1992). Adaptation and evaluation of an indirect ЕЛИЗА and inmunoblotting test for African horse sickness antibody detection. In: Bluetongue, African Horse Sickness and Related Orbiviruses: Proceedings of the Секундond International Symposium. Walton T.E. & Osburn B.l., Eds. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 646–650.

LU G., PAN J., OU J., SHAO R., HU X., WANG C. & LI S. (2020). African horse sickness: Its emergence in Thailand and potentialthreat to other Asian countries. Transbound. Emerg. Dis., 67, 1751–1753. doi: 10.1111/tbed.13625.

MAAN N.S., MAAN S., NOMIKOU K., BELAGANAHALLI M.N., BACHANEK-BANKOWSKA K. & MERTENS P.P.C. (2011). Serotype-specific primers and gel-based УТ-ПГУ assays for 'typing' African horse sickness virus: identification of strains from Africa. PLoS One,6 (10), e25686.

MAREE S. & PAWESKA J.T. (2005). Preparation of recombinant African horse sickness virus VP7 antigen via a simple apra and val- idation of a VP7-based indirect ЕЛИЗА for the detection of group-specific IgG antibodies in horse sera. J. Virol. Methods, 125, 55–65.

MARTINEZ J., DIAZ-LAVIADA M., ROY P., SANCHEZ C., VELA C., SANCHEZ-VIZCAINO J.M. & CASAL I. (1996). Full protection against AHSV in horses induced by baculovirus-derived AHS virus serotype 4 VP2, VP5 and VP7. J. Gen. Virol., 77, 1211–1221.

O'DELL, N., ARNOT, L. JANISCH, C.E. & STEYL, J.C.A. (2018). Clinical presentation and pathology of suspected vector-transmitted African horse sickness in South African domestic dogs from 2006 to 2017. Vet. Rec. 182, 715. doi:10.1136/vr.104611

World Organisation for Animal Health (WOAH) (2010). African horse sickness. In: Atlas of Transboundary Animal Diseases, Fernandez P.J. & White W.R., eds. WOAH, Paris, France, 12–18.

O'KENNEDY M.M., ROTH R., EBERSOHN K., DU PLESSIS L.H., MAMPUTHA S., RUTKOWSKA D.A., DU PREEZ I., VERSCHOOR J.A. &LEMMER Y. (2024). Immunogenic profile of a plant-produced nonavalent African horse sickness viral protein 2 (VP2) vaccinein IFNAR–/– mice. PLoS One, 19, e0301340.

QUAN M., LOURENS C.W., MACLACHLAN N.J., GARDNER I.A. & GUTHRIE A.J. (2010). Development and optimisation of a duplex real-time Буцerse transcription quantitative PCR assay targeting the VP7 and NS2 genes of African horse sickness virus. J. Virol. Meth- ods, 167, 45–52.

RODRIGUEZ-SANCHEZ B., FERNANDEZ-PINERO J., SAILLEAU C., ZIENTARA S., BELAK S., ARIAS M. & SANCHEZ-VIZCAINO.M. (2008). Novel gel-based and real-time PCR assays for the improved detection of African horse sickness virus. J. Virol. Methods,151, 87–94.

ROY P., MERTENS P.C. & CASAL I. (1994). African Horse Sickness Structure. Comp. Immunol. Microb. And Infec. Dis., 17, 243–273.

SCANLEN M., PAWESKA J., VERSCHOOR J. & DIJK A. (2002). The protective efficacy of a recombinant VP2-based African horse- sickness subunit vaccine candidate is determined by adjuvant. Vaccine, 20, 1079–1088.

VAN DER MEYDEN C.H., ERASMUS B.J., SWANEPOEL R. & PROZESKY O.W. (1992) Encephalitis and chorioretinitis associated withneurotropic African horsesickness virus infection in laboratory workers. Part I. Clinical and neurological observations. S. Afr.Med. J., 81, 451–454.

VAN RIJN P.A., MARIS-VELDHUIS M.A., POTGIETER C.A. & VAN GENNIP R.G.P. (2018). African horse sickness virus (AHSV) witha deletion of 77 amino acids in NS3/NS3a protein is not virulent and a safe promising AHS Disabled Infectious SingleAnimal (DISA) vaccine platform. Vaccine, 36, 1925–1933.

VAN SCHALKWYK A., FERREIRA M.L. & ROMITO M. (2019). Using a new serotype-specific polymerase chain reaction (PCRand sequencing to differentiate between field and vaccine-derived African horse sickness viruses. J. Virol. Methods, 266,89–94.

VERWOERD D.W., HUISMANS H., ERASMUS B.J. (1979). Orbiviruses. In: Comprehensive Virology, Fraenkel-Conrat H., Wagner R.R., eds. Plenum Press, London, UK, Vol. 14, 285–345.

VILLALBA R., TENA-TOMÁS C., RUANO M. J., VALERO-LORENZO M., LÓPEZ-HERRANZ A. & AGÜERO M. (2024). Development andvalidation of three triplex Real-Time RT-PCR assays for typing African Horse Sickness virus: utility for disease control andother laboratory applications. Viruses, 16, 470.

WEYER C.T., GREWAR J.D., BURGER P., JOONE C., LOURENS C., MACLACHLAN N.J. & GUTHRIE A.J. (2017). Dynamics of Africanhorse sickness virus nucleic acid and antibody in horses following immunization with a commercial polyvalent liveattenuated vaccine. Vaccine, 35, 2504–2510

WEYER C.T., JOONE C., LOURENS C.W., MONYAI M.S., KOEKEMOER O.,GREWAR J.D., VAN SCHALKWYK A., MAJIWA P.O.,MACLACHLAN N.J. & GUTHRIE A.J. (2015). Development of three triplex real-time Буцerse transcription PCR assays for the qualita- tive molecular typing of the nine serotypes of African horse sickness virus. J. Virol. Methods, 223, 69–74.

ZIENTARA S., SAILLEAU C., MOULAY S. & CRUCIERE C. (1994). Diagnosis of the African horse sickness virus serotype 4 by a one- tube, one manipulation УТ-ПГУ reaction from infected organs. J. Virol. Methods, 46, 179–188.

*

* *

ЖИЧ: Адууны Африк мялзан (ААМ) өвчнийг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори бий.

(Дэлгэрэнгүй мэдээллийг ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас авна уу:
https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

Адууны Африк мялзан өвчнийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудтай холбогдож авна уу.

Хавсралт 1: Адууны Африк Мялзан
Шинжилгээний зорилго: Популяци халдваргүйг тогтоох

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Шинжилсэн популяци	Баталгаажуулалтын тайлан	Давуу тал	Сул тал	Эх сурвалж
Үүсгэгчийг ялган тогтоох							
Бодит цагийн УТ-ПГУ ☑☐☐ Адууны овгийхон	ЭДТА цус/эд (VP7)	(1) ОМч 97% ОӨч 100% (2) ОМч >99.9% ОӨч > 97.8%	(1) Сөрөг болох нь тогтоогдсон 186, эерэг болох нь тогтоогдсон 132 дээж (2) Сэжигтэй тохиолдлоос цуглуулсан 503 адууны цусны дээж; адууны 2 тусдаа популяцийг (503 болон 98 адуу) сөрөг хяналт болгон ашиглав.	(1) LCV (ЕХ-ЛЛ)-д баталгаажуулж, тайланг ДМАЭМБ-д хүргүүлэн, ДМАЭМБ-ын Bulletin № 2016-1-д нийтэлсэн. (2) CVR (ДМЭАМБ-ын ЛЛ)-д баталгаажуулж, тайланг ДМАЭМБ-д хүргүүлэн, Guthrie нар нийтлүүлсэн (2013).	-Мэдрэх болон өвөрмөц чанар, үр дүнгийн тохирц өндөр -Өндөр бүтээмжтэй -Хөндлөн бохирдох эрсдэл хамгийн бага -Вирус цусанд үржиж өнгөрсний дараа, түүнчлэн муудсан, идэвхгүйжсэн дээжид ч вирусийн геномыг илрүүлэх боломжтой буюу халдварлах чанараа алдсан дээжид хэрэглэж болно	- Тоног төхөөрөмж, урвалжийн өртөг өндөр - Амьд үлдсэн амьтны цусанд үжих вирус нь эсрэгбиеийн илрэх хугацаатай харьцуулахад богино - ААМ өвчний сулруулсан амьд вакцинаар вакцинжуулсан амьтанд вирусийн геном вакцинжуулснаас хойш 16 долоо хоног илэрч болохыг тогтоосон.	(1) Agüero нар (2008) (2) Guthrie нар (2013) Quan нар (2010)
Агарозын гельд суурилсан УТ-ПГУ ☑☐☐	ЭДТА цус/эд (VP7)	Байхгүй	Байхгүй		- Бодит цагийн УТ-ПГУ-д ашигладгаас харьцангуй хямд багаж, төхөөрөмж шаардагддаг - Мэдрэх болон өвөрмөц чанар, үр дүнгийн тохирц өндөр - Халдварлах чанараа алдсан дээжид хэрэглэж болно	- Шинжлэх хугацаа бодит цагийн УТ-ПГУ-аас илүү удаан - Өндөр бүтээмжтэй шинжилгээнд тохирохгүй - Хөндлөн бохирдох эрсдэлтэй -Амьд үлдсэн амьтны цусанд үжих вирус нь эсрэгбиеийн илрэх хугацаатай харьцуулахад богино -	Zientara нар (1994)

Вирус ялган авах ☐☐☐	ЭДТА цус/эд	ОМч ≥ 50% ОӨч > 99%	- Испанид 2007–2018 онд гарсан хэл хөхрөх өвчний дэгдэлтээр байгалийн халдвар авсан амьтнаас цуглуулсан 91 цусны эерэг дээж (Бүх орбивируст хамтатган баталгаажуулсан) - AHSV- 9 омгоор зориуд халдварлуулсан адуунаас авсан 12 эдийн дээж	LCV (ЕХ-ЛЛ)-д орбивирус ялган авсан аргын баталгаажуулалтын баримт бичиг	- Халдварлах чадвартай вирусийг илрүүлнэ - Цаашдын судалгаанд ашиглах өсгөвөр гарган авах боломжтой	- Хугацаа их шаарддаг - Ажиллагаа ихтэй - Вирус цусанд үжих үеийн дээж шаардагдана. - Сайн хадгалаасласан дээж шаардагдана - Лабораторийн биоаюулгүй ажиллагааны шаардлага тавигдана – Биоаюулгүйн 3-р зэрэглэл - Эсийн өсгөвөр шаардлагатай - Мэдрэх чанар сул	
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх							
ЕЛИЗА (VP7-д суурилсан, ийлдсэн бүлэгт өвөрмөц) ☑☑☑ Адууны овгийнхон	Ийлдэс (VP7-ийн эсрэгбие)	(1) ОМч ≥ 95% ОӨч > 99% (2) ОМч ≥ 99% ОӨч > 99%	(1, 2) AAM1-AHS9 омгоор халдвар хийсэн ямаа, хонь, усан гахайн ийлдэс (1) Байгалийн халдвар авсан, ВСУ-аар эерэг есөн адууны ийлдэс (1) Вакцинжуулсан, ВСУ-аар ийлдсийн хэвшлийг тогтоосон 152 адууны ийлдэс (1, 2) Өвчингүй нутгийн адууны ийлдэс (512, 1015) (1) Хэл хөхрөх өвчний вируст эерэг 24 үхэр, Адууны тараагуур судасны үрэвслийн вируст эерэг 20 адууны ийлдэс, Эпизоот цусархаг халдварын вируст эерэг 9 бугын ийлдэс (1) ДМАЭМБ-ын лавлах материалын цуглуулгад хадгалагдаж байгаа адууны овгийн өөр өөр зүйлийн амьтнаас	(1, 2) Үйлдвэрлэгчийн баталгаажуулсан аргын гэрчилгээ (1) LCV (ЕХ-ЛЛ)-д Адууны Африк мялзангийн вирусийн эсрэгбие илрүүлэх саатуулагч ЕЛИЗА-д хийсэн баталгаажуулалтын баримт бичиг. Баталгаажуулалтын 3-р үе шатыг Durán- Ferrer нар нийтлүүлсэн (2019).	- Мэдрэх болон өвөрмөц чанар өндөр - Худалдаанд бэлэн (саатуулагч болон шууд бус ЕЛИЗА) - Зардал бага -VP7 уураг нь бүх ийлдсэн хэвшлүүдэд байна. - Халдвар авсан амьтанд эсрэгбие удаан хугацаанд илэрдэг	- Вакцинжуулсныг халдвар авснаас ялгаварлахгүй - Эсрэгбие аль ийлдсэн хэвшилд өвөрмөц болохыг ялгаварлахгүй - Эсрэгбие халдвар авснаас хойш багадаа 8-12 хоногийн дараа үүсэж эхэлдэг	(1) Адууны Африк мялзангийн вирус илрүүлэх ИНЖЕЗИМ саатуулагч ЕЛИЗА цомог (B-ELISA INGEZIM AHSV Compac Plus 2.0) (Үйлдвэрлэгч: Gold Standard Diagnostics); Durán-Ferrer нар (2019) (2) Адууны Африк мялзангийн вирус илрүүлэх АйДиСкрин шууд бус ЕЛИЗА цомог (I-ELISA IDScreen AHSV indirect

			авсан, эерэг байдлын түвшин нь ялгаатай 7 ийлдэс (1) AHS9 омгоор зориуд халдварлуулсан 2 адууны 7 ийлдэс (1) ЕХЛЛ-иос 2014-2020 онд зохион байгуулсан ур чадварын сорилд ашигласан 70 дээж (1) Вакцинжуулсан, зориуд халдвар хийсэн, байгалийн халдвар авсан адууны овгийн амьтны 129 эерэг дээж, цоо эрүүл адууны овгийн амьтны 57 ийлдэс				(Үйлдвэрлэгч: IDVET)
ВСУ ☑☐☐ Адууны овгийнхон	Ийлдэс (ийлдсэн хэвшилд өвөрмөц, VP2 уургийн эсрэг саармагжуулагч эсрэгбие)	ОМч > 95% (халдвар авсан амьтан) ОӨч > 99%	(1) AHS1–AHS9 омгоор зориуд халдварлуулсан хонины 18 ийлдэс (2) AHS9 омгоор зориуд халдварлуулсан 2 адууны 7 ийлдэс	LCV (ЕХЛЛ)-д орбивирусыг ийлдсэнд саармагжуулах урвалыг баталгаажуулсан баримт бичиг	- Ийлдэсний дээжээс ийлдсэн хэвшил тогтоох боломжтой	- Вакцинжуулсныг халдвар авснаас ялгаварлахгүй - Бүх ийлдсэн хэвшлийн амьд омог, мэдрэг эсийн өсгөвөр бэлэн байгаа эсэхээс хамаарна - Ийлдсэн хэвшил солбицон урвалд орж болзошгүй - Хугацаа их шаарддаг - Ажиллагаа ихтэй - Лабораторийн биоаюулгүй ажиллагааны шаардлага тавигдана – Биоаюулгүйн 3-р зэрэглэл	
ХХУ ☑☐☐ Адууны овгийнхон	Ийлдэс	Байхгүй	Байхгүй	Байхгүй	- Халдвар аваад удаагүй эсхүл вакцинжуулсны дараа хэрэглэхэд тохирмжтой	- Хавсаргын эсрэг идэвхтэй ийлдэс олон байдаг - ЕЛИЗА-тай харьцуулахад мэдрэх чанар бага - ЕЛИЗА-тай харьцуулахад стандартчилах боломж	

						бага	

Хавсралт 2: Адууны Африк Мялзан
Шинжилгээний зорилго: Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох*

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Шинжилсэн популяци	Баталгаажуулалтын тайлан	Давуу тал	Сул тал	Эх сурвалж
Үүсгэгчийг ялган тогтоох							
Бодит цагийн УТ-ПГУ ☑☑☑ Адууны овгийхон	ЭДТА цус/эд (VP7)	(1) ОМч 97% ОӨч 100% (2) ОМч >99.9% ОӨч > 97.8%	(1) Сөрөг болох нь тогтоогдсон 186, эерэг болох нь тогтоогдсон 132 дээж (2) Сэжигтэй тохиолдлоос цуглуулсан 503 адууны цусны дээж; адууны 2 тусдаа популяцийг (503 болон 98 адуу) сөрөг хяналт болгон ашигласан.	(1) LCV (ЕХ-ЛЛ)-д баталгаажуулж, тайланг ДМАЭМБ-д хүргүүлэн, ДМАЭМБ-ын Bulletin № 2016-1-д нийтэлсэн. (2) CVR (ДМЭАМБ-ын ЛЛ)-д баталгаажуулж, тайланг ДМАЭМБ-д хүргүүлэн, Guthrie нар нийтлүүлсэн (2013).	-Мэдрэх болон өвөрмөц чанар, үр дүнгийн тохирц өндөр -Өндөр бүтээмжтэй -Хөндлөн бохирдох эрсдэл хамгийн бага -Вирус цусанд үржиж өнгөрсний дараа, түүнчлэн муудсан, идэвхгүйжсэн дээжид ч вирусийн геномыг илрүүлэх боломжтой буюу халдварлах чанараа алдсан дээжид хэрэглэж болно	- Тоног төхөөрөмж, урвалжийн өртөг өндөр - Амьд үлдсэн амьтны цусанд үжих вирус нь эсрэгбиеийн илрэх хугацаатай харьцуулахад богино - ААМ өвчний сулруулсан амьд вакцинаар вакцинжуулсан амьтанд вирусийн геном вакцинжуулснаас хойш 16 долоо хоног илэрч болохыг тогтоосон - Сул эерэг дээжийн тухайд өөр шинжилгээний аргаар зөрүүтэй үр дүн үзүүлж болзошгүй	(1) Agüero нар (2008) (2) Guthrie нар (2013) Quan нар (2010)

Агарозын гельд суурилсан УТ-ПГУ ☑☑☐	ЭДТА цус/эд (VP7)	Байхгүй	Байхгүй		- Бодит цагийн УТ-ПГУ-д ашигладгаас харьцангуй хямд багаж, төхөөрөмж шаардагддаг - Мэдрэх болон өвөрмөц чанар, үр дүнгийн тохирц өндөр - Халдварлах чанараа алдсан дээжид хэрэглэж болно	- Шинжлэх хугацаа бодит цагийн УТ-ПГУ-аас илүү удаан - Өндөр бүтээмжтэй шинжилгээнд тохирохгүй - Хөндлөн бохирдох эрсдэлтэй -Амьд үлдсэн амьтны цусанд үжих вирус нь эсрэгбиеийн илрэх хугацаатай харьцуулахад богино	Zientara нар (1994)
Вирус ялган авах ☑☐☐	ЭДТА цус/эд	ОМч ≥ 50% ОӨч > 99%	- Испанид 2007–2018 онд гарсан хэл хөхрөх өвчний дэгдэлтээр байгалийн халдвар авсан амьтнаас цуглуулсан 91 цусны эерэг дээж (Бүх орбивируст хамтатган баталгаажуулсан) - AHSV- 9 омгоор зориуд халдварлуулсан адуунаас авсан 12 эдийн дээж	LCV (ЕХ-ЛЛ)-д орбивирус ялган авсан аргын баталгаажуулалтын баримт бичиг	- Халдварлах чадвартай вирусийг илрүүлнэ	- Хугацаа их шаарддаг - Ажиллагаа ихтэй - Сайн хадгалаасласан дээж шаардагдана - Лабораторийн биоаюулгүй ажиллагааны шаардлага тавигдана – Биоаюулгүйн 3-р зэрэглэл - Эсийн өсгөвөр шаардлагатай - Мэдрэх чанар сул	
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх							
ЕЛИЗА (VP7-д суурилсан, ийлдсэн бүлэгт өвөрмөц) ☑☑☑ Адууны овгийнхон	Ийлдэс (VP7-ийн эсрэгбие)	(1) ОМч ≥ 95% ОӨч > 99% (2) ОМч ≥ 99% ОӨч > 99%	(1, 2) AAM1-AHS9 омгоор халдвар хийсэн ямаа, хонь, усан гахайн ийлдэс (1) Байгалийн халдвар авсан, ВСУ-аар эерэг есөн адууны ийлдэс (1) Вакцинжуулсан, ВСУ-аар ийлдсийн хэвшлийг тогтоосон 152 адууны ийлдэс (1, 2) Өвчингүй нутгийн адууны ийлдэс (512, 1015) (1) Хэл хөхрөх өвчний вируст эерэг 24 үхэр, Адууны тараагуур судасны үрэвслийн	(1, 2) Үйлдвэрлэгчийн баталгаажуулсан аргын гэрчилгээ (1) LCV (ЕХ-ЛЛ)-д Адууны Африк мялзангийн вирусийн эсрэгбие илрүүлэх саатуулагч ЕЛИЗА-д хийсэн баталгаажуулалтын баримт бичиг. Баталгаажуулалтын 3-р үе шатыг Durán- Ferrer нар нийтлүүлсэн (2019).	- Мэдрэх болон өвөрмөц чанар өндөр - Худалдаанд бэлэн (саатуулагч болон шууд бус ЕЛИЗА) - Зардал бага -VP7 уураг нь бүх ийлдсэн хэвшлүүдэд ижил байна. - Халдвар авсан амьтанд эсрэгбие удаан хугацаанд илэрдэг	- Вакцинжуулсныг халдвар авснаас ялгаварлахгүй - Эсрэгбие халдвар авснаас хойш багадаа 8-12 хоногийн дараа үүсэж эхэлдэг	(1) Адууны Африк мялзангийн вирусийн эсрэгбие илрүүлэх ИНЖЕЗИМ саатуулагч ЕЛИЗА цомог (B-ELISA INGEZIM AHSV Compac Plus 2.0) (Үйлдвэрлэгч: Gold Standard Diagnostics); Durán-Ferrer

			вируст эерэг 20 адууны ийлдэс, Эпизоот цусархаг халдварын вируст эерэг 9 бугын ийлдэс (1) ДМАЭМБ-ын лавлах материалын цуглуулгад хадгалагдаж байгаа адууны овгийн өөр өөр зүйлийн амьтнаас авсан, эерэг байдлын түвшин нь ялгаатай 7 ийлдэс (1) AHS9 омгоор зориуд халдварлуулсан 2 адууны 7 ийлдэс (1) ЕХЛЛ-иос 2014-2020 онд зохион байгуулсан ур чадварын сорилд ашигласан 70 дээж (1) Вакцинжуулсан, зориуд халдвар хийсэн, байгалийн халдвар авсан адууны овгийн амьтны 129 эерэг дээж, цоо эрүүл адууны овгийн амьтны 57 ийлдэс				нар (2019) (2) Адууны Африк мялзангийн вирус илрүүлэх АйДиСкрин шууд бус ЕЛИЗА цомог (I-ELISA IDScreen AHSV indirect (Үйлдвэрлэгч: IDVET)
ВСУ ☑☐☐ Адууны овгийнхон	Ийлдэс (ийлдсэн хэвшилд өвөрмөц, VP2 уургийн эсрэг саармагжуулагч эсрэгбие)	ОМч > 95% (халдвар авсан амьтан) ОӨч > 99%	(1) AHS1–AHS9 омгоор зориуд халдварлуулсан хонины 18 ийлдэс (2) AHS9 омгоор зориуд халдварлуулсан 2 адууны 7 ийлдэс	LCV (ЕХЛЛ)-д орбивирусыг ийлдсэнд саармагжуулах урвалыг баталгаажуулсан баримт бичиг	- Ийлдэсний дээжээс ийлдсэн хэвшил тогтоох боломжтой	- Вакцинжуулсныг халдвар авснаас ялгаварлахгүй - Бүх ийлдсэн хэвшлийн амьд омог, мэдрэг эсийн өсгөвөр бэлэн байгаа эсэхээс хамаарна - Ийлдсэн хэвшил солбицон урвалд орж болзошгүй - Хугацаа их шаарддаг - Ажиллагаа ихтэй - Лабораторийн биоаюулгүй ажиллагааны шаардлага тавигдана – Биоаюулгүйн 3-р	

						зэрэглэл	
ХХУ ☑☐☐ Адууны овгийнхон	Ийлдэс	Байхгүй	Байхгүй	Байхгүй	- Халдвар аваад удаагүй эсхүл вакцинжуулсны дараа хэрэглэхэд тохирмжтой	- Хавсаргын эсрэг идэвхтэй ийлдэс олон байдаг - ЕЛИЗА-тай харьцуулахад мэдрэх чанар бага - ЕЛИЗА-тай харьцуулахад стандартчилах боломж бага	

*Ийлдэс судлалын шинжилгээний хувьд ДМАЭМБ-ын Газрын амьтны эрүүл мэндийн кодексын 12.1-р бүлэг "Адууны Африк мялзан өвчний вирусийн халдвар", 12.1.7-р зүйл "Адууны Африк мялзан өвчний халдвартай улс эсхүл бүсээс импортлоход өгөх зөвлөмж"-д заасны дагуу ийлдэсний хос дээж шаардлагатай.

Хавсралт 3: Адууны Африк Мялзан
Шинжилгээний зорилго: Өвчний устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Шинжилсэн популяци	Баталгаажуулалтын тайлан	Давуу тал	Сул тал	Эх сурвалж
Үүсгэгчийг ялган тогтоох							
Бодит цагийн УТ-ПГУ ☑☑☑ Адууны овгийхон	ЭДТА цус/эд (VP7)	(1) ОМч 97% ОӨч 100% (2) ОМч >99.9% ОӨч > 97.8%	(1) Сөрөг болох нь тогтоогдсон 186, эерэг болох нь тогтоогдсон 132 дээж (2) Сэжигтэй тохиолдлоос цуглуулсан 503 адууны цусны дээж; адууны 2 тусдаа популяцийг (503 болон 98 адуу) сөрөг хяналт болгон ашигласан.	(1) LCV (ЕХ-ЛЛ)-д баталгаажуулж, тайланг ДМАЭМБ-д хүргүүлэн, ДМАЭМБ-ын Bulletin № 2016-1-д нийтэлсэн. (2) CVR (ДМЭАМБ-ын ЛЛ)-д баталгаажуулж, тайланг ДМАЭМБ-д хүргүүлэн, Guthrie нар нийтлүүлсэн (2013).	-Мэдрэх болон өвөрмөц чанар, үр дүнгийн тохирц өндөр -Өндөр бүтээмжтэй -Хөндлөн бохирдох эрсдэл хамгийн бага -Вирус цусанд үржиж өнгөрсний дараа, түүнчлэн муудсан, идэвхгүйжсэн дээжид ч вирусийн геномыг илрүүлэх боломжтой буюу халдварлах чанараа алдсан дээжид хэрэглэж болно	- Тоног төхөөрөмж, урвалжийн өртөг өндөр - Амьд үлдсэн амьтны цусанд үжих вирус нь эсрэгбиеийн илрэх хугацаатай харьцуулахад богино - ААМ өвчний сулруулсан амьд вакцинаар вакцинжуулсан амьтанд вирусийн геном вакцинжуулснаас хойш 16 долоо хоног илэрч болохыг тогтоосон	(1) Agüero нар (2008) (2) Guthrie нар (2013) Quan нар (2010)

Агарозын гельд суурилсан УТ-ПГУ ☑☑☐	ЭДТА цус/эд (VP7)	Байхгүй	Байхгүй		- Бодит цагийн УТ-ПГУ-д ашигладгаас харьцангуй хямд багаж, төхөөрөмж шаардагддаг - Мэдрэх болон өвөрмөц чанар, үр дүнгийн тохирц өндөр - Халдварлах чанараа алдсан дээжид хэрэглэж болно	- Шинжлэх хугацаа бодит цагийн УТ-ПГУ-аас илүү удаан - Өндөр бүтээмжтэй шинжилгээнд тохирохгүй - Хөндлөн бохирдох эрсдэлтэй -Амьд үлдсэн амьтны цусанд үжих вирус нь эсрэгбиеийн илрэх хугацаатай харьцуулахад богино -	Zientara нар (1994)
Вирус ялган авах ☐☐☐	ЭДТА цус/эд	ОМч ≥ 50% ОӨч > 99%	- Испанид 2007–2018 онд гарсан хэл хөхрөх өвчний дэгдэлтээр байгалийн халдвар авсан амьтнаас цуглуулсан 91 цусны эерэг дээж (Бүх орбивируст хамтатган баталгаажуулсан) - AHSV- 9 омгоор зориуд халдварлуулсан адуунаас авсан 12 эдийн дээж	LCV (ЕХ-ЛЛ)-д орбивирус ялган авсан аргын баталгаажуулалтын баримт бичиг	- Халдварлах чадвартай вирусийг илрүүлнэ - Цаашдын судалгаанд ашиглах өсгөвөр гарган авах боломжтой	- Хугацаа их шаарддаг - Ажиллагаа ихтэй - Вирус цусанд үжих үеийн дээж шаардагдана. - Сайн хадгалаасласан дээж шаардагдана - Лабораторийн биоаюулгүй ажиллагааны шаардлага тавигдана – Биоаюулгүйн 3-р зэрэглэл - Эсийн өсгөвөр шаардлагатай - Мэдрэх чанар сул	
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх							
ЕЛИЗА (VP7-д суурилсан, ийлдсэн бүлэгт өвөрмөц) ☑☑☐ Адууны овгийнхон	Ийлдэс (VP7-ийн эсрэгбие)	(1) ОМч ≥ 95% ОӨч > 99% (2) ОМч ≥ 99% ОӨч > 99%	(1, 2) AAM1-AHS9 омгоор халдвар хийсэн ямаа, хонь, усан гахайн ийлдэс (1) Байгалийн халдвар авсан, ВСУ-аар эерэг есөн адууны ийлдэс (1) Вакцинжуулсан, ВСУ-аар ийлдсийн хэвшлийг тогтоосон 152 адууны ийлдэс	(1, 2) Үйлдвэрлэгчийн баталгаажуулсан аргын гэрчилгээ (1) LCV (ЕХ-ЛЛ)-д Адууны Африк мялзангийн вирусийн эсрэгбие илрүүлэх саатуулагч ЕЛИЗА-д хийсэн баталгаажуулалтын баримт бичиг. Баталгаажуулалтын 3-р	- Мэдрэх болон өвөрмөц чанар өндөр - Худалдаанд бэлэн (саатуулагч болон шууд бус ЕЛИЗА) - Зардал бага -VP7 уураг нь бүх ийлдсэн хэвшилд ижил байна. - Халдвар авсан амьтанд эсрэгбие	- Вакцинжуулсныг халдвар авснаас ялгаварлахгүй - Эсрэгбие аль ийлдсэн хэвшилд өвөрмөц болохыг ялгаварлахгүй - Эсрэгбие халдвар авснаас хойш багадаа 8-12 хоногийн дараа үүсэж эхэлдэг	(1) Адууны Африк мялзангийн вирус илрүүлэх ИНЖЕЗИМ саатуулагч ЕЛИЗА цомог (B-ELISA INGEZIM AHSV Compac Plus 2.0) (Үйлдвэрлэгч:

			(1, 2) Өвчингүй нутгийн адууны ийлдэс (512, 1015) (1) Хэл хөхрөх өвчний вируст эерэг 24 үхэр, Адууны тараагуур судасны үрэвслийн вируст эерэг 20 адууны ийлдэс, Эпизоот цусархаг халдварын вируст эерэг 9 бугын ийлдэс (1) ДМАЭМБ-ын лавлах материалын цуглуулгад хадгалагдаж байгаа адууны овгийн өөр өөр зүйлийн амьтнаас авсан, эерэг байдлын түвшин нь ялгаатай 7 ийлдэс (1) AHS9 омгоор зориуд халдварлуулсан 2 адууны 7 ийлдэс (1) ЕХЛЛ-иос 2014-2020 онд зохион байгуулсан ур чадварын сорилд ашигласан 70 дээж (1) Вакцинжуулсан, зориуд халдвар хийсэн, байгалийн халдвар авсан адууны овгийн амьтны 129 эерэг дээж, цоо эрүүл адууны овгийн амьтны 57 ийлдэс	үе шатыг Durán- Ferrer нар нийтлүүлсэн (2019).	удаан хугацаанд илэрдэг		Gold Standard Diagnostics); Durán-Ferrer нар (2019) (2) Адууны Африк мялзангийн вирус илрүүлэх АйДиСкрин шууд бус ЕЛИЗА цомог (I-ELISA IDScreen AHSV indirect (Үйлдвэрлэгч: IDVET)
ВСУ □□□ Адууны овгийнхон	Ийлдэс (ийлдсэн хэвшилд өвөрмөц, VP2 уургийн эсрэг саармагжуулагч эсрэгбие)	ОМч > 95% (халдвар авсан амьтан) ОӨч > 99%	(1) AHS1–AHS9 омгоор зориуд халдварлуулсан хонины 18 ийлдэс (2) AHS9 омгоор зориуд халдварлуулсан 2 адууны 7 ийлдэс	LCV (ЕХЛЛ)-д орбивирусыг ийлдсэнд саармагжуулах урвалыг баталгаажуулсан баримт бичиг	- Ийлдэсний дээжээс ийлдсэн хэвшил тогтоох боломжтой	- Вакцинжуулсныг халдвар авснаас ялгаварлахгүй - Бүх ийлдсэн хэвшлийн амьд омог, мэдрэг эсийн өсгөвөр бэлэн байгаа эсэхээс хамаарна - Ийлдсэн хэвшил солбицон урвалд орж болзошгүй - Хугацаа их шаарддаг	

						- Ажиллагаа ихтэй - Лабораторийн биоаюулгүй ажиллагааны шаардлага тавигдана – Биоаюулгүйн 3-р зэрэглэл	
ХХУ ☑☐☐ Адууны овгийнхон	Ийлдэс	Байхгүй	Байхгүй	Байхгүй	- Халдвар аваад удаагүй эсхүл вакцинжуулсны дараа хэрэглэхэд тохирмжтой	- Хавсаргын эсрэг идэвхтэй ийлдэс олон байдаг - ЕЛИЗА-тай харьцуулахад мэдрэх чанар бага - ЕЛИЗА-тай харьцуулахад стандартчилах боломж бага	

Хавсралт 4: Адууны Африк Мялзан Шинжилгээний зорилго: Эмнэлзүйн тохиолдлыг баталгаажуулах

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Шинжилсэн популяци	Баталгаажуулалтын тайлан	Давуу тал	Сул тал	Эх сурвалж
Үүсгэгчийг ялган тогтоох							
Бодит цагийн УТ-ПГУ ☑☑☑ Адууны овгийхон	ЭДТА цус/эд (VP7)	(1) ОМч 97% ОӨч 100% (2) ОМч >99.9% ОӨч > 97.8%	(1) Сөрөг болох нь тогтоогдсон 186, эерэг болох нь тогтоогдсон 132 дээж (2) Сэжигтэй тохиолдлоос цуглуулсан 503 адууны цусны дээж; адууны 2 тусдаа популяцийг (503 болон 98 адуу) сөрөг хяналт болгон ашигласан.	(1) LCV (ЕХ-ЛЛ)-д баталгаажуулж, тайланг ДМАЭМБ-д хүргүүлэн, ДМАЭМБ-ын Bulletin № 2016-1-д нийтэлсэн. (2) CVR (ДМЭАМБ-ын ЛЛ)-д баталгаажуулж, тайланг ДМАЭМБ-д хүргүүлэн, Guthrie нар нийтлүүлсэн (2013).	-Мэдрэх болон өвөрмөц чанар, үр дүнгийн тохирц өндөр -Өндөр бүтээмжтэй -Хөндлөн бохирдох эрсдэл хамгийн бага -Вирус цусанд үржиж өнгөрсний дараа, түүнчлэн муудсан, идэвхгүйжсэн дээжид ч вирусийн геномыг илрүүлэх боломжтой буюу халдварлах чанараа алдсан дээжид хэрэглэж болно	- Тоног төхөөрөмж, урвалжийн өртөг өндөр - Амьд үлдсэн амьтны цусанд үжих вирус нь эсрэгбиеийн илрэх хугацаатай харьцуулахад богино - ААМ өвчний сулруулсан амьд вакцинаар вакцинжуулсан амьтанд вирусийн геном вакцинжуулснаас хойш 16 долоо хоног илэрч болохыг тогтоосон	(1) Agüero нар (2008) (2) Guthrie нар (2013) Quan нар (2010)

Агарозын гельд суурилсан УТ-ПГУ ☑☑☐	ЭДТА цус/эд (VP7)	Байхгүй	Байхгүй		- Бодит цагийн УТ-ПГУ-д ашигладгаас харьцангуй хямд багаж, төхөөрөмж шаардагддаг - Мэдрэх болон өвөрмөц чанар, үр дүнгийн тохирц өндөр - Халдварлах чанараа алдсан дээжид хэрэглэж болно	- Шинжлэх хугацаа бодит цагийн УТ-ПГУ-аас илүү удаан - Өндөр бүтээмжтэй шинжилгээнд тохирохгүй - Хөндлөн бохирдох эрсдэлтэй -Амьд үлдсэн амьтны цусанд үжих вирус нь эсрэгбиеийн илрэх хугацаатай харьцуулахад богино -	Zientara нар (1994)
Вирус ялган авах ☑☑☑	ЭДТА цус/эд	ОМч ≥ 50% ОӨч > 99%	- Испанид 2007–2018 онд гарсан хэл хөхрөх өвчний дэгдэлтээр байгалийн халдвар авсан амьтнаас цуглуулсан 91 цусны эерэг дээж (Бүх орбивируст хамтатган баталгаажуулсан) - AHSV- 9 омгоор зориуд халдварлуулсан адуунаас авсан 12 эдийн дээж	LCV (ЕХ-ЛЛ)-д орбивирус ялган авсан аргын баталгаажуулалтын баримт бичиг	- Халдварлах чадвартай вирусийг илрүүлнэ - Цаашдын судалгаанд ашиглах өсгөвөр гарган авах боломжтой	- Хугацаа их шаарддаг - Ажиллагаа ихтэй - Вирус цусанд үжих үеийн дээж шаардагдана. - Сайн хадгалаасласан дээж шаардагдана - Лабораторийн биоаюулгүй ажиллагааны шаардлага тавигдана – Биоаюулгүйн 3-р зэрэглэл - Эсийн өсгөвөр шаардлагатай - Мэдрэх чанар сул	
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх							
ЕЛИЗА (VP7-д суурилсан, ийлдсэн бүлэгт өвөрмөц) ☑☐☐ Адууны овгийнхон	Ийлдэс (VP7-ийн эсрэгбие)	(1) ОМч ≥ 95% ОӨч > 99% (2) ОМч ≥ 99% ОӨч > 99%	(1, 2) AAM1-AHS9 омгоор халдвар хийсэн ямаа, хонь, усан гахайн ийлдэс (1) Байгалийн халдвар авсан, ВСУ-аар эерэг есөн адууны ийлдэс (1) Вакцинжуулсан, ВСУ-аар ийлдсийн хэвшлийг тогтоосон 152 адууны ийлдэс	(1, 2) Үйлдвэрлэгчийн баталгаажуулсан аргын гэрчилгээ (1) LCV (ЕХ-ЛЛ)-д Адууны Африк мялзангийн вирусийн эсрэгбие илрүүлэх саатуулагч ЕЛИЗА-д хийсэн баталгаажуулалтын баримт бичиг. Баталгаажуулалтын 3-р	- Мэдрэх болон өвөрмөц чанар өндөр - Худалдаанд бэлэн (саатуулагч болон шууд бус ЕЛИЗА) - Зардал бага -VP7 уураг нь бүх ийлдсэн хэвшлүүдэд ижил байна. - Халдвар авсан амьтанд эсрэгбие	- Вакцинжуулсныг халдвар авснаас ялгаварлахгүй - Эсрэгбие аль ийлдсэн хэвшилд өвөрмөц болохыг ялгаварлахгүй - Эсрэгбие халдвар авснаас хойш багадаа 8-12 хоногийн дараа үүсэж эхэлдэг	(1) Адууны Африк мялзангийн вирус илрүүлэх ИНЖЕЗИМ саатуулагч ЕЛИЗА цомог (B-ELISA INGEZIM AHSV Compac Plus 2.0) (Үйлдвэрлэгч:

			(1, 2) Өвчингүй нутгийн адууны ийлдэс (512, 1015) (1) Хэл хөхрөх өвчний вируст эерэг 24 үхэр, Адууны тараагуур судасны үрэвслийн вируст эерэг 20 адууны ийлдэс, Эпизоот цусархаг халдварын вируст эерэг 9 бугын ийлдэс (1) ДМАЭМБ-ын лавлах материалын цуглуулгад хадгалагдаж байгаа адууны овгийн өөр өөр зүйлийн амьтнаас авсан, эерэг байдлын түвшин нь ялгаатай 7 ийлдэс (1) AHS9 омгоор зориуд халдварлуулсан 2 адууны 7 ийлдэс (1) ЕХЛЛ-иос 2014-2020 онд зохион байгуулсан ур чадварын сорилд ашигласан 70 дээж (1) Вакцинжуулсан, зориуд халдвар хийсэн, байгалийн халдвар авсан адууны овгийн амьтны 129 эерэг дээж, цоо эрүүл адууны овгийн амьтны 57 ийлдэс	үе шатыг Durán- Ferrer нар нийтлүүлсэн (2019).	удаан хугацаанд илэрдэг		Gold Standard Diagnostics); Durán-Ferrer нар (2019) (2) Адууны Африк мялзангийн вирус илрүүлэх АйДиСкрин шууд бус ЕЛИЗА цомог (I-ELISA IDScreen AHSV indirect (Үйлдвэрлэгч: IDVET)
ВСУ □□□ Адууны овгийнхон	Ийлдэс (ийлдсэн хэвшилд өвөрмөц, VP2 уургийн эсрэг саармагжуулагч эсрэгбие)	ОМч > 95% (халдвар авсан амьтан) ОӨч > 99%	(1) AHS1–AHS9 омгоор зориуд халдварлуулсан хонины 18 ийлдэс (2) AHS9 омгоор зориуд халдварлуулсан 2 адууны 7 ийлдэс	LCV (ЕХЛЛ)-д орбивирусыг ийлдсэнд саармагжуулах урвалыг баталгаажуулсан баримт бичиг	- Ийлдэсний дээжээс ийлдсэн хэвшил тогтоох боломжтой	- Вакцинжуулсныг халдвар авснаас ялгаварлахгүй - Бүх ийлдсэн хэвшлийн амьд омог, мэдрэг эсийн өсгөвөр бэлэн байгаа эсэхээс хамаарна - Ийлдсэн хэвшил солбицон урвалд орж болзошгүй - Хугацаа их шаарддаг	

						- Ажиллагаа ихтэй - Лабораторийн биоаюулгүй ажиллагааны шаардлага тавигдана – Биоаюулгүйн 3-р зэрэглэл	
ХХУ ☑☐☐ Адууны овгийнхон	Ийлдэс	Байхгүй	Байхгүй	Байхгүй	- Халдвар аваад удаагүй эсхүл вакцинжуулсны дараа хэрэглэхэд тохирмжтой	- Хавсаргын эсрэг идэвхтэй ийлдэс олон байдаг - ЕЛИЗА-тай харьцуулахад мэдрэх чанар бага - ЕЛИЗА-тай харьцуулахад стандартчилах боломж бага	

Хавсралт 5: Адууны Африк Мялзан Шинжилгээний зорилго Халдварын тархалт - тандалт

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Шинжилсэн популяци	Баталгаажуулалтын тайлан	Давуу тал	Сул тал	Эх сурвалж
Үүсгэгчийг ялган тогтоох							
Бодит цагийн УТ-ПГУ ☑☑☐ Адууны овгийхон	ЭДТА цус/эд (VP7)	(1) ОМч 97% ОӨч 100% (2) ОМч >99.9% ОӨч > 97.8%	(1) Сөрөг болох нь тогтоогдсон 186, эерэг болох нь тогтоогдсон 132 дээж (2) Сэжигтэй тохиолдлоос цуглуулсан 503 адууны цусны дээж; адууны 2 тусдаа популяцийг (503 болон 98 адуу) сөрөг хяналт болгон ашигласан.	(1) LCV (ЕХ-ЛЛ)-д баталгаажуулж, тайланг ДМАЭМБ-д хүргүүлэн, ДМАЭМБ-ын Bulletin № 2016-1-д нийтэлсэн. (2) CVR (ДМЭАМБ-ын ЛЛ)-д баталгаажуулж, тайланг ДМАЭМБ-д хүргүүлэн, Guthrie нар нийтлүүлсэн (2013).	-Мэдрэх болон өвөрмөц чанар, үр дүнгийн тохирц өндөр -Өндөр бүтээмжтэй -Хөндлөн бохирдох эрсдэл хамгийн бага -Вирус цусанд үржиж өнгөрсний дараа, түүнчлэн муудсан, идэвхгүйжсэн дээжид ч вирусийн геномыг илрүүлэх боломжтой буюу халдварлах чанараа алдсан дээжид хэрэглэж болно	- Тоног төхөөрөмж, урвалжийн өртөг өндөр - Амьд үлдсэн амьтны цусанд үжих вирус нь эсрэгбиеийн илрэх хугацаатай харьцуулахад богино - ААМ өвчний сулруулсан амьд вакцинаар вакцинжуулсан амьтанд вирусийн геном вакцинжуулснаас хойш 16 долоо хоног илэрч болохыг тогтоосон	(1) Agüero нар (2008) (2) Guthrie нар (2013) Quan нар (2010)

Агарозын гельд суурилсан УТ-ПГУ ☑☐☐	ЭДТА цус/эд (VP7)	Байхгүй	Байхгүй		- Бодит цагийн УТ-ПГУ-д ашигладгаас харьцангуй хямд багаж, төхөөрөмж шаардагддаг - Мэдрэх болон өвөрмөц чанар, үр дүнгийн тохирц өндөр - Халдварлах чанараа алдсан дээжид хэрэглэж болно	- Шинжлэх хугацаа бодит цагийн УТ-ПГУ-аас илүү удаан - Өндөр бүтээмжтэй шинжилгээнд тохирохгүй - Хөндлөн бохирдох эрсдэлтэй -Амьд үлдсэн амьтны цусанд үжих вирус нь эсрэгбиеийн илрэх хугацаатай харьцуулахад богино -	Zientara нар (1994)
Вирус ялган авах ☐☐☐	ЭДТА цус/эд	ОМч ≥ 50% ОӨч > 99%	- Испанид 2007–2018 онд гарсан хэл хөхрөх өвчний дэгдэлтээр байгалийн халдвар авсан амьтнаас цуглуулсан 91 цусны эерэг дээж (Бүх орбивируст хамтатган баталгаажуулсан) - AHSV- 9 омгоор зориуд халдварлуулсан адуунаас авсан 12 эдийн дээж	LCV (EX-ЛЛ)-д орбивирус ялган авсан аргын баталгаажуулалтын баримт бичиг	- Халдварлах чадвартай вирусийг илрүүлнэ - Цаашдын судалгаанд ашиглах өсгөвөр гарган авах боломжтой	- Хугацаа их шаарддаг - Ажиллагаа ихтэй - Вирус цусанд үжих үеийн дээж шаардагдана. - Сайн хадгалаасласан дээж шаардагдана - Лабораторийн биоаюулгүй ажиллагааны шаардлага тавигдана – Биоаюулгүйн 3-р зэрэглэл - Эсийн өсгөвөр шаардлагатай - Мэдрэх чанар сул	
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх							
ЕЛИЗА (VP7-д суурилсан, ийлдсэн бүлэгт өвөрмөц) ☑☑☑ Адууны овгийнхон	Ийлдэс (VP7-ийн эсрэгбие)	(1) ОМч ≥ 95% ОӨч > 99% (2) ОМч ≥ 99% ОӨч > 99%	(1, 2) AAM1-AHS9 омгоор халдвар хийсэн ямаа, хонь, усан гахайн ийлдэс (1) Байгалийн халдвар авсан, ВСУ-аар эерэг есөн адууны ийлдэс (1) Вакцинжуулсан, ВСУ-аар ийлдсийн хэвшлийг тогтоосон 152 адууны ийлдэс	(1, 2) Үйлдвэрлэгчийн баталгаажуулсан аргын гэрчилгээ (1) LCV (EX-ЛЛ)-д Адууны Африк мялзангийн вирусийн эсрэгбие илрүүлэх саатуулагч ЕЛИЗА-д хийсэн баталгаажуулалтын баримт бичиг. Баталгаажуулалтын 3-р	- Мэдрэх болон өвөрмөц чанар өндөр - Худалдаанд бэлэн (саатуулагч болон шууд бус ЕЛИЗА) - Зардал бага -VP7 уураг нь бүх ийлдсэн хэвшлүүдэд ижил байна. - Халдвар авсан амьтанд эсрэгбие	- Вакцинжуулсныг халдвар авснаас ялгаварлахгүй - Эсрэгбие аль ийлдсэн хэвшилд өвөрмөц болохыг ялгаварлахгүй - Эсрэгбие халдвар авснаас хойш багадаа 8-12 хоногийн дараа үүсэж эхэлдэг	(1) Адууны Африк мялзангийн вирус илрүүлэх ИНЖЕЗИМ саатуулагч ЕЛИЗА цомог (B-ELISA INGEZIM AHSV Compac Plus 2.0) (Үйлдвэрлэгч:

			(1, 2) Өвчингүй нутгийн адууны ийлдэс (512, 1015) (1) Хэл хөхрөх өвчний вируст эерэг 24 үхэр, Адууны тараагуур судасны үрэвслийн вируст эерэг 20 адууны ийлдэс, Эпизоот цусархаг халдварын вируст эерэг 9 бугын ийлдэс (1) ДМАЭМБ-ын лавлах материалын цуглуулгад хадгалагдаж байгаа адууны овгийн өөр өөр зүйлийн амьтнаас авсан, эерэг байдлын түвшин нь ялгаатай 7 ийлдэс (1) AHS9 омгоор зориуд халдварлуулсан 2 адууны 7 ийлдэс (1) ЕХЛЛ-иос 2014-2020 онд зохион байгуулсан ур чадварын сорилд ашигласан 70 дээж (1) Вакцинжуулсан, зориуд халдвар хийсэн, байгалийн халдвар авсан адууны овгийн амьтны 129 эерэг дээж, цоо эрүүл адууны овгийн амьтны 57 ийлдэс	үе шатыг Durán- Ferrer нар нийтлүүлсэн (2019).	удаан хугацаанд илэрдэг		Gold Standard Diagnostics); Durán-Ferrer нар (2019) (2) Адууны Африк мялзангийн вирус илрүүлэх АйДиСкрин шууд бус ЕЛИЗА цомог (I-ELISA IDScreen AHSV indirect (Үйлдвэрлэгч: IDVET)
ВСУ ☑☐☐ Адууны овгийнхон	Ийлдэс (ийлдсэн хэвшилд өвөрмөц, VP2 уургийн эсрэг саармагжуулагч эсрэгбие)	ОМч > 95% (халдвар авсан амьтан) ОӨч > 99%	(1) AHS1–AHS9 омгоор зориуд халдварлуулсан хонины 18 ийлдэс (2) AHS9 омгоор зориуд халдварлуулсан 2 адууны 7 ийлдэс	LCV (ЕХЛЛ)-д орбивирусийг ийлдсэнд саармагжуулах урвалыг баталгаажуулсан баримт бичиг	- Ийлдэсний дээжээс ийлдсэн хэвшил тогтоох боломжтой	- Вакцинжуулсныг халдвар авснаас ялгаварлахгүй - Бүх ийлдсэн хэвшлийн амьд омог, мэдрэг эсийн өсгөвөр бэлэн байгаа эсэхээс хамаарна - Ийлдсэн хэвшил солбицон урвалд орж болзошгүй - Хугацаа их шаарддаг	

						- Ажиллагаа ихтэй - Лабораторийн биоаюулгүй ажиллагааны шаардлага тавигдана – Биоаюулгүйн 3-р зэрэглэл	
ХХУ ☑☐☐ Адууны овгийнхон	Ийлдэс	Байхгүй	Байхгүй	Байхгүй	- Халдвар аваад удаагүй эсхүл вакцинжуулсны дараа хэрэглэхэд тохирмжтой	- Хавсаргын эсрэг идэвхтэй ийлдэс олон байдаг - ЕЛИЗА-тай харьцуулахад мэдрэх чанар бага - ЕЛИЗА-тай харьцуулахад стандартчилах боломж бага	

Хавсралт 6: Адууны Африк Мялзан
Шинжилгээний зорилго: Вакцинжуулсан бодгаль эсхүл популяцийн дархлаа тогтцыг шалгах

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Шинжилсэн популяци	Баталгаажуулалтын тайлан	Давуу тал	Сул тал	Эх сурвалж
Үүсгэгчийг ялган тогтоох							
Бодит цагийн УТ-ПГУ ☐☐☐ Адууны овгийхон	ЭДТА цус/эд (VP7)	(1) ОМч 97% ОӨч 100% (2) ОМч >99.9% ОӨч > 97.8%	(1) Сөрөг болох нь тогтоогдсон 186, эерэг болох нь тогтоогдсон 132 дээж (2) Сэжигтэй тохиолдлоос цуглуулсан 503 адууны цусны дээж; адууны 2 тусдаа популяцийг (503 болон 98 адуу) сөрөг хяналт болгон ашигласан.	(1) LCV (ЕХ-ЛЛ)-д баталгаажуулж, тайланг ДМАЭМБ-д хүргүүлэн, ДМАЭМБ-ын Bulletin № 2016-1-д нийтэлсэн. (2) CVR (ДМЭАМБ-ын ЛЛ)-д баталгаажуулж, тайланг ДМАЭМБ-д хүргүүлэн, Guthrie нар нийтлүүлсэн (2013).	Энэ зорилгоор байхгүй	Энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй	(1) Agüero нар (2008) (2) Guthrie нар (2013) Quan нар (2010)

Агарозын гельд суурилсан УТ-ПГУ ☐☐☐	ЭДТА цус/эд (VP7)	Байхгүй	Байхгүй		- Энэ зорилгоор байхгүй	- Энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй	Zientara нар (1994)
Вирус ялган авах ☐☐☐	ЭДТА цус/эд	ОМч ≥ 50% ОӨч > 99%	- Испанид 2007–2018 онд гарсан хэл хөхрөх өвчний дэгдэлтээр байгалийн халдвар авсан амьтнаас цуглуулсан 91 цусны эерэг дээж (Бүх орбивируст хамтатган баталгаажуулсан) - AHSV- 9 омгоор зориуд халдварлуулсан адуунаас авсан 12 эдийн дээж	LCV (ЕХ-ЛЛ)-д орбивирус ялган авсан аргын баталгаажуулалтын баримт бичиг	- Энэ зорилгоор байхгүй	- Энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй	
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх							
ЕЛИЗА (VP7-д суурилсан, ийлдсэн бүлэгт өвөрмөц) ☑☑☐ Адууны овгийнхон	Ийлдэс (VP7-ийн эсрэгбие)	(1) ОМч ≥ 95% ОӨч > 99% (2) ОМч ≥ 99% ОӨч > 99%	(1, 2) AAM1-AHS9 омгоор халдвар хийсэн ямаа, хонь, усан гахайн ийлдэс (1) Байгалийн халдвар авсан, ВСУ-аар эерэг есөн адууны ийлдэс (1) Вакцинжуулсан, ВСУ-аар ийлдсийн хэвшлийг тогтоосон 152 адууны ийлдэс (1, 2) Өвчингүй нутгийн адууны ийлдэс (512, 1015) (1) Хэл хөхрөх өвчний вируст эерэг 24 үхэр, Адууны тараагуур судасны үрэвслийн вируст эерэг 20 адууны ийлдэс, Эпизоот цусархаг халдварын	(1, 2) Үйлдвэрлэгчийн баталгаажуулсан аргын гэрчилгээ (1) LCV (ЕХ-ЛЛ)-д Адууны Африк мялзангийн вирусийн эсрэгбие илрүүлэх саатуулагч ЕЛИЗА-д хийсэн баталгаажуулалтын баримт бичиг. Баталгаажуулалтын 3-р үе шатыг Durán- Ferrer нар нийтлүүлсэн (2019).	- Мэдрэх болон өвөрмөц чанар өндөр - Худалдаанд бэлэн (саатуулагч болон шууд бус ЕЛИЗА) - Зардал бага -VP7 уураг нь бүх ийлдсэн хэвшлүүдэд ижил байна. - Халдвар авсан амьтанд эсрэгбие удаан хугацаанд илэрдэг	- Вакцинжуулсныг халдвар авснаас ялгаварлахгүй - Эсрэгбие халдвар авснаас хойш багадаа 8-12 хоногийн дараа үүсэж эхэлдэг	(1) Адууны Африк мялзангийн вирус илрүүлэх ИНЖЕЗИМ саатуулагч ЕЛИЗА цомог (B-ELISA INGEZIM AHSV Compac Plus 2.0) (Үйлдвэрлэгч: Gold Standard Diagnostics); Durán-Ferrer нар (2019) (2) Адууны Африк мялзангийн вирус

			вируст эерэг 9 бугын ийлдэс (1) ДМАЭМБ-ын лавлах материалын цуглуулгад хадгалагдаж байгаа адууны овгийн өөр өөр зүйлийн амьтнаас авсан, эерэг байдлын түвшин нь ялгаатай 7 ийлдэс (1) AHS9 омгоор зориуд халдварлуулсан 2 адууны 7 ийлдэс (1) ЕХЛЛ-иос 2014-2020 онд зохион байгуулсан ур чадварын сорилд ашигласан 70 дээж (1) Вакцинжуулсан, зориуд халдвар хийсэн, байгалийн халдвар авсан адууны овгийн амьтны 129 эерэг дээж, цоо эрүүл адууны овгийн амьтны 57 ийлдэс				илрүүлэх АйДиСкрин шууд бус ЕЛИЗА цомог (I-ELISA IDScreen AHSV indirect (Үйлдвэрлэгч: IDVET)
ВСУ ☑☑☑ Адууны овгийнхон	Ийлдэс (ийлдсэн хэвшилд өвөрмөц, VP2 уургийн эсрэг саармагжуулагч эсрэгбие)	ОМч > 95% (халдвар авсан амьтан) ОӨч > 99%	(1) AHS1–AHS9 омгоор зориуд халдварлуулсан хонины 18 ийлдэс (2) AHS9 омгоор зориуд халдварлуулсан 2 адууны 7 ийлдэс	LCV (ЕХЛЛ)-д орбивирусыг ийлдсэнд саармагжуулах урвалыг баталгаажуулсан баримт бичиг	- Ийлдэсний дээжээс ийлдсэн хэвшил тогтоох боломжтой	- Бүх ийлдсэн хэвшлийн амьд омог, мэдрэг эсийн өсгөвөр бэлэн байгаа эсэхээс хамаарна - Ийлдсэн хэвшил солбицон урвалд орж болзошгүй - Хугацаа их шаарддаг - Ажиллагаа ихтэй - Лабораторийн биоаюулгүй ажиллагааны шаардлага тавигдана – Биоаюулгүйн 3-р зэрэглэл	
ХХУ ☑☐☐ Адууны овгийнхон	Ийлдэс	Байхгүй	Байхгүй	Байхгүй	- Халдвар аваад удаагүй эсхүл вакцинжуулсны дараа хэрэглэхэд тохирмжтой	- Хавсаргын эсрэг идэвхтэй ийлдэс олон байдаг - ЕЛИЗА-тай харьцуулахад мэдрэх	

						чанар бага - ЕЛИЗА-тай харьцуулахад стандартчилах боломж бага	

[1] 20.5 г декстроз (114 мМ), 7.9 г натрийн цитрат 2H2O (27 мМ), 4.2 г NaCl (71 мМ), 1 литр хүртэл ус нэмнэ. 1 М нимбэгийн хүчлээр pH-ийг тохируулна.

ЖИЧ: 1991 ОНД АНХ, 2025 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

БҮЛЭГ 32 (3.6.2)

ГҮҮНИЙ САВНЫ ХАВЬТАЛ ХАЛДВАРТ ҮРЭВСЭЛ

А. УДИРТГАЛ

1. Өвчний тодорхойлолт ба нөлөө

Гүүний савны хавьтал халдварт үрэвсэл өвчин (ГСХХҮӨ)-ийг анх Их Британид 1977 онд оношлон мэдээлснээс хойш дэлхийн хэд хэдэн улс оронд оношлогджээ. Уг өвчин эхэндээ савны дотор бүрхүүл болон савны хүзүүвчийн үрэвслээс үүсэлтэй салст идээ үтрээнээс гоожих, улмаар түр зуур үргүйдэх шинж үзүүлж өвчний дэгдэлт хэлбэрээр илэрч байв. Гүү уг өвчнөөр богино хугацаанд нэгээс олон удаа өвчилж болно. Ихэнх гүү аяандаа эдгэрдэг боловч зарим нь үүсгэгч бичил биетэн *Taylorella equigenitalis* (Тейлорела эквиженитализ)-ийг олон сараар тээгч болж үлддэг. Хээл авалтад энэ халдвар тэр бүр сөргөөр нөлөөлөхгүй, *T. equigenitalis*-аас шалтгаалсан хээл хаялт маш ховор тохиолдоно. Гүү анх өвчилсөн олон тохиолдолд эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрдэггүй бөгөөд халдвар ихэнх тохиолдолд үүсгэгч тээгч байж болзошгүй азаргатай эвцэлдсэний дараа гүүний ороо эрт орж байвал ихэнхдээ халдвар авсныг илтгэнэ. Халдвартай азарганд эмнэл зүйн шинж тэмдэг илрэхгүй.

Өвчний үүсгэгчийг тээгч байх нь бактери тархахад гол нөлөөтэй. Хээлтүүлгээр эсхүл голдуу үрийн шингэн авах явцад бохирддог зүйлд хүрэлцсэнээр азарганы шээс-үржлийн эрхтний замын бүрхэвч бохирдоно. Үүсгэгчийг олон сар, жилээр тээж болзошгүй. Үүсгэгчийг тээгч ихэнх гүүний үтрээний үүдэвч орчимд үүсгэгчийг тээх ба бичил биетнийг тархахад үржүүлгийн үеийн эрүүл ахуйн муу нөхцөл нөлөөлнө. Ийлдсэнд үүссэн эсрэгбие хэдхэн долоо хоног хадгалагддаг, энэ нь халдвар дэгдэх үед бүрэн түүнээс хамгаалж чаддаггүй учраас гагцхүү халдвар дамжин халдварлахаас сэргийлэх замаар уг халдвартай тэмцэнэ. Гэмтсэн хэсгийг үжил үүсгэлгүй угааж цэвэрлэхээс гадна антибиотик хэрэглэн үүсгэгч бичил биетнийг устгана. *Taylorella equigenitalis* хүнд халдварладаг эсэх нь тодорхойгүй бөгөөд биологийн эрсдэлийн дүн шинжилгээ хийж био тусгаарлалтын тохирох аргачлалыг мөрдөн лабораторид түүнтэй харьцаж ажиллана (1.4. Биоаюулгүйн ажиллагаа ба биохамгаалал: *Мал эмнэлгийн лаборатори, туршилтын амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандарт* бүлгийг үзэх).

2. Эмгэг төрүүлэгчийн мөн чанар болон ангилал

Taylorella equigenitalis нь Грам сөрөг, хөдөлгөөнгүй, ихэнхдээ янз бүрийн хэмжээтэй (6 мкм хүртэл урттай) бацилл эсхүл кокко-бацилл бөгөөд хоёр туйл нь будагдана. Биохимийн идэвхийг шалгахад энэ үүсгэгч каталаза, фосфатазад тус тус эерэг, оксидазад илт эерэг, бусад сорилд идэвхгүй байдаг.

3. Ялгаварлах оношилгоо

Өсгөвөрлөгдөхдөө амаргүй удаан ургадаг бичил биетнийг ялган авахын азарга болон гүүний үржлийн эрхтний замд өвчин үүсгэгч үүрлэх хэсгээс (шээс дамжуулагчийн хотгор, хөндий, шувтрах хэсэг, шамархай, хэлүүний хонхор, ховил, савны салст бүрхэвч) арчдас авч өсгөвөрлөх агаарын нөхцөлийг зөв тохируулан өсгөвөрлөгдөхдөө амаргүй удаан ургадаг энэхүү бичил биетнийг лабораторид ялган авна. Энэ аргыг адууны олон улсын шилжилт хөдөлгөөнд шардагдах шинжилгээнд чухалчлан хэрэглэдэг. Энэ шинжилгээнд зориулан биеийн аль хэсгээс арчдас авах байршлыг эрх бүхий этгээд ихэвчлэн тогтоож өгнө.

Эдүгээ Полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ), тэр дундаа бодит цагийн ПГУ гэх мэт молекул шинжилгээний аргыг арчдас болон өсгөврийн аяга аль алинаас *Taylorella*-ийг илрүүлэхэд түгээмэл ашиглаж байна. Эдгээр аргын давуу тал нь үр дүнгээ түргэн гаргадаг бөгөөд *T. equigenitalis* болон *T. Asinigenitalis*-ийг ялгаварлаж чадна.

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Гүүний савны хавьтал халдварт үрэвслийг оношлох шинжилгээний арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүйг тогтоох	Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах	Халдварын тархалт тогтоох – Тандалт	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгчийг илрүүлэх, ялган тогтоох						
Бактерийг ялган авч дүйн тогтоох	+++	+++	+++	+++	+++	–
ШБФЭБУ	+	+	+	+	+	–
Бодит цагийн ПГУ	+++	+++	+++	+++	+++	–

Түлхүүр үг:

+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;

– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй;

ПГУ = полимеразагийн гинжин урвал;

ШБФЭБУ= Шууд бус флюоресцент эсрэгбиеийн урвал

1. Үүсгэгчийг илрүүлэх, ялган тогтоох

1.1. Өсгөвөрлөх арга

Taylorella-г өсгөвөрлөх, ялган тогтоохын өмнө сорьц авах, зөөвөрлөхдөө онцгой анхаарах шаардлагатай. Арчдасыг бактерийн бодисын солилцооны саатуулах үйлчлэлтэй дайвар бүтээгдэхүүнийг шингээдэг Amies тэжээлт орчин зэрэг идэвхжүүлсэн нүүрстэй зөөвөрлөх тэжээлт орчинд хийж тээвэрлэнэ (Swerczek, 1978). Арчдасд агуулагдах амьдрах чадвартай *T. equigenitalis*-ийн тоо удах тусам, тэр дундаа өндөр температуртай нөхцөлд бүр илүүтэй цөөрнө (Sahu нар, 1979). Арчдасыг тээвэрлэх хугацаанд хүйтэн нөхцөлд байлгаж ирүүлэх ба хүлээн авснаас хойш 48 цагийн дотор лабораторид суулгалт хийнэ.

Азарганы шээс-бэлгийн замын мембранд төрөл бүрийн бактери комменсал байдлаар хор хөнөөлгүй орших учраас тэнд байгаа *T. Equigenitalis*-ийг далдлан түүнийг өсгөвөрлөхөд саад учруулна. Угаах болон антибиотикоор эмчлэн энэ энэ өвчинтэй тэмцэх ба амьдрах чадвараа алдах шахсан *T. equigenitalis* үлдэж шээс бэлгийн замын мембранд орогнох боловч уг бичил биетэн лабораторийн тэжээлт орчинд ургаж чадахгүй. Ийм учраас эмчилгээнээс хойш 7 хоног (системийн эмчилгээ) эсхүл 21 хоног (хэсэг газрын эмчилгээ) өнгөртөл арчдас дахин авахгүй байх хэрэгтэй.

Угаасаа өсгөвөрлөгдөхдөө амаргүй учраас *T. equigenitalis*-ийг ялган авахад хэцүү. Үүсгэгч тээгч эсэхийг илрүүлэх илүү мэдрэмтгий арга нь азаргыг үржүүлэгт ашиглан шалгах арга бөгөөд энэ нь үүсгэгчийг өсгөвөрлөн шалгах аргад нэмэлт чухал арга болж өгдөг. Азарганы үржлийн гадаад эрхтэн дээрх *Taylorella* present-ийн тоо дан өсгөвөрлөх аргаар баригдахгүй өнгөрч болох учраас үржүүлгээр шалгах туршилтад оруулсан гүүний биед үржүүлэн олшруулсны дараа илрүүлж болно. Үржүүлэгт ашиглах замаар шалгах оношилгооны нэмэлт энэ аргыг хэрэглэх нь ялангуяа гүүний савны хавьтал халдварт үрэвслээр тайван улсад онцгой ач холбогдолтой.

Агарын суурийг уусган сэргээж адууны задарсан цус 5% (э/э)-иар нэмээд 70–80°C хүртэл 12 минут халааж (‘шоколадан’ цустай агар) тэжээлт орчин бэлтгээд түүнийгээ 45–50°C хүртэл хөргөн триметоприм (1 мкг/мл), клиндамицин (5 мкг/мл), амфотерицин B (5–15 мкг/мл) нэмнэ (Timoney & Powell, 1982). Адууны задармал цусанд агуулагдах тимидин фосфорилаза нь тимидинийг идэвхгүйжүүлэх учраас триметоприм нь сонгомол үйлчлэлээ үзүүлнэ. *T. equigenitalis*-ийг ялган авахад энэ тэжээлт орчныг эрхэмлэн хэрэглэдэг бөгөөд түүнд арчдас тус бүрээс тарилт хийнэ. Энэ орчинд комменсиал олон бактерийн ургалт дарангуйлагдаж мөөгөнцрийн ургалт саатуулагдах тул эмгэг төрүүлэгчийн стрептомицинд мэдрэг болон тэсвэртэй аль ч биохэвшлийг найдвартай ялган авч болно. Зарим

үйлдвэрлэгч *T. equigenitalis*-ийн ургалтыг дэмждэг пептонт агарын суурь үйлдвэрлэдэг. Исгэлтэд оролцдог нүүрс ус агуулдаггүй байх нь *T. equigenitalis*-д зориулсан бүх сайн үнэлэгддэг орчны чухал шинж чанар юм. Бусад бактерийн нөлөөгөөр нүүрс ус исгэлтэд оролцох нь *T. equigenitalis*-ийн ургалтыг саатуулна (Atherton, 1983; Fernie нар, 1980). Стрептомицин сульфат (200 мкг/мл) агуулсан гурав дахь тэжээлт орчныг *T. equigenitalis*-ыг далдалж болзошгүй (Swerczek, 1978) бусад бактерийн ургалтыг саатуулах зорилгоор хэрэглэж болох боловч энэ орчин дээр стрептомицинд мэдрэг био хэвшил илрэхгүй учраас түүнийг зөвхөн стрептомицингүй тэжээлт орчинтой хамт хэрэглэнэ. Бүх тэжээлт орчны чанарыг шалгах шаардлагатай бөгөөд тэдгээрийг өвчний сэжигтэй дээжид хэрэглэхээсээ өмнө уг халдварт сэжиглэж байгаа бичил биетнээр жижиг хэмжээний тарилт хийхэд ургуулж байх ёстой. Уг бичил биетнийг ялган авах өсгөвөрлөлтийн нөхцөл тохирч байгаа эсэхийг тогтоохын тулд *T. equigenitalis*-ийн жиших лавлагаа омгийг шинжлэх дээжтэй зэрэгцүүлэн өсгөвөрлөх хэрэгтэй.

Хавтанг 5–10% (v/v) CO_2 бүхий агаартай эсхүл лаа бүхий 35–37°C дулаан тогтоогуурт байлгана. *T. equigenitalis*-ийн колони харагдах хүртэл 72 цагаас багагүй хугацаа шаардах ба үүнээс хойш өдөр бүр шалгана. Колони харагдталаа 14 хүртэл хонох тохиолдол хааяа гарна (Ward нар, 1984). Өсгөвөр *T. equigenitalis*-аар сөрөг гэж дүгнэхээс өмнө 7-оос доошгүй хоног өсгөвөрлөх стандарт хугацааг баримталсан байвал зохино. Бохирдуулагч байгаа эсэхийг хавтанд эхний 24 цагийн өсгөвөрлөлтийн дараа шалгана. *T. equigenitalis*-ийн колони голчоороо 2-3 см хүртэл, гөлгөр гадаргуутай, тэгш ирмэгтэй, гялтгар, шаргалдуу саарал өнгөтэй байна. Зарим улс илүү удаан өсгөвөрлөх стандарт аргачлал мөрдөхийг шаардаж болзошгүйг анхаарч тэдгээр орны импортын тухайн шаардлагыг тодорхой болгох болон/эсхүл өсгөвөрлөх шинжилгээний үр дүн гаргахад зарцуулах өсгөвөрлөлтийн хугацааг тодорхой зааж өгөх хэрэгтэй. Бусад бактери, жишээ нь *Proteus mirabilis* маш олноороо ургаж лабораторийн сөрөг хариу гаргаж чадахгүйд хүргэдэг. Ийм тохиолдолд арчдасны дээж шинээр авч шинжлэх шаардлагатай болно.

Ялган авсан удаан ургалттай бичил биетэн нь өвчин үүсгэгчийн эсийн хэлбэр зүйн тодорхойлолтод нийцэн оксидаза, каталаза задлах идэвхтэй байгаа бол түүнийг *T.-equigenitalis*-д өвөрмөц эсрэг ийлдэстэй урвалд оруулж шалгана.

1.2. Ийлдсэн хэвшил тогтоох арга

T. equigenitalis-ийн өсгөврийг баталгаажуулахад хэрэглэх тавиур шилний наалдуулах урвалаас эхлээд шууд болон шууд бус иммунфлюоресценцийн аргаас ялгаатай ийлдсэн хэвшил тогтоох төрөл бүрийн арга боловсруулсан байна. Арга бүхэн давуу болон сул талтай. Өсгөвөр хааяа өөрөө наалдах тохиолдол гардаг нь тавиур шилний наалдуулах урвалын дутагдалтай тал юм. Лаатай орчинд бус харин даралттай савлагаатай CO_2 бүхий агаар хэрэглэвэл өөрийн наалдалт багасна (Ter Laak & Wagenaars, 1990) .Өөрөө наалдалт өгч байгаа өсгөврийг олж тогтооход иммунфлюоресценцийн арга ач холбогдолтой байж болох ба азарганы болон гүүний үржлийн гадаад эрхтний арчдаст *T. equigenitalis*-ийг илрүүлэх шууд бус иммунфлюоресценцийн шинжилгээний цомог худалдаанд гарсан байна. Үхүүлсэн *T. equigenitalis*-аар туулайг вакцинжуулж эсрэг ийлдэс бэлтгэдэг. Дархлаажуулалтад NCTC 11184[1], гэх мэт стандарт омог хэрэглэх ёстой. Гэвч бэлтгэсэн эсрэг ийлдсийн өвөрмөц чанар хамгийн чухал асуудал юм. Эсрэг ийлдэс нь *T. equigenitalis*-ийг наалдуулж байх ёстой, харин адууны шээс-бэлгийн замын эрхтний мембранаас өсгөвөрлөж болох бусад бактеритай наалдахгүй. Ялангуяа *Mannheimia haemolytica*, *Actinobacillus equuli, Bordetella bronchiseptica* (үүнд *T. equigenitalis* ойр хамааралтай, Bleumink-Pluym нар, 1993 үзэх), *Oligella urethralis, Pseudomonas aeruginosa* гэх мэт оксидаза сорилд эерэг болон Грам сөрөг аливаа савханцартай наалдахгүй. *T. equigenitalis*-ийн ялгагдах чанарыг баталгаажуулахад хэрэглэдэг *Taylorella asinigenitalis* нь колонийн болон өсгөвөржилтийн шинж чанараараа түүнтэй яг ижил биш ч гэсэн адил төстэй, биохимийн шинжилгээгээр ижилхэн үр дүн өгдөг байна. Тэр бүү хэл энэ хоёр бичил биетэн ийлдэс судлалаар ч солбицох урвал үзүүлнэ. ПГУ эсхүл 16S рДНХ-ийн дараалал тогтоох, биохимийн урвалжит чанарыг ашиглан *T. asinigenitalis* -ийг *T. Equigenitalis*-аас ялгаварлана (Baverud нар, 2006; Breuil нар, 2011; Duquesne нар, 2007; Wakeley нар, 2006). Бичил биетнийг ялган тогтоох өвөрмөц чанар өндөр, ижил гарлын эсрэгбие худалдаанд гарсан байна.

[1] Их Британи, Умард Ирландын Нэгдсэн Хаант улс, Колиндале. Өсгөврийн хэвшлийн үндэсний сангаас авах боломжтой: https://www.phe- culturecollections.org.uk/collections/nctc.aspx.

T.Equigenitalis-ийн эсрэгтөрөгчийг ялган тогтооход зориулсан латекст наалдуулах урвалын цомог зах зээлд бэлэн гарчээ. Уг цомогт дээр дурдсантай адилхан аргаар бэлтгэсэн өөр гарлын эсрэгбие ашигласан. Үүнийг сонгомол тэжээлт орчинд ургаж *T. equigenitalis*-д илэрдэг биохимийн урвал үзүүлдэг колонийн ялгагдах байдлыг тогтоон баталгаажуулахад тогтмолжсон шинжилгээ хийдэг лабораториудад өргөн ашигладаг. *T. equigenitalis* нь эсрэгтөрөгчийн шинж чанарааараа харьцангуй өөр солбицох урвалд ордог бага хэмжээний эсрэгбие уг урвалжийг бэлтгэх явцад хялбархан шингэн арилдаг учраас энэ шинжилгээ өвөрмөц болон мэдрэх чанарааараа өндөр болох нь нотлогдсон юм. Энэ шинжилгээгээр *T. equigenitalis* -ыг *T. Asinigenitalis*-аас тэр бүр ялгаварлаж чадахгүйг тэмдэглэх нь зүйтэй.

1.3. Иммунфлюоресценцийн арга

Сорьц цуглуулах газар дээр авсан арчдасд эсрэгбиед суурилсан аргыг ашиглан *T. equigenitalis*-ийг шууд илрүүлж болно. Лабораторийн нөхцөлд бэлтгэсэн болон зах зээлд нийлүүлэгдсэн эсрэгбие илрүүлэх шууд бус иммунфлюоресценцийн аргыг (ШБИФА) тодорхойлон бичжээ (Breuil нар, 2010). Тэдгээрийн мэдрэх чанар 93%, өвөрмөц чанар 100% байна (Breuil нар, 2010). Хэрэглэсэн цомгийг 1.1.6. *Газрын амьтны халдварт өвчний оношилгооны аргыг баталгаажуулах* бүлэгт заасныг баримтлан баталгаажуулсан байх нь чухал. ДМАЭМБын бүртгэлд[2] орсон цомгоос сонгон хэрэглэхийг эрхэмлэх хэрэгтэй.

1.4. MALDI-TOF масс спектрометрийн арга (MALDI-TOF MS)

MALDI-TOF масс спектрометрийн арга нь *Taylorella* өсгөврийн колонийг ялган таних *T equigenitalis* болон *T. asinigenitalis*-ийг 48 цаг өсгөвөрлөсөн сэжигтэй колониос жиших лавлагаа ийлдсийн багц ашиглан ялгаварлах найдвартай аргад тооцож байна (Petry нар, 2019).

1.5. Молекул шинжилгээний арга

ПГУ болон бодит цагийн ПГУ зэрэг молекул шинжилгээний аргыг *T. equigenitalis* (сорьц цуглуулах газраас авсан арчдас ашиглан) болон шууд бус аль ч аргаар (арчдаснаас ургуулсан өсгөврөөс) илрүүлэхэд ашиглана. Хуурамч эерэг дүн гарах магадлалыг бууруулах үүднээс *Taylorella* үүсгэгчид сэжиглэм хэд хэдэн колонийг сонгон авч ПГУ-аар баталгаажуулна. Япон улсад гүүний савны хавьтал халдварт үрэвслийг устгах ажилд зориулан ПГУ-ыг үйлдвэрлэлийн нөхцөлд хэрэглэн үнэлгээ өгсөн байна. Энэ үнэлгээгээр ПГУ-нь адууны үржлийн эрхтний арчдасд *T.equigenitalis*-ийг илрүүлэхэд өсгөвөрлөх аргаас илүү мэдрэмтгий болохыг тогтоожээ (Anzai нар, 1999; 2002). Түүнчлэн *T. equigenitalis*-ийг ПГУ өсгөвөрлөх аргатай харьцуулахад илүү сайн илрүүлж байсныг лабораторийн ур чадварын сорилын дүн харуулсан байна (Mawhinney, 2020; Petry нар, 2018).

1.5.1. Бодит цагийн ПГУ

Бодит цагийн ПГУ-ыг үржлийн эрхтний арчдасд шууд хэрэглэн өсгөвөрлөх аргатай харьцуулан зорилгоор боловсруулсан (Wakeley нар, 2006, Mawhinney нар, 2019) бөгөөд түүнийг янз бүрийн улс оронд халдварыг үржүүлгийн өмнө илрүүлэх шинжилгээ (Ousey нар, 2009), тандалт, өвчнийг устгах арга хэмжээнд ур дүнтэй ашиглаж байна (Belloy нар, 2012; Jeoung нар, 2018; May нар, 2016). Бодит цагийн хоёрдох ПГУ-ыг боловсруулан ГСХХҮ-ийг оношлоход амжилттай хэрэглэж байна (Nadin-Davies нар, 2015). Бодит цагийн эдгээр хоёр ПГУ мэдрэх чанараар өсгөвөрлөх аргаас үл мэдэг дээгүүр, өвөрмөц чанар, үр дүнгийн тохирц өндөр болох нь янз бүрийн лабораторид харагдсан учраас тэдгээрийг хэрэглэхийг зөвлөдөг.

i) Бодит цагийн ПГУ 1(Wakeley нар, 2006)
Энэхүү ПГУ-ыг ГСХХҮ илрүүлэхэд өргөн ашиглаж байна. Шинжилгээний арга зүйд бага зэргийн өөрчлөлт оруулах болон янз бүрийн аргаар ДНХ ялган хэрэглэж лабораторидоо баталгаажуулалт хийхэд уг шинжилгээ тогтвортой явагддаг болох нь харагджээ (May нар, 2016; Petry нар, 2018). Бодит цагийн ПГУ-д хоёр тусдаа ПГУ хэрэглэх ба үүний нэг нь *T. equigenitalis* болон *T. asinigenitalis*-ийн 16S rДНХ-ийн нэг хэсгийг өвөрмөцөөр олшруулдаг бол хоёрдох нь адууны үржлийн эрхтэнд оршдог олон төрлийн комменсиал бактерийн 16S rДНХ мужийг олшруулдаг хяналтын ПГУ бөгөөд арчдаснаас өсгөвөрлөлт хийсэн болон ДНХ-ийн ялган авсан аргын баталгаажуулалт болж

[2] https://www.woah.org/en/what-we-offer/veterinary-products/#ui-id-5

өгнө. *Taylorella*-ийн дээрх хоёр зүйл агуулсан бүтээгдэхүүнд тэдгээрийг ялгаварлан илрүүлж чадах гэрэл цацаргагч өөр өөр бодисоор тэмдэглэсэн TEquiFAM болон TAsiniHEX пробыг *Taylorella*-д өвөрмөц ПГУ-д ашиглаж байна (Хүснэгт 2а). Хяналтын ПГУ-д гэрэл цацаргагч янз бүрийн бодисоор тэмдэглэсэн өөр пробыг дээж бүрд ашигладаг.

Ялган авсан бактериас болон үржлийн эрхтний замын арчдасаас ДНХ-ийн дээж бэлтгэх аргыг Ваакли нар (2006) боловсруулсан байна. Ялган авсан бактерийг 1.5 мл ФБУ-д уусган сэргээгээд (pH 7.4) Эппендорфын цодонд шилжүүлж халаагч блокын 95–100°C-д 20 минут халаасны дараа цодонг бичил хурилдууруар 18,000 *g* хурдаар 1 минут хурилдуурдана. Арчдас тус бүрийг Эппендорфын цодон дахь 0.2 мл 0.1 М ФБУ (pH 7.4)-д дүрж 5 секунд гараар зайлах ба хандлалтын сөрөг хяналт болгон 0.2 мл нуклеаза агуулаагүй ус бэлтгэнэ. Эппендорфын цодонг бичил хурилдууруар 18,000 *g* хурдаар 30 секунд минут хурилдуурдан бактерийг тунаана. Дээд талын шингэн хэсгийг сорж зайлуулан тунашийг нуклеаза агуулаагүй 100 мкл усанд уусган сэргээнэ. Уусган сэргээсэн тунашийг бичил хурилдууруар 18,000 *g* хурдаар 1 минут хурилдуурдахын өмнө халаагч блокын 95–100°C-д 15 минут халаана. Дээд талын шингэн хэсэг нь ялгарсан эсхүл задарсан ДНХ болно. Задардсыг тэр даруйдаа хэрэглэх эсхүл –20°C-д хадгална. Урвал тус бүрд 2–5 мкл задардас хэрэглэнэ.

Дээж шинжлэхдээ *T. equigenitalis*, *T. Asinigenitalis*-ийн болон темплатын хяналтыг шинжилгээний хавтан бүрд хамт шинжлэх хэрэгтэй. Эхний денатурац 94°C-д 2 минут, 94°C-д 5 секундээр 40 мөчлөгөөр олшруулах, 60°C-д 10 секундэд прймер холбох, дараа нь уртасгалт болон үр дүн гаргах 72°C-д 15 секундийн мөчлөгтэй байна. 16SrDNA ROX, TGT-TTG-CTC-CCC-ACG-CTT-TCG-CAC-BHQ2 проб ашиглан бактерийн 16S rДНХ илрүүлэх (хөтлөх праймер BactUni: ACTA CGT-GCC-AGC-AGC-C; буцаах праймер BactUni: GGA CTA-CCA-GGG-TAT-CTA-ATC-C) хяналтын бодит цагийн хяналтын ПГУ-ыг тус тусдаа үүрэнд зэрэгцүүлэн тавьж нуклейн хүчил ялган авах болон шинжилгээний явц зөв явсан эсэхийг нотлон харуулна. Эрхийн хамгаалалттай цомог ашиглан ДНХ ялгах, мастер холимгийн бүрэлдэхүүн хэсэг болон дотоод хяналт хэрэглэх зэрэг нийтийн хүртээл болгосон аргаас бага ч гэсэн өөр хувилбар хэрэглэх бол түүнийг лабораторийн дотроо баталгаажуулдаг байх хэрэгтэй. Бодит цагийн ПГУ-ын шаардлага хангах машин дээр урвал явуулна. Өвөрмөц проб хэрэглэхэд CT утга ≤ 40 байвал урвалын дүн эерэг байна. *Taylorella* төрлийг найдвартай илрүүлж шинжилж байгаа дээж эерэг болохыг тогтооход хяналтын 16S rДНХ ашиглан ПГУ явуулах шаардлагатай.

ii) Бодит цагийн ПГУ 1 (Nadin-Davies нар, 2015)

Бодит цагийн энэхүү ПГУ-нь хэдийгээр өргөн хэрэглэгдэхгүй байсаар ирсэн ч уг аргын зааврыг мөрдөн хэрэглэхэд үр дүнгийн тохирц өндөр байдаг. Уг шинжилгээнд дан праймерийн цомгийг *T. equigenitalis* (EQUI-VIC; боломжтой бол HEX-ийг бас ашиглаж болно) болон *T. asinigenitalis*-д (ASINI- FAM) өвөрмөц хоёр проб (Хүснэгт 2а)-ын хамт хэрэглэнэ. Гуравдах проб HA5-CY5, TCT-ACG-AGA-GAA-CCT-CTC-CGA-GCT-CAG-CT-BHQ2-нь плазмид дахь хувилмал-клонийн ДНХ-ийн дараалалд өвөрмөц бөгөөд түүнийг дотоод эерэг хяналт (ДЭХ)-аар ашиглана. Плазмид дахь ДНХ-нь Ген банканд нэвтрэх M73260 дугаартай, хүний аденовирус 5-ын 28297-оос 28407-р суурьтай тохирох 148 хос суурьтай TAYQ праймерийн дарааллыг агуулна.

Шинжилгээний дээж бэлтгэхдээ арчдаснаас ханд бэлтгээд 1.0 мл-ийн ариун, нуклеаза агуулаагүй устай бичил хурилдуурын цодонд хийж вортексоор 5 секунд холиод 5 минут хөдөлгөөнгүй тавина. Мөн энэ үед 1.0 мл нуулгана агуулаагүй усаар хандлалтын сөрөг хяналтыг бэлтгэнэ. Бичил хурилдуурын цодонд байлгаж байгаад арчдасыг буцаагаад анхны цодонд нь хийнэ. Дараа нь дээжийг 17,949 *g* хурдаар 5 минут хурилдуурдаж дээд шингэн хэсгийг сорон авч зайлуулаад тунашийг pH 8.0 бүхий 20 мкл 10 мМ TE буферт уусган сэргээнэ. Цийдмэгийг 100°C-д 15 минут халаагаад дараа нь хөргөнө. Шинжилгээний өмнө дээжийг 5-10 секунд хурилдуурдаж тагнаас ямар нэг шингэн байвал зайлуулаад тэр даруйдаа шинжлэх эсхүл хэрэглэх хүртлээ –20°C-д хадгална. Хадгалсан дээжийг шинжлэхийн өмнө 40 секунд хурилдуурдаж хаягдал жижиг хэсгийг тунаана. Дээд шингэн хэсэг нь ДНХ-ийн хандмал эсхүл задармал юм.

Дээд талын шингэн хэсгээс 2 мкл-ийг TayQF болон TayQR тус бүр 500 nM, EQUI-VIC проб 250 nM, ASINI-FAM проб 125 nM-ыг агуулсан 18 мкл мастер холимог дээр нэмж урвал тус бүрийн орчин бүрдүүлнэ. Мастер холимог эсхүл төвшрүүлгийг нь бага ч гэсэн өөр хувилбартайгаар хэрэглэх бол түүнийгээ лаборатори дотроо баталгаажуулдаг байх хэрэгтэй. Нуклейн хүчлийн зохиомол дараалал бүхий ДЭХ-ыг дээжийн ДНХ болон НХ ялгалтад хэрэглэх сөрөг хяналт, өвөрмөц пробын хамт үүр тус бүрд хамт нэмнэ. ДЭХ-ыг мастер холимогт орсон холбогдох пробоор илрүүлнэ. Энэ хяналтад НХ олшрохгүй бол ПГУ саатуулагдсаныг илтгэнэ. ПГУ хэрхэн зөв явагдаж байгааг харуулахын тулд *T. equigenitali* -д зориулсан хяналтын ДНХ-ийн темплатаар байгуулсан стандартын муруйг (дараалсан таван шингэлэлт) ДЭХ-ын хамт урвал явуулах бүрдээ ашиглана. ПГУ-ын өвөрмөц чанар болон ажлын зорилго хангах эсэхийг нотлон харуулахын тулд хавтан бүрд *T. asinigenitalis* -ийн ПГУ-ын хяналт болон ДЭХ, *Oligella urethralis* болон ДЭХ, дан ДЭХ, темплатгүй хяналт хийсэн тус тусдаа үүртэй байна. ПГУ-ын мөчлөгийн нөхцөл: 95°C-д 10 минут, дараа нь 95°C-д 15 секундээр 45 мөчлөг, 55°C-д 1 минут. Өвөрмөц пробд CT утга ≤ 40 байвал эерэг гэж үзнэ.

Лабораторид баталгаажсан өөр хувилбар хяналтыг хэрэглэж болох боловч ПГУ-ын хавтан тус бүрд хамгийн цөөндөө темплатгүй сөрөг хяналт, *T. equigenitalis* болон *T. asinigenitalis* эерэг хяналт, ДЭХ хяналт оруулна. Арчдаснаас суулгалт хийсэн гэдгийг батлах үүднээс бактери эсхүл бактерийн ДНХ агуулагдаж байгаа эсэхийг харуулахын тулд хяналтын шинжлэхийг зөвлөдөг.

Хүснэгт 2. Зөвлөсөн бодит цагийн ПГУ-д хэрэглэх праймерийн дараалал

Праймер 1 (хөтлөх)		Праймер 2 (буцаах)		Проб (зөвхөн бодит цагийн ПГУ-д)		Лавлах эх сурвалж
Нэр	Дараалал (5’ → 3’)	Нэр	Дараалал (5’ → 3’)	Нэр	Дараалал (5’ → 3’)	
Tay377 хөтлөх	CCG-CGT-GTG-CGA-TTG-A	Tay488 буцаах	TTT-GCC-GGT-GCT- TAT-TCT-TCA	Tequi FAM-проб	6FAM-AAA-GGT-TTG- TGT-TAA-TAC-CAT- GGA-CTG-CTG-ACG-G- BHQ1	Wakeley нар, 2006
				Tasini HEX-проб	HEX-AAA-GTT-TTA- GGA-TAA-TAC-CCT- AGG-ATG-CTG-ACG-G- BHQ1	
TAYQF	CGC-GTG-TGC-GAT-TGA-A	TAYQR	GCC-GGT-GCT-TAT-TCT-TCA	EQUI-VIC (or HEX)	(HEX) VIC-AGG-TTT- GTG-TTA-ATA-CCA- TGG-ACT-GCT-GAC- QSY7 (BHQ1 хэрэглэж байгаа бол HEX)	Nadin-Davies нар, 2015
				ASINI-FAM	FAM-AGT-TTT-AGG- ATA-ATA-CCC-TAG- GAT-GCT-GAC-GGT- BHQ1	

Бодит цагийн эдгээр хоёр ПГУ-д HEX ашиглаж байгаа бол (Хүснэгт 2) *Taylorella* зүйлүүдэд HEX болон FAM-ыг эсрэгээр нь хэрэглэнэ.

Зөвлөсөн бодит цагийн ПГУ-ын тухайд бичил биетнийг заавал амьдрах чадвартай байлгаж шинжлэх шаардлагагүй учраас арчдасыг тухайн орчны температурт тээвэрлэж болно. ПГУ-аар шинжилгээ хийх лабораторид арчдас хүргэхэд зөөвөрлөлтийн орчин хэрэглэх шаардлагагүй. Зөөвөрлөх орчинд дүрээгүй ердийн арчдас хэрэглэж болно. ПГУ-д зориулсан арчдасыг анх авснаас хойш 7 хоногийн дотор шинжлэх нь зүйтэй:

T. equigenitalis-ийг бодит цагийн ПГУ-аар шууд илрүүлэх нь уг бактерийг өсгөвөрлөхөөс хэд хэдэн давуу талтай. Нэгдүгээрт ПГУ-нь бохирдуулагч бичил биетний нөлөөнд өртөх нь бага учраас хуурамч сөрөг үр дүн гарахыг бууруулдаг. Хоёрдугаарт бактерийг 7 хоног өсгөвөрлөхөөс үлэмж бага хугацаанд ПГУ-ыг явуулна. Гуравдугаарт: амьд бичил биетэн бус зөвхөн ДНХ илрүүлэх тул дээжийг лабораторид түргэн хүргэх шаардлага багасна. Дөрөвдүгээрт: эдгээр ПГУ-аар *T. equigenitalis*-ийг *T. Asinigenitalis* -аас ялгаварлана. ДНХ-

ийн хөндлөн бохирдол гаргахгүй байх чанга дэглэхийг оношилгооны лабораторид хэрэгжүүлэх хэрэгтэй.

1.5.2. Бусад ПГУ

T. equigenitalis-ийг илрүүлэхэд зориулан энгийн болон бодит цагийн бусад ПГУ-ыг хөгжүүлэн ПГУ-ын цомог зах зээлд борлуулагдаж байна. Эдгээр цомгийг оношилгооны лабораторид хэрэглэхийн өмнө тогтоосон зорилгын дагуу түүнийг хэрэглэхэд нийцэх эсэхийг ДМАЭМБ-ын Стандартын (Бүлэг 1.1.6) дагуу бүрэн баталгаажуулах хэрэгтэй.

1.5.3. Дараалал тогтооход суурилсан арга

16s rPHX генийн нуклеотидийн дараалал тогтоох гэх мэт дараалал тогтооход суурилсан аргыг нэгэнт ялган тогтоогоод байгаа *Taylorella* spp-ийг баталгаажуулахад хэрэглэж байна (Erdman нар, 2011). Бүтэн геномын дараалал тогтоож байгаа дэвшил нь *Taylorella* spp-ийг улам нарийн ялган тогтоох болон шинж чанарыг нь молекул түвшинд улам сайн тодорхойлох боломжтой болгож байна. Олон локусын дарааллаар хэвшил тогтоох (ОЛДХТ) аргыг *Taylorella* spp-ийн хэвшил тогтоох болон нуклеотидийн дарааллаар тогтоосон хэвшил хоорондын удмын хамаарлыг тодорхойлоход ашиглах нуклеотидийн дарааллыг адил төст байдлаар нь бүлэглэж өгнө (Duquesne нар, 2013). Омгийн шинж чанар болон ялган авсан вирус хоорондын удмын хамаарлыг нарийн тогтоох, удмын мод үүсгэхэд ОЛДХТ, дан нуклеотидийн полиморф чанарын дүн шинжилгээ, генийн бусад шинжилгээний арга ашиглах нь халдвар дамжих хэв маягийг ойлгох, эпидемиологийн мөшгөх судалгаа явуулахад үнэхээр ач холбогдолтой болохыг сүүлийн үеийн судалгаанууд харуулж байна (Duquesne нар, 2020; Hicks нар, 2018,). Үрийн шингэн болон арчдаснаас өсгөвөрлөлт хийлгүйгээр ОЛДХТ арга ашиглан зорилтот дарааллыг олшруулах судалгаа шинээр хийж байна (May нар, 2019).

1.6. Үүсгэгчийн ялгагдах чанарын шинжилгээний хэрэглээ

1.6.1. Эмчилгээний дараах шинжилгээ

T. equigenitalis-ийг эсрэг эмчилгээ хийсний дараа адуунд халдвар үргэлжилсээр байгаа эсхүл үүсгэгч тээгч болсон эсэхийг тогтооход өсгөвөрлөх арга аль эсхүл ПГУ аль нэгийг хэрэглэж болно. Арчдас дахь бичил биетний эсрэг бодис тэжээлт орчинтой аяганд шилжин дамжих, амьдрах чадвараа бараг алдсан бичил биетэн *in vitro* нөхцөлд өөрөө эсхүл өрсөлдөөнт бичил биетэн хэт их ургаснаас ургахгүй байх зэргээс шалтгаалан үүсгэгчийг өсгөвөрлөн илрүүлэх аргад саад учирч болзошгүй. Амьдрах чадвартай болон чадваргүй аль аль бичил биетнийг ПГУ-аар илрүүлнэ. Эмчилгээ хийхдээ шинжилгээнд арчдас авдаг биеийн эрхтэн хэсгийг сайтар угаагаагүй бол үхсэн бичил биетний ДНХ тэнд үлдсэн байх боломжтой. Ийм учраас эмчилгээ хийснээс хойш наад зах нь 21 хоног өнгөрсний дараа аль нэг аргаар шинжилгээ хийнэ. Тохирсон эмчилгээ хийсэн ихэнх тохиолдолд дээрх хоёр аргаар шинжлэхэд сөрөг дүн үзүүлнэ. Гэвч өсгөвөрлөх болон ПГУ-ын дүнгийн хооронд зөрөө гарвал халдвар одоо ч арилаагүй байна гэж үзнэ.

1.6.2. Үр шинжлэх

1 дүгээр хүснэгтээр үрийг бус харин үржлийн эрхтний арчдасд хийх баталгаажсан шинжилгээний аргыг харуулав. Үрийн шингэн шинжлэх аргын оношилгооны харьцангуй мэдрэх чанарыг азарганы үржлийн эрхтний арчдасынхтай харьцуулсан баримт мэдээлэл хоор байна (Al-Kass нар, 2019; Erdman нар, 2011). Ийм учраас үрийн шингэний шинжилгээг арчдасын шинжилгээний оронд бус харин ихэвчлэн түүнд хавсарга болгон ашигладаг. Үүсгэгчийг үрээс илрүүлэх эсхүл тээвэрлэлтийн явцад амьдрах чадварыг тогтооход өсгөвөрлөх арга эсхүл ПГУ ашигласан баримт мэдээлэл ховор юм. Үрийг хөлдөөсний дараа бичил биетэн амьдрах чадвараа хадгалалдаг болон шинэ үрнээс хялбархан өсгөвөрлөгддөгийг нийтлэгдсэн баримт харуулж байна. Тэжээлт орчинд дахь үүсгэгчийн ургалт үр шингэлэгчид агуулагдах антибиотикийн нөлөөгөөр ихэнхдээ бүрэн саатуулагдах (Klein нар, 2012; Olivieri нар, 2011) боловч арим тохиолдолд шингэлэгчтэйгээ байгаа үр халдвартай үлдчихсэн байдаг (Delerue нар, 2019). Тэжээлт орчинд үр нэмж өсгөвөрлөсөн судалгаагаар цэвэр бөгөөд шинэхэн үрийн шингэний өсгөвөр маш мэдрэмтгий

болохыг харуулан бөгөөд шингэлэн үрийн шингэнд антибиотик агуулагдаж байвал үүсгэгчийг илрүүлэх боломжийг огцом багасгана. Олон хоног хөргөгчид хадгалсан үрийн дээжийг өсгөвөрлөхөд комменсиал бичил биетнүүд хэт их ургадгаас шинэ болон шингэлсэн аль ч үрээс өсгөвөрлөхөд *T. Equigenitalis* муу илэрнэ. Шинжлэх дээжээс ДНХ-г хандлан ялгах аргатай хамтатгасан бодит цагийн ПГУ-ын мэдрэх чанар хангалттай байх бөгөөд энэ чанар нь шингэлсэн аль эсхүл хадгалсан үрийн шингэн аль алинд буурдаггүй. ДНХ ялган авах болон урвалын бусад үе шатад ашиглагдах үрийн тоо хэмжээний улмаас ПГУ-ын анализын мэдрэх чанар угаасаа хязгаарлагдмал байдаг бөгөөд халдвартай азарганы үрийн шингэнд амьд *T. equigenitalis* эсийн тоо хэд байж болох талаар баримт мэдээлэл ховор учраас үүсгэгчийг тээгч азарганд оношилгооны мэдрэх чанарыг мөн хязгаарладаг эсэх нь тодорхойгүй юм. Азарганаас үр авах бүрдээ түүнийг олон жижиг хэсэгт тасалж хуваагаад шинжлэх нь донор азарга халдвар авсан эсэхийг илрүүлэхэд мэдрэх чанарын хувьд хангалттай болохыг байгалийн халдвар авсан азарганаас авч шингэлээд хөлдөөсөн үрийн шингэний дээжийг бодит цагийн ПГУ-аар шинжилгээнээс харагджээ. Шинэхэн шингэлсэн үрийн шингэнээс, тэр дундаа хөлдөөсөн үрээс гаргасан өсгөвөр бага учраас шингэлээд хөлдөөсөн үрээс гаргасан өсгөврийн мэдрэх чанарыг дэлгэрэнгүй мэдээлсэн нь үгүй. Үүрийн шингэн болон арчдас дүрсэн үрийн шингэн аль алиныг жижиглэн тасалж хуваагаад өсгөвөрлөх болон ПГУ-д дээж болгон хэрэглэх ба тээвэрлэхдээ адуунаас авсан арчдасны дээжид хэрэглэдэг нөхцөлийг мөрдөнө.

2. Ийлдэс судлалын арга

Өдий хүртэл боловсруулж нийтэлсэн ийлдэс судлалын шинжилгээний арга оношлох болон хяналт тавих зорилгоор халдварыг дангаараа найдвартай илрүүлж чадахгүй. Гэхдээ халдварын сэжигтэй азарганд гишгүүлснээс хойш 21-45 хоносон гүүнд илрүүлэх шинжилгээ хийхэд хавсарга холбох урвалыг *T. equigenitalis*-ийг өсгөвөрлөх аргын хамт амжилттай хэрэглэж байв.

В. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

Гүүний савны хавьтал халдварт үрэвсэл өвчний эсрэг хэрэглэх эсхүл гүүний биед *T. equigenitalis* үүрлэхээс хамгаалах үр нөлөөтэй вакцин одоогоор байхгүй.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

AL-KASS Z., ERIKSSON E., BAGGE E., WALLGREN M. & MORRELL J.M. (2019). Bacteria detected in the genital tract, semen or pre-ejaculatory fluid of Swedish stallions from 2007 to 2017. *Acta Vet. Scand*., **61**, 25.

ANZAI T., EGUCHI M., SEKIZAKI T., KAMADA M., YAMOTO K. & OKUDA T. (1999). Development of a PCR Test for Rapid Diagnosis of Contagious Equine Metritis. *J. Vet. Med. Sci.,* **61**, 1287–1292.

ANZAI T., WADA R., OKUDA T. & AOKI T. (2002). Evaluation of the field application of PCR in the eradication of contagious equine metritis from Japan. *J. Vet. Med. Sci*., **64**, 999–1002.

ATHERTON J.G. (1983). Evaluation of selective supplements used in media for the isolation of the causative organism of contagious equine metritis. *Vet. Rec.*, **113**, 299–300.

BAVERUD V., NYSTROM C. & JOHANSSON K.-E. (2006). Isolation and identification of *Taylorella asinigenitalis* from the genital tract of a stallion, first case of a natural infection. *Vet. Microbiol.,* **116**, 294–300.

BELLOY L.,. (2012). Diagnosis of *taylorella equigenitalis* by culture or by real time PCR. *Schweiz. Arch. Tierheilk*., **154**, 87–88.

BLEUMINK-PLUYM N.M.C (1993). Phylogenetic position of *Taylorella equigenitalis* determined by analysis of amplified 16S ribosomal DNA дараалаль. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **43**, 618–621.

BREUIL M.S.F., DUQUESNE F., SEVIN C., LAUGIER C. & PETRY S. (2010). Indirect immunofluorescence test using polyclonal antibodies for the detection of *T. equigenitalis. Res. Vet. Sci.,* **88**, 369–371.

BREUIL M.F., DUQUESNE F., LAUGIER C. & PETRY S. (2011). Phenotypic and 16S ribosomal RNA gene diversity of *Taylorella asinigenitalis* strains isolated between 1995 and 2008. Vet. Microbiol., **148**, 260–266.

DELERUE M., BREUIL M.F., DUQUESNE F., BAYON-AUBOYER M.H., AMENNA-BERNARD N. & PETRY S. (2019). Acute Endometritis due to *Taylorella equigenitalis* Transmission. *J. Equine Vet. Sci.*, **78**, 10–13.

DUQUESNE F., PRONOST S., LAUGIER C. & PETRY S. (2007). Identification of *Taylorella equigenitalis* responsible for contagious equine metritis in equine genital swabs by direct polyermase chain reaction. *Res. Vet. Sci.*, **82**, 47–49.

DUQUESNE F., HEBERT L., BREUIL M-F., MATSUDA M., LUGIER C. & PETRY S. (2013). Development of a single multi-locus дараалал typing scheme for *Taylorella equigenitalis* and *Taylorella asinigenitalis*. *Vet. Microbiol*., **167**, 609–618.

DUQUESNE F., MERLIN A., P (2020). Overview of spatio-temporal distribution inferred by multi-locus дараалал typing of *Taylorella equigenitalis* isolated worldwide from 1977 to 2018 in equidae. *Vet. Microbiol.,* **242**, 108597. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108597

ERDMAN M.M.,. (2011). Diagnostic and epidemiologic analysis of the 2008–2010 investigation of a multi-year outbreak of contagious equine metritis in the United States. *Prev. Vet. Med.*, **101**, 219–228.

FERNIE D.S., BATTY I., WALKER P.D., PLATT H., MACKINTOSH M.E. & SIMPSON D.J. (1980). Observations on vaccine and post-infection immunity in contagious equine metritis. *Res. Vet. Sci.*, **28**, 362–367.

HICKS J., STUBER T., LANTZ K., ERDMAN M., ROBBE-AUSTERMAN S. & HUANG X. (2018). Genomic diversity of *Taylorella equigenitalis* introduced into the United States from 1978 to 2012. *PLoS ONE*, **13** (3): e0194253.

JEOUNG H.-Y., LEE S.-K., PARK J.-Y., KIM H.-J., YANG S.-J., LEE S.-K., KO J.A., YANG H.-S., PARK C., KIM S.-H., KANG H.-E. & CHOI J.-G. (2108). Status of *Taylorella equigenitalis* in Thoroughbred Horses in the Republic of Korea and the Molecular Characterisation of the Korean *Taylorella equigenitalis* Isolates. *J. Equine Vet. Sci*., **69**, 102–107.

KLEIN C., DONAHUE J.M., SELLS S.F., SQUIRES E.L., TIMONEY P.J. & TROEDSSON M.H.T. (2012). Effect of antimicrobial-containing semen extender on risk of dissemination of contagious equine metritis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **241**, 916–921.

MAWHINNEY I. (2020). 10 years of *Taylorella equigenitalis* ring trial results comparing culture and polymerase chain reaction. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz*., **39**,

MAWHINNEY I., . (2019). Pooling of genital swabs for detection by PCR of *Taylorella equigenitalis*, the cause of contagious equine metritis. *Equine Vet. J*., **51**, 227–230.

MAY C.E.,. (2016). Polymerase chain reaction-based national surveillance programme to determine the distribution and prevalence of *Taylorella equigenitalis* in South African horses. *Equine Vet. J*., **48**, 307–311.

MAY C.E., GUTHRIE A.J. & SCHULMAN M.L. (2019). Direct culture-independent дараалал typing of *Taylorella equigenitalis* obtained from genital swabs and frozen semen samples from South African horses. *J. Vet. Diagn. Invest*. **31**, 792–794.

NADIN-DAVIS S.. (2015). Comparison of culture versus quantitative real- time polymerase chain reaction for the detection of *Taylorella equigenitalis* in field samples from naturally infected horses in Canada and Germany. *Can. J. Vet. Res*., **79**, 161–169.

OLIVIERI B.T., LOVE B.C., REZEBAK G.B., LAMM C.G., VARNER D.D., PAYTON M.E. & HOLYOAK G.R. (2011). Effect of Antibiotic-containing Extenders on *Taylorella equigenitalis* Contaminated Semen. *J. Equine Vet. Sci*., **31**, 655–660.

OUSEY J.C., (2009) An investigation into the suitability of a commercial real-time PCR assay to screen for Taylorella equigenitalis in routine prebreeding equine genital swabs. *Equine Vet. J.,* **41**, 878–882.

PETRY S., BREUIL M-F., DUQUESNE F. & LAUGIER C. (2018) Towards European harmonisation of contagious equine metritis diagnosis through interlaboratory trials. 10.1136/vr.104556. *Vet. Rec.,* **183**, 96.

SAHU S.P., (1979). Survival of contagious equine metritis bacteria in transport media. *Am. J. Vet. Res.*, **40**, 1040–1042.

SCHULMAN M.L., MAY C.E., FOSGATE G. & GUTHRIE A.J. (2016). Sensitivity of qPCR for screening cryopreserved semen from *Taylorella equigenitalis*-carrier stallions, 10th IEIDC Abstracts. *J. Equine Vet. Sci*., **39**, S60-S61.

SWERCZEK T.W. (1978). Inhibition of the ГСХХУ organism by the normal flora of the reproductive tract. *Vet. Rec.*, **103**, 125.

TER LAAK E.A. & WAGENAARS C.M.F. (1990). Autoagglutination and the specificity of the indirect fluorescent antibody test applied to the identification of *Taylorella equigenitalis*. *Res. Vet. Sci.*, **49**, 117–119.

TIMONEY P.J. & POWELL D.G. (1982). Isolation of the contagious equine metritis organism from colts and fillies in the United Kingdom and Ireland. *Vet. Rec.*, **111**, 478–482.

WAKELEY P.R., (2006). Development of a real time PCR for the detection of *Taylorella equigenitalis* directly from genital swabs and discrimination from *T. asinigenitalis. Vet. Microbiol.,* **118**, 247–254.

WARD J., HOURIGAN M., MCGUIRK J. & GOGARTY A. (1984). Incubation times for primary isolation of contagious equine metritis organism. *Vet. Rec.*, **114**, 298.

*

* *

ЖИЧ: Гүүний савны хавьтал халдварт үрвэслийг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори бий (ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас мэдээлэл авна уу: https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

Гүүний савны хавьтал халдварт үрвэслийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудтай холбогдож авна уу.

ЖИЧ: 1990 ОНД АНХ, 2022 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

БҮЛЭГ 33 (3.6.3)

АДУУНЫ НИЙЛҮҮЛГИЙН ӨВЧИН (*TRYPANOSOMA EQUIPERDUM-ийн* ХАЛДВАР)

А. УДИРТГАЛ

Нийлүүлгийн өвчин нь адууны овгийн амьтанд эвцэлдүүлгийн үеэр нэгээс нөгөөд шууд дамжин халдварладаг, архаг, заримдаа цочмог явцтай хавьтал халдварт өвчин юм. Халдвар эхээс төлд эсхүл хээл тээх болон төллөх үеэр дамжих боломжтой ч энэ талаар баримтжуулсан нь үгүй. Энэ өвчний үүсгэгч нь *Trypanosoma equiperdum* юм (Doflein, 1901).

Trypanosoma equiperdum нь *Kinetoplastida* багийн *Trypanosomatidae* овгийн *Trypanozoon* дэд төрөлд хамаарах эсийн гадна шимэгчлэгч шилбүүртэн эгэл биетэн юм. Энэ дэд төрөлд багтах бусад зүйл болох *T. brucei* нь нагана хэмээгдэх өвчнийг (Бүлэг 3.4.14 *Нагана: шүлсний булчирхайн трипаносомын халдвар* [*Trypanosoma evansi* болон *T. Equiperdum* орохгүй]) үүсгэдэг бол *T. evansi* нь су-аура өвчин үүсгэнэ (Бүлэг 3.1.21 *Төрөл бүрийн амьтны су-аура* [*Trypanosoma evansi*-ийн *халдвар*]). Дээрх хоёр зүйл нь амьтны хэвлийгээр хавагнах, турж эцэх, цус багасах, мэдрэлийн үйл ажиллагаа хямрах зэрэг нийлүүлгийн өвчний архаг халдварын үед илэрдэгтэй ижил төстэй эмнэл зүйн шинж тэмдэг үүсгэнэ (Büscher нар, 2019). Хэдий тийм ч нийлүүлгийн өвчин эхэн үедээ ихэвчлэн үржлийн гадаад эрхтний эмгэгшлээр илрэх бөгөөд энэ эмгэгшил даамжирч хэдэн долоо хоногоос сарын хугацаанд мэдрэлийн үйл ажиллагаа хямарч өвчин архагшина. Хэлбэр зүй, генетикийн хувьд энэ гурван зүйл хоорондоо маш адилхан.

Нийлүүлгийн өвчнийг доурин, хөндүүртэй нийлүүлэг, адууны тэмбүү, хорт нийлүүлэг зэрэг янз бүрээр нэрлэдэг байна (Barner, 1963; Hoare, 1972). Өдий хүртэл энэ өвчний тохиолдол хүнд бүртгэгдээгүй байна.

Энэ өвчнийг эрт дээр үеэс мэддэг байсан ч халдвар авсан Алжир адуунаас трипаносомыг Ружэ 1896 онд олж илрүүлснээр түүний мөн чанарыг анх тодорхойлжээ (Rouget, 1896). *Trypanosoma equiperdum* голчлон эдэд шимэгчлэгч ба цусанд ховор илэрнэ. Халдвар авсан адууны овгийн амьтнаас өөр энэ шимэгчийн байгалийн голомт мэдэгдээгүй байна.

Нийлүүлгийн өвчин үүсгэгч халдвартай азарганы үрийн шингэн, сэлдий, шамархайд агуулагдах салслаг шүүрэл, халдвартай гүүний үтрээний салсанд байдаг учраас энэ өвчин хээлтүүлгийн явцад азарганаас гүүнд халдварлах нь илүү нийтлэг боловч гүүнээс азарганд халдварлах нь бий. Эхэн үедээ энэ шимэгч шинээр халдвар авсан амьтны салст бүрхэвчийн гадаргуу эсхүл эпителийн эсүүдийн хооронд сул орших ба цааш эдэд нэвтэрч хавагнасан товгорууд үржлийн эрхтний замд үүсгэнэ. Шимэгч цааш цусанд орж төв мэдрэлийн тогтолцоо зэрэг биеийн бусад хэсэг рүү зөөгдөн тархаж болзошгүй. Шимэгч ийнхүү үсэрхийлэн шимэгчилсний нөлөөгөөр арьсанд өвөрмөц гөвдрүү үүсэх нь өвчний ердийн өвөрмөц хэв шинжит тохиолдол юм.

Өвчний нууц үе, хүндрэл, үргэлжлэх хугацаа ихээхэн хэлбэлзэнэ. Өмнөд Америкт энэ өвчин архаг, хөнгөн хэлбэрээр тохиолдож 6 сараас 2 жил хүртэл орогнодог байна (Henning, 1955). Этиоп болон Монголд нийлүүлгийн өвчин эпидемик хэмжээнд биш ч эндемик тархалттай гарч байна (Davaasuren нар, 2017; Hagos нар, 2010). Хойд Африк, Өмнөд Америк зэрэг бусад нутагт энэ өвчин ихэвчлэн 1-2 сар, заримдаа 1 долоо хоног үргэлжлэх илүү цочмог хэлбэрээр илрэх хандлагатай байна. Хэдийгээр нийлүүлгийн өвчнөөр өвчилсөн амьтны дунджаар 50% нь (ялангуяа азарганы) үхэж хорогддог ч хаа нэгтээ өөрөө эдгэрсэн нь тохиолдоно. Эмнэл зүйн шинж тэмдэг үл үзүүлэх халдвар тохиолдоно. Адуутай харьцуулахад илжиг, луус илүү тэсвэртэй. Илжигний үр, үтрээний шүүрэлд халдвартай трипаносом агуулагддаг ч ихэнхдээ илжиг өөрөө энэ өвчнөөр өвчлөлгүй өнгөрнө.

Өвчин үргэлжлэх хугацаанд үржлийн эрхтний замд трипаносом байнга байгаад байдаггүй учраас халдвар авсан амьтан хээлтүүлэгт орох бүрд трипаносомын халдвар заавал дамжина гэж байхгүй. Гүүнээс халдвар салст бүрхэвчээр, тухайлбал нүдний салст бүрхэвчээр унаганд дамжина (Hoare, 1972). Мөн ширгэсэн гүүний дэлэн (Parkin, 1948), арьсны сорьцод (Pascucci нар, 2013; Scacchia нар, 2011) иммунгистохимийн шинжилгээ хийхэд трипаносом илэрч байжээ. *T. Equiperdum*-ийн бүх омог

мэрэгч эсхүл туулай зэрэг лабораторийн амьтанд тэр бүр дасаж өгдөггүй. Туулайн төмсөгт халдвар хийж үүсгэгчийг ялгасны дараа харханд дасгах боломжтойг мэдээлсэн байна (Schneider & Buffard, 1900; Soldini, 1939). Мөн түүнчлэн үүсгэгчийг шээсний замаас *in-vitro* нөхцөлд шууд ялган авчээ (Suganuma нар, 2016). Мэрэгчид болон *in-vitro* орчинд дасгасан омгийг гүн хөлдөөгөөд хугацаагүй хадгалж болно. Ийлдэс судлалын шинжилгээнд хэрэглэх эсрэгтөрөгчийг ихэвчлэн зориуд халдвар хийсэн лабораторийн амьтан эсхүл *in-vitro* орчинд үржүүлсэн шимэгч ашиглан бэлтгэдэг.

Нийлүүлгийн өвчтэй амьтанд үхэх, эсхүл эдгэрэх хүртэл нэг эсхүл хэд хэдэн удаа гэнэт муудах, санаандгүй байтал сэргэх, эсхүл эдгэрч байснаа хүндрэх үе янз бүрийн хугацаагаар тод ажиглагдана. Хамгийн элбэг илрэх эмнэл зүйн шинж тэмдэг нь халуурах, үржлийн гадаад эрхтэн, дэлэн хөөж хавагнах, хаа нэгтээ усан хаван суух, арьс гөвдрүүтэж хавагнах, туурайн магнайгаар гишгэх, тэнцвэрээ алдах, нүүрний мэдрэл, уруул саажих, нүд гэмтэх, цус багасах ба турж эцнэ. Голчоороо 5-8 см хүртэл томрох 1 см зузаан гөвдрүү арьсан дээр гарч хавагнах шинж тэмдэг байнга биш боловч үе үе илэрнэ. Гөвдрүү нь биеийн аль ч хэсэгт үзэгдэх боловч ихэвчлэн хавирга орчим гарч голдуу 3-7 хоногийн турш тогтвортой оршино. Гөвдрүү гарч хавагнахыг энэ өвчний өвөрмөц хэв шинж гэж олон жил үзэж ирсэн ч *T. evansi* халдварын үед бас гөвдрүүтдэгийг тогтоожээ (Van den Bossche нар, 2009).

Ихэнхдээ хаван арилдаг ч тодорхойгүй хугацааны дараа дахин үүснэ. Хаван дахихын хэрээр тэр орчмын эд зузаарч хатуурна. Үтрээний салст бүрхэвчид хөөж зузаарсан бүүдгэр харагдах товгор илэрнэ. Нугалаатаж хавдсан салст бүрхэвч үтрээний үүдэвчээр цухуйна. Дэлэн, түүнийг тойрсон эд хавагнах нь нийтлэг. Орвон, хярзан, дэлэнд нөсөөгүйжилт илэрнэ. Тээрхий, сэлдий, шамархай ямар нэг хэмжээгээр хавдах нь азарганд энэ өвчний илрэх эхний шинж тэмдэг юм. Хаван хойшоо хуухнаг, цавины тунгалгийн булчирхай, хярзан, урагш хэвлий даган тэлнэ. Хүнд ачлагын азарганд хэвлий тэр чигээрээ хавагнах нь тохиолдоно.

Сэлгэх маягаар халуурах ба тэнцвэр алдагдах, гол төлөв хойд мөч, уруул, хамрын нүх, чих, хоолойн мэдрэлийн хямралын шинж илэрнэ. Ихэвчлэн нүүрний нэг талын мэдрэл саажна. Өвчилж үхсэн тохиолдлоос үзвэл өвчний явц удаан, тэжээлийн дуршил ямагт сайн байдаг ч цус багасах, эцэж турах нь даамжирсаар үхнэ.

Үхсэний дараах задлан шинжилгээгээр арьсан доорх эслэгт цэлцгэнүүр маягийн шүүдэс илэрнэ. Азарганд хуухнаг, шамархай, төмсгийн ширхэглэг холбогч эд зузаарч нэвчдэс үүссэн байна. Зарим тохиолдолд төмсөг жижгэрч хатууран тэмтрэгдэхээргүй болсон байна. Гүүний үүдэвч, үтрээний салст бүрхэвч, сав, давсаг, дэлэн цэлцгэнүүр маягийн нэвчээсээр зузаарна. Ялангуяа хэвлийн хөндий дэх тунгалгийн зангилаа томорч зөөлрөх ба зарим тохиолдолд цус харвасан байна. Босож чадахгүй байсан амьтны нурууны нугас ихэвчлэн зөөлөрсөн, ялангуяа нуруу, ууц хавийн нугас нялцгай, өнгөгүй болсон байна.

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Нийлүүлгийн өвчнийг оношлох шинжилгээний арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүйг тогтоох	Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах	Халдварын тархалт тогтоох – тандалт	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгч илрүүлэх[(a)]						
Дурандах шинжилгээ	–	+	+	+++	–	–
ПГУ/ бодит цагийн ПГУ	–	+	+	+++	+	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ХХУ	++	+++	+++	+++	+++	–
ФЭБШБУ	++	+	++	+	++	–
ЕЛИЗА	+++	+	+++	+	+++	–
ИХС	+	+	+	+	+	–

Түлхүүр үг:

+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
++ = энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй;
ПГУ = полимеразагийн гинжин урвал;
ХХУ = хавсарга холбох урвал;
ФЭБШБУ = флюоресцент эсрэгбиеийн шууд бус урвал;
ЕЛИЗА = энзим холбоост дархлааны урвал;
ИХС = иммунхроматографын сорил

(a) үүсгэгчийг ялган тогтоох төрөл бүрийн шинжилгээг эмнэл зүйн нэг ижил сорьцод хийнэ.

1. Үүсгэгчийг илрүүлэх

1.1. Шимэгч судлалын аргын тойм

Эмнэл зүйн шинж тэмдгийг зөв таньж, шимэгчийг илрүүлэн харуулж, хээлтүүлгээр халдвар дамжсаныг нотолбол өвчний онош баталгаатай тогтоогдоно. Гэвч ийм тохиолдол ховор юм. Учир нь: (а) эмнэл зүйн шинж тэмдэг, эмгэг хувиралт нь өвчин нэлээд лавширсан үед л өвөрмөц байдаг учраас тэдгээрийг ялангуяа өвчний эхэн эсхүл нууц үед тэр бүр онож илрүүлж чаддаггүйгээс гадна нийлүүлгээс үүссэн арьсны тууралт эсхүл *T. evansi* зэрэг бусад трипаносомоор үүссэн халдварын үеийн шинж байдалтай андуурагдах боломжтой (Büscher нар, 2019); (б) трипаносом биед ихэд тархан шимэгчлэх учраас түүнийг амьтны биеийн хавагнасан хэсгээс ч олоход ихээхэн төвөгтэй; (в) халдвар дамжсан замын талаарх мэдээлэл ихэвчлэн хангалтгүй байдаг зэрэг болно.

Хэдийгээр шинж чанарыг нь үргэлжлүүлэн судлах шаардлагатай ч *T. equiperdum*-ын шинэ омгуудыг Этиоп (Dodola), Итали (ICT 2011), Венесуэл (TeAp-N/D1), Монголд (IVM-t1) саяхан ялган авчээ (Hagos нар, 2010; Pascucci нар, 2013; Sánchez нар, 2015a, 2015b; Suganuma нар, 2016). Практик дээр энэ өвчнийг халдвар дамжин тархсан зам, ийлдэс судлал, бичил бие бүтцийн эмгэг судлалаар илрүүлсэн эмнэл зүйн нотолгоонд суурилан оношилж байна.

Халдвар авсан амьтны тунгалгийн болон үржлийн гадаад эрхтний хавангийн шингэн, шээсний суваг, үтрээний салст бүрхэвч (Parkin, 1948), гөвдрүү болон дэлэнгээс гарах шүүрэлд трипаносом цөөн тоогоор агуулагдана (Pascucci нар, 2013; Scacchia нар, 2011). Трипаносом ихэнхдээ цусанд илэрдэггүй бөгөөд харин халдвар авснаас хойш 4-5 хоногт шамархай, үтрээнээс хусаж эсхүл угааж авсан шээсний сүвний эсхүл үтрээний салснаас илэрдэг байна. Гөвдрүү орчмын арьсыг угааж, үсийг нь хусаж хатаасны дараа доторх шингэн агуулагдахууныг тариураар соруулж авна. Цусны судсыг хөндөхгүй. Соруулсан шинэхэн шингэнд хөдөлгөөнт трипаносомыг микроскопоор харж илрүүлнэ. Трипаносом хэдхэн хоногт харагдах учир эмгэгшсэн хэсгийг тодорхой хугацаанд тогтмол шинжилж байх хэрэгтэй. Шимэгч нь цусны зузаан түрхцэд ховор олдох учир хялгасан гуурсанд хурилдуурдах, анион солилцооны бичил хурилдуурдах зэрэг баяжуулалтын арга хэрэглэнэ (Lanham & Godfrey, 1970; Woo 1970).

Trypanosoma equiperdum-ийг аль аль нь адуунд халдварладаг *T. congolense* болон *T. vivax*-аас хэлбэр зүйн хувьд ялгаварлахад харьцангуй амархан байдаг. Гэхдээ *T. evansi* эсхүл *T. Brucei* тохиолддог улс оронд *Trypanozoon* дэд төрлийн бусад трипаносомоос *T. equiperdum*-ийг микроскопоор харж хэлбэр дүрсээр нь (хэлбэр зүй, хөдөлгөөн) ялгаварлахад төвөгтэй. Ялангуяа *T. equiperdum* болон *T. evansi* хоёрыг хэлбэр зүйн шалгууураар ялгаварлах аргагүй. Учир нь хэдийгээр богино бүдүүн хэлбэртэй нь хаа нэгтээ илэрдэг ч хоёул нэг ижил хэлбэртэй, сул төгсгөлтэй шилбүүр бүхий нарийхан трипомастигот юм. Шимэгчийн зонхилох омгийн урт 15.6 - 31.3 мкм-д хэлбэлзэнэ.

1.2. Трипаносомын ДНХ илрүүлэх, ялгаварлан оношлох

Кинетопластид багийн шимэгчийн хамгийн онцлох шинж чанар нь митохондри дахь кинетопласт ДНХ юм. Хээрийн нөхцөлд халдвар авсан малд *T. evansi* -ийн кинетопластикгүй омог (Гимзээр будахад кинетопласт харагддаггүй) олдсон боловч энэ нөхцөлд *T. equiperdum* илрээгүй. Магадлан шинжилж байгаа *T. equiperdum*-д том цагариг ДНХ бүтнээрээ илт харагдаж байвал түүнийг *T. evansi*-аас ялгаварлаж болохыг Ли нар (2007) зөвлөжээ. Нөгөө талаар адуунд гадаргуугийн гликопротеиний RoTat 1.2 хувилбар илрэхгүй байх нь *T. equiperdum*-ийг А хэлбэрийн *T. evansi*-ийн халдвараас ялгаварлах молекулын маркер болдог байна (Claes нар, 2003). Хэдийгээр өвөрмөц полимеразагийн гинжин урвал

(ПГУ) байгаа боловч *Trypanozoon*-дэд төрөлд өвөрмөц ПГУ болон бодит цагийн ПГУ-ыг *T. equiperdum*-ийн ДНХ илрүүлэхэд хэрэглэж болно (Benfodil нар, 2020; Masiga нар, 1992) (Бүлэг 3.1.21 Т*өрөл бүрийн амьтны Су-ауру* [Trypanosoma evansi *халдвар*]-ыг үз). *Trypanozoon* дэд төрлийн шимэгч илрүүлэх өндөр мэдрэмтгий бодит цагийн ПГУ нь нийлүүлгийн өвчний байгалийн халдвар авсан адууны эд, шингэний дээжид хэрэглэгдэж байгаа нь уг шимэгчийг цөөн тоотой байлаа ч илрүүлэх боломж олгоно (Becker нар, 2004; Pascucci нар, 2013).

Хүснэгт 2*. T. equiperdum*-ийн ДНХ илрүүлэхэд хэрэглэж болох Trypanozoon-өвөрмөц энгийн болон бодит цагийн ПГУ-д хэрэглэх праймер болон проб

Бай	Праймер/пробын дараалал (5'→ 3')	Ампликоны урт	Лавлах эх сурвалж
177 bp repeats	TBR1: GAA-TAT-TAA-ACA-ATG-CGC-AG	164bp	Masiga нар, 1992
	TBR2: CCA-TTT-ATT-AGC-TTT-GTT-GC		
177 bp repeats	Tb177F: AAC-AAT-GCG-CAG-TTA-ACG-CTA-T	134 bp	Becker нар, 2004; Pascucci нар, 2013
	Tb177B: ACA-TTA-AAC-ACT-AAA-GAA-CAG-CGT-TG		
18S rDNA	M18SF: CGT-AGT-TGA-ACT-GTG-GGC-CAC-GT	150 bp	Benfodil нар, 2020
	M18SR: ATG-CAT-GAC-ATG-CGT-GAA-AGT-GAG		
	M18SP: TCG-GAC-GTG-TTT-TGA-CCC-ACG-C-MGB-VIC		

2. Ийлдэс судлалын арга

Халдвар авсан амьтанд эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрсэн эсэхээс үл хамааран шингэний дархлааны эсрэгбие үүснэ. Хавсарга холбох урвал (ХХУ)-ыг эмнэл зүйн оношийг баталгаажуулах, нууц халдварыг илрүүлэхэд ашиглана. Халдвар аваагүй адууны овгийн амьтан, ялангуяа илжиг, луус шинжлэхэд тэдний ийлдсэн дэх хавсаргын эсрэг нөлөөний улмаас голдуу хэвийн бус эсхүл өвөрмөц бус урвал үзүүлнэ. Хавсаргын эсрэг нөлөө илэрсэн тохиолдолд эсхүл эмнэл зүйн оношилгооны зорилгоор флюоресцент эсрэгбиеийн шууд бус урвал (ФЭБШБУ), энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА)-ыг нэмж хэрэглэнэ. Олон улсын хэмжээнд нийтээр хүлээн зөвшөөрсөн шинжилгээний арга зүй байхгүй байна. Зарим улсад бусад зүйлийн трипаносом, тухайлбал *T. cruzi, T. vivax, T. evansi* тархсан байдгаас солбицох урвал илрэх боломжтой ажээ. *Trypanosoma equiperdum* нь *Trypanozoon* дэд төрлийн бусад трипаносомтой, тэр дундаа *T. brucei болон T. Evansi*-тай ойр хамааралтай. Энэ дэд төрөлд хамаарах бүх трипаносомын эсийн бүтцийн элемент нэг ижил тогтвортой хадгалагддаг учраас ийлдсийн хүчтэй, солбицох хариу урвалыг өдөөдөг байна. Ийлдэс судлалын оношлох шинжилгээнд ашиглах зориулалттай, одоогоор хэрэглэгдэж буй бүх оношилгооны эсрэгтөрөгч, эсрэг ийлдэс нь тэдгээр тогтмол элемент эсхүл тэдгээрийн эсрэг үүссэн эсрэгбиеийг агуулж байдаг тул дор өгүүлэх ийлдэс судлалын аль ч арга зүй нийлүүлгийн өвчний хувьд өвөрмөц бус юм. Иймд нийлүүлгийн өвчний тохиолдлын оношийг баталгаатай тогтоохын тулд уг өвчний түүх, эмнэл зүйн болон эмгэг бие бүтцийн өөрчлөлтийн дүн, түүнчлэн ийлдэс судлалын шинжилгээний дүнг харгалзан үзнэ (Calistri нар, 2013). Нийлүүлгийн өвчний ийлдэс судлалын оношилгоог эрс сайжруулахын тулд *T. equiperdum*-д илүү өвөрмөц дэд нэгжийн эсрэгтөрөгч болон тэдгээрийн эсрэг үүсэх эсрэгбиеийг гаргаж авах шаардлагатай.

2.1. Хавсарга холбох урвал

Стандарт эсхүл бичил хавтангийн арга хэрэглэнэ. Усан гахайн ийлдсийг (худалдаанд бий) хавсарга болгон ашиглана. Бусад урвалжид вероналын буферт хийж угаасан хонины улаан эс (УЭ), цус задлах туулайн ийлдэс (хонины цусны улаан эсийн эсрэг үүссэн туулайн эсрэгбие), мөн түүнчлэн сөрөг болон эерэг хяналтын ийлдэс орно.

2.1.1. Эсрэгтөрөгчийн үйлдвэрлэл

T.equiperdum-ийг *Trypanozoon* дэд төрлийн бусад трипаносомоос ялгаварлах ийлдэс судлалын арга, молекулын шинжилгээний найдвартай жиших хяналт байхгүй учраас эсрэгтөрөгчийн аливаа бэлдмэлийг бэлтгэхэд *T.equiperdum*-ийн аль омгийг ашиглахыг тогтоож өгөх нь чухал ач холбогдолтой. Мэрэгчийн биед амархан үрждэг *T. Equiperdum*-ийн BoTat, Dodola, TeAp-N/D1 гэсэн омгууд бий. *T. equiperdum* OVI болон IVM-t1 омог *in-vitro* өсгөвөрт дассан омог юм. Дор тодорхойлсон шиг цэвэршүүлээгүй эсрэгтөрөгчийн бэлдмэл нь нийлүүлгийн өвчинд өвөрмөц биш бөгөөд *T. brucei* болон *T. evansi*-аар халдварласан адууны ийлдэстэй солбицох урвалд орно гэдгийг мартаж болохгүй.

2.1.1.1. in-vitro үржүүлсэн шимэгчээс эсрэгтөрөгч бэлтгэх

Басарак нарын (2016) аргад зарим өөрчлөлт оруулж дор дурдсан аргачлалыг боловсруулав. *Trypanosoma equiperdum* OVI (ITMAS 241199C, 2008 онд Антверп дахь Трофикийн анагаах ухааны хүрээлэнгээс худалдаж авсан)-ийг *in-vitro* өсгөврийн орчинд дасгасан байна. Эсийн өсгөвөрт дасгаж шингэн азотод хөлдөөсөн трипаносомын нөөц омгийг хүсэлт гарган авах боломжтой[1].

i) Тэжээлт орчин бэлтгэх урвалж, уусмал

Бодис	Ялгах тэмдэг	Дугаар
1 л-д хийх MEM нунтаг, Ийглийн давс & L-глутаминтай, $NaHCO_3$ (Sigma-Aldrich M0268) агуулаагүй		
2-Меркапто этанол	CAS	60-24-2
Аденозин	CAS	58-61-7
Антибиотик, мөөгөнцрийн эсрэг уусмал (100×)		
Батокупроин дисульфонат	CAS	52698-84-7
Цистейн	CAS	52-90-4
D(+)-глюкоз × 1 H_2O	CAS	50-99-7
Глицерин	CAS	51-81-5
HEPES	CAS	7365-45-9
Изопропанол	CAS	67-63-0
Гипоксантин	CAS	68-94-0
Дөнгөж төрсөн тугалын ийлдэс, халааж идэвхгүйжүүлсэн (NCS)		
Калийн хлорид	CAS	7447-40-7
Магнийн сульфат × 7 H_2O	CAS	10034-99-8
MEM non-essential (100×)		
Натрийн пуриват	CAS	113-24-6
Натрийн хлорид	CAS	7647-14-5
Натрийн гидроген карбонат	CAS	144-55-8
Na_2HPO_3 × 12 H_2O	CAS	10039-32-4
NaH_2PO_3 × 2 H_2O	CAS	10049-21-5
Орнитин/HCl	CAS	3184-13-2
Тимидин	CAS	50-89-5
Гипоксантин 100× нөөц уусмал	225 мл H_2O, 340 мг гипоксантин, 25 мл 1 M NaOH. Усан ваннад 55°C-д 20 минут хутгана. 0.22 мкм шүүлтүүрээр шүүгээд. 4°C-д хадгална.	
Цистеин/батокупроин-дисулфонат 100× нөөц уусмал	225 мл H2O, 705 мг батокупроин-дисулфонат, 4550 мг цистеин, 25 мл 2 M HCl. 55°C-д 20 минут хутгана. 0.22 мкм шүүлтүүрээр шүүгээд 4°C-д хадгална.	

ii) 15% NCS бүхий тэжээлт орчин бэлтгэх (3 литрт хийх жишээгээр)

Татах шүүгээ дотор 10 мл усанд 47 мкл 2-меркапто-этанол нэмнэ. 5 литрийн колбод 2430 мл H_2O хийгээд дээр нь MEM нунтаг 3 уут, 6.6 г NaHCO3, 17.85 г

[1] ДМАЭМБ, Нийлүүлгийн өвчний лавлах лабораториос авах боломжтой: https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3

HEPES, 3 г глюкоз, 0.66 г натрийн пуриват, 15 г орнитин, 0.012 г тимидин, 0.039 г аденозин, 30 мл MEM 100х нөөц уусмал, 15 мл антибиотик, мөөгөнцрийн эсрэг 100 х нөөц уусмал, 10 мл 2-меркапто-этанол шингэлэгч нэмнэ. NaOH болон HCl-ээр pH-ийг 7.4 болгон тохируулаад 10 минут зайлна. 30 мл гипоксантины 100 × нөөц уусмал, 30 мл цистеин/батокупройн-дисульфонатын 100 × нөөц уусмал нэмнэ. NaOH болон HCl-ээр pH-ийг 7.4 болгон тохируулаад 2550 мл хүртэл ус нэмнэ.

1 литрийн гурван колбод тус бүр 150 мл NCS хийнэ. Колбыг 0.22 мкл шүүлтүүрээр шүүсэн 850 мл тэжээлт орчноор дүүргэнэ. Сайтар холиод 4°C-д хадгална. Тэжээлт орчин 8 долоо хоног тогтвортой байна.

iii) Трипаносом шингэлэх буферийн pH 7.7 бүхий бэлдмэл

450 мл усанд 3.23 г Na2HPO4 × 12 H_2O, 0.14 г NaH_2PO_4 × H_2O, 0.19 г KCl, 2.34 г NaCl, 0.13 г $MgSO_4$ × 7 H_2O, 1.80 г D(+)-Глюкоз х H_2O уусгана. NaOH & HCl-ээр pH-ийг 7.7 болгон тохируулна. 500 мл хүртэл ус нэмнэ. 0.22 мкм шүүлтүүрээр шүүнэ. 4°C-д хадгална (наад зах нь 8 долоо хоног тогтвортой).

iv) 5% поливинилпиролидон (PVP), 0.01% мертолиат-давсны хүчлийн уусмал бэлтгэх

0.5 мл H_2O-д 4.25 мг NaCl, 5 мг натрийн этил мөнгөн усны тиосалицилат уусгаж 1% мертиолат натри хлорын уусмал бэлтгэнэ. 50 мл-ийн колбод 40 мл H_2O нэмж 425 мг NaCl, 2.5 г PVP 25 хийж уусгана. 0.5 мл 1% мертиолат натри хлорын уусмал нэмээд 50 мл болтол H_2O нэмнэ. 0.22 мкм шүүлтүүрээр шүүнэ. 4°C-д хадгална.

v) Нэг мл тус бүрд гадаргуу-эзлэхүүний харьцаа 3.25 $см^2$ буюу гурван давхар T-500 өсгөврийн колбод 154 мл тэжээлт орчин хийгээд 1 × 10^5 трипаносом/мл агуулсан трипаносомын өсгөвөр бэлтгэн 37°C-д CO_2 бүхий орчинд өсгөвөрлөнө.

vi) Трипаносомыг 1.5–2 × 10^6/мл төвшрүүлэгтэй байхад нь долоо хоногт 1-2 удаа эсийн өсгөврийн 400 мл-ийн тэжээлт орчинд хурааж авна. Бүх ажиллагааны туршид трипаносомыг мөсөн дээр байлгана. Трипаносом агуулсан тэжээлт орчныг 50 мл-ийн хэд хэдэн цодонд хийгээд хурилдуурдана (10 минут, 4°C, 1300 *g*). 8 цодонгийн тунашийг трипаносом шингэлэх, мөсөнд хөргөсөн бага зэрэг буферээр шингэлээд 50 мл-ийн шинэ, ариун нэг цодонд шилжүүлнэ. Трипаносомыг хоёр удаа трипаносом шингэлэх буферээр угааж дээд шингэн хэсгийг бүрэн авна (10 минут, 4°C, 1300 *g*). Тунашийг –20°C-д хадгална. Цустай агар ашиглан бэлдмэлийн ариун байдлыг баталгаажуулна.

vii) Бүх тунаш дахь нийт эсийн тоог тодорхойлно. Шинээр поливинилпиролидон-мертолиатын уусмал (1 мл тутамд 1 × 109 трипаносом) бэлтгэнэ. Хөлдөөсөн тунашийг мөсөн дээр тавьж гэсгээгээд дээр нь тооцоолсон эзлэхүүний 50% хэмжээтэй 5% поливинилпиролидон, 0.01% мертолиат-давсны хүчлийн мөс шиг хүйтэн уусмал нэмж шингэн болгоод шинэ, ариун 50 мл цодонд нийлүүлэн хийнэ. Тооцоолсон эзлэхүүнийг 100% болтол мөс шиг хүйтэн 5% поливинилпиролидон, 0.01% мертолиат-давсны хүчлийн уусмалаар дүүргэнэ. 200 мкл эсрэгтөрөгчийн уусмалыг ариутгасан мөлгөр амсартай лонхонд хийгээд (ажиллагааны явцад хэд хэдэн удаа сайтар холино) тээвэрлэлтэд зориулсан мөс бүхий биоаюулгүйн хайрцагт хийж –80°C-ын хөлдөөгчид байрлуулна. Хөлдөөн хатаагч багажийг асаагаад 90 минутын дараа түүнд хөлдүү эсрэгтөрөгчтэй лонхыг байрлуулна. Хөлдөөн хатаалтыг хонуут гүйцэтгэнэ. Хөлдөөн хатаалтыг дараа өдөр нь дуусгаж тэр даруй лонхыг нягт таглаад эсрэгтөрөгчийг –20°C-д хадгална. Эсрэгтөрөгчийг жижиг хэмжээгээр тэнцүү хуваагаад –80°C-д хадгалах хувилбар бас бий. Стандартын нам таньцын эсрэг ийлдсийг 1/5-аар шингэлэн таньцлах замаар эсрэгтөрөгчийн ажлын шингэлэлтийг стандартчилна.

2.1.1.2. in-vivo үржүүлж байгаа шимэгчээс эсрэгтөрөгч бэлтгэх

Үйлдвэрлэлд баримталдаг 3R зарчмыг харгалзан өвчин үүсгэгчийг *in-vitro* нөхцөлд үржүүлэх боломжгүй нөхцөлд л дор дурдсан *in-vivo* үржүүлэх аргачлалыг авч үзнэ.

i) хөлдүүгээр нь хадгалж байгаа *T. equiperdum*-ийн эх нөөцийн амьдрах чадвартай эсэхийг цусны түрхцийн аргаар тогтоосны дараа тусгайлан заасан эмгэг төрүүлэгчгүй харханд CO_2 эсхүл изофлуранаар мэдээгүйжүүлсний дараа халдвар хийнэ. Хөлдүү байгаа үүсгэгч (стабилат)-ийг түргэн гэсгээгээд бие

гүйцсэн хархны хэвлийн хөндийд 0.3-1.0 мл-ээр тарина. Шимэгч цусанд хангалттай үржсэний дараа эхний хархнуудыг мэдээгүйжүүлээд гепарин зэрэг цус үл бүлэгнүүлэгчтэй хуруу шилэнд эсхүл олон харханд халдвар хийх нөөц өсгөвөр байдлаар хэрэглэх бол Алсеверийн уусмал дүүргэсэн тариураар хархны зүрхнээс шууд хатгалт хийж цус авна.

ii) 20-100-н том хархыг энэ нөөц өсгөврөөс хэвлийн хөндийд нь 0.3–1.0 мл тарихын өмнө яаралтай мэдээгүйжүүлнэ. Бүх харх ижил хүнд хэлбэрээр халдвар авсан байх шаардлагатай. Халдварын дараах 72-96 цагийн доторх аль шаардлагатай гэсэн үед шимэгчийн цусан дахь үржилтийг дээд зэрэгт хүргэх үүднээс шаардлагатай бол халдварлуулах тунг өөрчлөх ба нэмж өөр харханд халдвар хийнэ. Харх гол төлөв 3-5 хоногт үхэх тул үүнээс өмнө сүүлнээс нь өдөр бүр цус авч нимгэн түрхэц бэлтгээд микроскопоор шалгана. Шимэгчийн үржилт дээд хэмжээнд хүрэхэд хархыг CO_2-оор унтуулж зүрхэнд нь хатгалт хийж цус авна. Дор тодорхойлсон хоёр арга болох үелүүлэн хурилдуурдах, анион солилцооны хроматографын аргын аль нэгээр трипаносомыг цуснаас ялгана.

iii) Үелүүлэн хурилдуурдах арга хэрэглэх бол халдвартай хархны цусыг Алсеверийн шингэн эсхүл хүчил-цитрат-декстрозын уусмалд (ХЦДУ) авна. Авсан цусыг нийлүүлж сайтар холиод хурилдуурын конус хэлбэрийн 50 мл-ийн цодонд 45 мл-ээр хувааж хийнэ. Цодонг 4°C-д 2500 *g*-д 10 минут хурилдуурдана. Цодонгийн агуулагдахууныг дараах гурван хэсэгт (дээрээс нь эхлээд ёроол хүртэл) хуваана: ийлдэс/үл бүлэгнүүлэгч, трипаносом/цагаан эс, улаан эс.

iv) Ийлдэс/үл бүлэгнүүлэгчийн үеийг авч асгана. Цодон бүрээс трипаносом/цагаан эсийн үеийг авч трипаносомыг бүгдийг нь нэгтгэж хийх багтаамжтай саванд хийнэ. Мөн трипаносом/цагаан эсийн үеэс доош 1-3 мл орчим улаан эсийн үед трипаносом агуулагддаг учраас трипаносом/цагаан эсийн үеийн доод улаан эсийн үеэс цөөн хэдэн мл авч трипаносом нэгтгэж хийсэн саванд нэмнэ.

v) Улаан эсийг зайлуулах зорилгоор трипаносомыг угаахдаа нийлүүлсэн цус авахад хэрэглэсэнтэй ижил үл бүлэгнүүлэгч хэрэглэх ба дараах байдлаар хэд хэдэн удаа угаана. Нийлүүлсэн трипаносомын үеэс 25 мл орчмыг авч 50 мл-ийн конус цодонд хийнэ. Цодон тус бүрд түүний нийт эзлэхүүний 45 мл хүртэл үл бүлэгнүүлэгч нэмсний дараа 4°C-д 2500 *g* -ээр 10 минут хурилдуурдана. Трипаносомтой үеийг дахин авч хадгална. Энэ угаалтыг улаан эс трипаносомын үед бараг байхгүй болтол давтана.

vi) Трипаносомын үеийг хөлдөөн хатаалтын орчинтой (5% ПВП) хольж эсрэгтөрөгч бэлтгэх цэвэрлэсэн трипаносомыг шингэлнэ. Ихэнхдээ трипаносомын үе, хөлдөөн хатаалтын орчны шингэлэлтийн эхний харьцаа 1:5 байна. ХХУ хэрэглэхийн өмнө эсрэгтөрөгчийг мөсөнд хөргөсөн гар ажиллагаатай эсхүл мотортой шилэн гомогенизатороор нарийн цийдмэг болгоно (Watson, 1920). Эсрэгтөрөгчийг хэсэгчлэн хуваагаад хөлдөөх ба эсхүл хөлдөөн хатаана.

vii) Анион солилцооны хроматограф хэрэглэх бол цусыг гепаринтай хуруу шилэнд авч глюкоз агуулсан pH 8.0 фосфатын буфер уусмалаар тэнцвэржүүлсэн диэтиламиноэтилийн (DEAE) целлюозын гель электрофорезд ачаална (Lanham & Godfrey, 1970). Цусны эсийг гель дээр үлдээх ба салгаж авсан трипаносомыг 1000–1500 *g*-д 15 минут хурилдуурдана. Тунаж үлдсэн нэг эзлэхүүний нэгж трипаносомыг мөсөнд хөргөсөн фосфатын буферээр (0.01 M, pH 8.0) шингэлж гипотоник шоконд оруулан задална. Дараа нь цийдмэгийг 42,000 *g*-д 1 цаг хурилдуурдаж дээд шингэн хэсгийг цуглуулж 0.22 мкм шүүлтүүрээр шүүнэ. Дээд талын энэ тунгалагшуулсан шингэнд трипаносомын усанд уусдаг хэсэг агуулагдана. Уургийн агууламжийг UV спетрофотометрээр эсхүл ижил төстэй аргаар тодорхойлж энэхүү эсрэгтөрөгчийн бэлдмэлийг жижиг хэмжээгээр хуваагаад –80°C-д хадгална. Эсрэгтөрөгчийг 1/5-аар шингэлсэн нам таньцтай эсрэг ийлдсээр таньцалж стандартчилна.

2.1.2. Ийлдэс

Эерэг, сөрөг ийлдсийг шинжилгээнд хэрэглэхийн өмнө 58°C-д 30 минут идэвхгүйжүүлнэ. Луус, илжигний ийлдсийг 62°C-д 30 минут идэвхгүйжүүлнэ. АНУ-ын ХАА-н департаментийн хавсарга холбох урвалын зааварт ийлдсийг 35 минут идэвхгүйжүүлэхээр заасан байдаг (АНУ-ын ХАА департамент, 2016). Илрүүлэх шинжилгээнд эерэг гарсан ийлдэсний шингэлэлтийг эсрэгтөрөгчийн хоёр нэгжийн

эсрэг таньцлана. Илрүүлэх шинжилгээний ийлдсийг 1/5-аар шингэлнэ. Энэ шингэлэлтэд хавсарга холболт 50%-иас дээш байвал ихэвчлэн эерэг гэж үздэг.

2.1.3. Хавсаргын эсрэг ийлдэс

Хэрэв шалгалтаар хавсаргын эсрэг нөлөө ул мөр төдий илэрвэл түүнийг үл хэрэгсэнэ. Хавсаргын эсрэг нөлөөтэй бусад бүх ийлдсийн идэвхийг таньцалж тогтооно. Дараалсан шингэлэлтийг зэрэгцүүлж хийх ба дээжийг шинжлэхдээ эхний мөрийг *T. equiperdum* эсрэгтөрөгч, хоёр дахь мөрөнд зөвхөн вероналын буфер хийж дахин шинжилнэ. Хоёр дахь мөр нь хавсаргын эсрэг нөлөөний таньцыг заана. Эхний мөрний таньцлалтын төгсгөлийн цэг хоёр дахь мөрнийхөөс наад зах нь гурван шингэлэлтээр илүү байвал хавсаргын эсрэг нөлөөгүй гэж үзэх ба дээжийг эерэгт тооцно. Шинжилгээний үр дүн үүнтэй ойрхон гарвал ийлдэсний дээж шинээр авч шинжилнэ.

2.1.4. Буфер ба урвалж

i) Трипаносомыг шингэлэх буфер - pH 7.7: 18 mM Na_2HPO_4 12 H_2O, 2 mM NaH_2PO_4 H_2O, 5 mM KCl, 80 mM NaCl, 1 mM $MgSO_4$ 7 H_2O, 18 mM глюкоз.

ii) 5% PVP-г 1/10,000 харьцаагаар мертиолат–NaCl уусмалд найруулах: 145 mM NaCl, 1% 25 mM мертиолат-145 mM NaCl уусмал болон 5% PVP.

Урвалж шингэлэх, хонины улаан эс угаахад pH 7.4 бүхий 0.15M вероналын буфержүүлсэн давс, эсхүл худалдаанд гарсан аль ч ФБУ-ыг хэрэглэнэ. Эсрэгтөрөгчийг урьдчилан дахин таньцлаад шинжилгээнд хоёр нэгжээр хэрэглэнэ. Усан гахайн хавсаргыг түүний цус задлах идэвхийг тогтоосны дараа шинжилгээнд хоёр нэгж орохоор тооцож шингэлнэ. Алсеверийн шингэн эсхүл өөр ХЦДУ-тэй хонины улаан эсийг гурав дахин угаана. Цус задлах системд 3%-ийн уусмал хэрэглэнэ. АНУ-ын ХАА-н департаментийн бичил таньцын аргачлалд 2%-ийн уусмал хэрэглэхээр зааварласан байдаг (ХАА департамент, 2016). Хонины улаан эсийн эсрэг туулайн, цус задлах таньцалсан ийлдэс нь түүний цус задлах таньцаас хоёр дахин их төвшрүүлэгтэй (хоёр нэгж) юм. Шинжлэх бүх ийлдсийг эерэг, сөрөг хяналтын хамт шинжилгээ эхлэхээс өмнө 1/5 шингэлэлтэй болгон идэвхгүйжүүлнэ.

2.1.5. Эхний шингэлэлт

i) Шинжлэх болон эсрэг, сөрөг ийлдэс тус бүрийн 1 нэгжийг вероналын буферийн 5 нэгжээр шингэлнэ.

ii) Уусмалыг усан ванны 58°C-д 30 минут байлгаж хавсарга болон хавсаргын эсрэг хүчин зүйлийг идэвхгүйжүүлнэ. Илжиг, луусын ийлдсийг 63°C-д 30 минут идэвхгүйжүүлнэ.

2.1.6. Илрүүлэх шинжилгээний аргачлал

i) Гурван үүр тус бүрд 25 мкл идэвхгүйжүүлсэн шинжлэх ийлдэс хийнэ.

ii) Гурван үүр тус бүрд 25 мкл идэвхгүйжүүлсэн хяналтын ийлдэс хийнэ.

iii) Ийлдэс тус бүрийн эхний үүрэнд 25 мкл *T. equiperdum*-ийн 2 нэгж агуулах шингэлсэн эсрэгтөрөгч хийнэ.

iv) Ийлдэс тус бүрийн эхний 2 үүрэнд 25 мкл 2 нэгж агуулах шингэлсэн хавсарга хийнэ.

v) Ийлдэс тус бүрийн 2 дахь үүрэнд pH 7.4 бүхий 25 мкл вероналын буфер, нэмнэ (хавсаргын эсрэг нөлөөний үүр).

vi) Ийлдэс тус бүрийн 3 дахь үүрэнд pH 7.4 бүхий 50 мкл вероналын буфер нэмнэ (задлах идэвхийн үүр).

vii) Хавсаргын хяналтыг бэлтгэнэ.

viii) Бичил зайлагч дээр хавтанг тавьж урвалжийг сайн холихуйцаар зайлна.

ix) Хавтанг 37°C-д усан ванн, дулаан тогтоогуур эсхүл чийгээ барьдаг хайрцагт 1 цаг байлгана.

x) Цус задлах системийг бэлтгэнэ. Тогтмол дулаанд байлгах эхний 50 минутын дараа хонины улаан эсийг мэдрэгжүүлнэ. Үүний тулд 50 мкл тутамд хоёр нэгж агуулах цус задлах туулайн ийлдсийг ижил эзлэхүүн бүхий угаасан улаан эсийн 3% цийдмэгтэй сайтар холино. Энэ уусмалыг 37°C-д 10 минут байлгана.

xi) Үүний дараа цус задлах системээс 50 мкл-ийг үүр бүрд нэмнэ.

xii) Бичил зайлагч дээр хавтанг тавьж урвалжийг хангалттай холихоор зайлна.

xiii) Хавтанг 37°C-д 1 цаг байлгана. Үүний дараа хавтанг хурилдуурдвал үр дүнг уншихад амар болно.

xiv) *Үр дүнг унших:* доор нь гэрэл тавьж байгаад хавтанг дээрээс нь харна. Үүр тус бүр дэх хавсарга холбогдолтыг задраагүй байгаа эсийн хувь харьцааг гаргаж үнэлнэ. Холбогдолтын зэргийг 0, 1+, 2+, 3+, 4+ (0%, 25%, 50%, 75%, 100% эс задраагүй) гэж үнэлнэ. Урвалын дүнг хэрэв 4+, 3+, 2+ байвал эерэг, 1+ байвал сэжигтэй, үл мэдэг төдий байвал сөрөг, бүрэн задраагүй байвал сөрөг гэж тус тус үнэлнэ.

xv) *Төгсгөлийн цэгийн таньцлалт:* 1/5 шингэлэлтэд эерэг урвал өгсөн бүх ийлдсийг дараалан давхар шингэлээд төгсгөлийн цэгийн таньцлалтыг дээр дурдсан аргаар шинжилнэ.

2.2. Флюоресцент эсрэгбиеийн шууд бус урвал

Нийлүүлгийн өвчинд зориулсан флюоресцент эсрэгбиеийн шууд бус урвалыг баталгаажуулах шинжилгээ болгож эсхүл ХХУ-аар гарсан эргэлзээтэй дүнг магадлах зорилгоор хэрэглэнэ. Шинжилгээг дараах байдлаар хийнэ:

2.2.1. Эсрэгтөрөгч

(Б.2.1 хэсэг дэх ХХУ-ын эсрэгтөрөгч бэлтгэх аргыг үзэх). Гепаринтай вакум хуруу шилэнд эсхүл хүчил-цитрат-декстрозын уусмалд трипаносомын тоо нь олширсоор байгаа амьтнаас цус авна (микроскопын 10×40 харааны талбай бүрд 10-аас илүү шимэгч байх ёстой).

i) Цусыг 800 *g*-д 10 минут хурилдуурдана.

ii) Бэлтгэсэн улаан эс дээр ФБУ-аас 1-2 эзлэхүүн хэмжээгээр нэмээд холимгийг зайлж бодисын шилэн дээр жигд тараан түрхэц бэлтгэнэ.

iii) Түрхцийг агаарт хатаасны дараа тус бүрийг цаасаар ороож дөрвөөр нь багцална. Багцалсан түрхцийг нимгэн хөнгөн цагаан цаасанд ороогоод агаар орохооргүй хайрцагт хийж цахиуртай гельээр битүүмжлээд

–20°C эсхүл –80°C-д хадгална.

iv) Түрхэц идэвхээ –20°C-д 1 жил орчим хадгалах ба –80°C-д илүү удаан хугацаанд хадгална.

2.2.2. Хүчил-цитрат-декстрозын уусмал

100 мл цус тутамд 15 мл-ийг хэрэглэнэ.

2.2.3. Коньюгат

Адууны иммунглобулины эсрэг, флюорофороор тэмдэглэсэн (худалдаанд гарсан).

2.2.4. Шинжлэх аргачлал

i) Эсрэгтөрөгч бүхий түрхцийг чийг шингээгчтэй савand тавьж тасалгааны хэмтэй болгоно. Эсхүл түрхцийг хөлдөөгчөөс шууд гаргаад ацетоноор 15 минут бэхжүүлэх өөр нэг хувилбар бий.

ii) Түрхцэд тэмдэглэгээ хийнэ.

iii) ФБУ-аар шингэлсэн шинжлэх ийлдсийг түрхцийн шил дээр хоорондоо зайтай толбо үүсгээд түүнийг чийгээ барьдаг хайрцагт хийж орчны хэмд 30 минут байлгана.

iv) Түрхцийг pH 7.2 бүхий ФБУ-аар 3 удаа тус бүр 5 минутаар угаагаад агаарт хатаана.

v) Зөв шингэлэлт бүхий флюоресценц тэмдэглээтэй коньюгат нэмнэ. Коньюгатын шингэлэлтийг хамгийн оновчтой тогтоохын тулд тухайн цуврал эсрэгтөрөгч болон коньюгатыг өөр хооронд нь хяналтын ийлдэс ашиглан таньцлана. Түрхцийг чийгээ барьдаг хайрцагт хийж тасалгааны хэмд 30 минут байлгана.

vi) Түрхцийг ФБУ-аар 3 удаа тус бүр 5 минутаар угаагаад агаарт хатаана. Суурь гэрэлтэлтийг бууруулахын тулд Эвансын хөхөөр (нэрмэл усанд 0.01%) 1 минут тодосгох будалт хийж ФБУ-аар угааж агаарт хатаах өөр хувилбар бий.

vii) Түрхцийг глицерин/ФБУ (50/50), иммерсийн тос (худалдаанд гарсан, гэрэлтэлт өгдөггүй) эсхүл гэрэлтдэг будагт зориулсан бэхлэгч урвалжаар бүрхэнэ.

viii) Дараа нь түрхцийг UV гэрэлд харж шалгана. Тохирох шүүлтүүр ашиглан гэрлээр нэвт харна. Түрхцийг 4°C-д 4-5 хоног хадгална. 1/80 ба түүнээс дээш харьцаагаар шингэлсэн ийлдэс шимэгчий тод гэрэлтүүлэн харагдуулж байвал ихэвчлэн эерэгт тооцдог. Гэрэлтэлтийн эрчмийг тогтооход шинжлэгчээс туршлага шаардагдана.

Шинжилгээ хийх бүрдээ хяналтын стандарт эерэг, сөрөг ийлдсийг хамт шинжлэх ба ийлдэс шинжилсэн үр дүнг гаргахдаа эдгээр хяналтын ийлдэсний флюоресценцийн байдлыг зохих ёсоор харгалзана.

2.3. Энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА)

Нийлүүлгийн өвчний ЕЛИЗА шинжилгээг боловсруулж ийлдэс судлалын бусад аргатай харьцуулжээ (Wassall нар, 1991).

Бичил хавтанг эсрэгтөрөгчөөр бүрэхэд хэрэглэх карбонатын буфер - pH 9.6: Na_2CO3 (1.59 г); $NaHCO_3$ (2.93 г); нэрмэл ус (1литр). Эсрэгтөрөгчийн уусмал бэлтгэх өөр хувилбар нь: ФБУ (KH_2PO_4 [0.2 г]; Na_2HPO_4 12 H_2O [2.94 г]; NaCl [8.0 г]; KCl [1 литр нэрмэл усанд 0.2 г]) байж болно.

2.3.1. Саатуулагч буфер

Карбонатын буфер + үнээний хээлийн 3%-ийн ийлдэс (ҮХИ), эсхүл ФБУ + 1% (ж/э) казеин.

2.3.2. Угаалтад хэрэглэх Твин 20-той ФБУ, pH 7.4

ФБУ + 0.05% (ж/э) Твин 20.

2.3.3. Дээж болон коньюгатын буфер

ФБУТ + 6% ҮХИ, эсхүл ФБУ+ 1% (ж/э) казеин

2.3.4. Субстрат илрүүлэх систем

ABTS (2,2’-azino-bis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid]) (худалдаанд гарсан).

2.3.5. Коньюгат

Адууны IgG эсрэг, пероксидазагаар тэмдэглэсэн (худалдаанд гарсан).

2.3.6. Эсрэгтөрөгч

Б.2.1.хэсэгт заасан ХХУ-ын эсрэгтөрөгч бэлтгэх арга зүйг үз

2.3.7. Шинжлэх аргачлал

i) 2, 4, 6 гэх мэтчилэн баганын үүрийг 100 мкл эсрэгтөрөгч (2 мкг/мл),1, 3, 5 гэх мэтчилэн баганын үүрийг карбонатын ижил хэмжээний буфер эсхүл ФБУ-аар дүүргэнэ. Хавтанг 37°C-д 40 минут (эсхүл 4°C-д хонуут) чийгээ барьдаг хайрцагт байлгаад үүр тус бүрд 350 мкл саатуулагч буфер нэмнэ. Хавтанг тасалгааны хэмд 1 цаг байлгаад ФБУТ-ээр гурван удаа тус бүр 3 минутаар угаана.

ii) Шинжлэх ийлдэс 150 мкл, дээж/коньюгатын буферээр урьдчилан 1/100 харьцаагаар шингэлсэн адууны хяналтын ийлдсийг эсрэгтөрөгчтэй болон эсрэгтөрөгчгүй үүрэнд зэрэгцүүлэн нэмнэ. Хавтанг 1 цаг тавиад гурван удаа ФБУТ-ээр угаана.

iii) Дээж/коньюгатын буферээр зөв шингэлсэн коньюгатыг бүх үүрэнд 150 мкл эзлэхүүнээр нэмнэ. Хавтанг 1 цаг байлгаад гурван удаа ФБУТ-ээр угаана.

iv) 150 мкл субстрат илрүүлэгч системийг бүх үүрэнд нэмээд 1 цаг байлгана.

v) Хавтанг 10 секунд зайлаад үр дүнг 410-420 нанометрийн хоорондын гэрлийн долгионы уртад уншина.

vi) *Үр дүнг тооцох:* эсрэгтөрөгчтэй үүрний гэрэл шингээлтээс эсрэгтөрөгчгүй үүрний гэрэл шингээлтийг хасаж цэвэр ялгааг гаргана. Урвалын гэрэл шингээлтийн ялгааны утга 0.3-аас дээш бол үр дүнг эерэг гэж үзнэ.

Эерэг, сөрөг хяналтын стандарт ийлдсийг шинжилгээ хийх бүртээ хамт шинжилнэ.

2.4. Ийлдэс судлалын бусад арга

Радио иммунологийн арга, иммунэлектрофорезийн түргэн арга, агарын гельд нэвчүүлэх арга зэрэг ийлдэс судлалын бусад арга хэрэглэж ирсэн ч тэд өдгөө үеэ өнгөрөөжээ. Тун саяхнаас *T. evansi*-аас рекомбинант эсрэгтөрөгч бэлтгэн иммунхроматографын, *T. equiperdum* OVI омгийн хувиргаагүй эсрэгтөрөгчөөр иммунблотын аргыг тус тус боловсруулаад байгаа бөгөөд тэдгээрийн үнэлгээ хийгдэж байна (Davaasuren нар, 2017; Luciani нар, 2018).

В. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

Энэ өвчинд зориулсан вакцин байхгүй. Энэ өвчинтэй амжилттай тэмцэх арга нь халдвар авсан амьтныг устгах явдал юм. Бохирдсон зүйлээр халдвар дамжих боломжтой тул зориудын хээлтүүлгийн явцад эрүүл ахуйн зохих дадлыг баримтлах нь чухал.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

BARNER R.D. (1963). Protozoal diseases. *In:* Equine Medicine and Surgery, Bone J.F. *et al.*, eds. American Veterinary Publications, Santa Barbara, California, USA, 205–210.

BASSARAK B., MOSER I. & MENGE C. (2016). *In vitro* production of *Trypanosoma equiperdum* antigen and its evaluation for use in serodiagnosis of dourine. *Vet. Parasitol.* **223**, 133–140.

BECKER S., FRANCO J.R., SIMARRO P.P., STICH A., ABELE P.M. & STEVERDING D. (2004). Real-time PCR for detection of

Trypanosoma brucei in human blood samples. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.,* **50**, 193–199.

BENFODIL K., BÜSCHER P., ABDELLI A., VAN REET N., MOHAMED-HERIF A., ANSEL S., FETTATA S., DEHOU S., BEBRONNE N., GEERTS M., BALHARBI F. & AIT-OUDHIA K. (2020). Comparison of serological and molecular tests for detection of *Trypanosoma evansi* in domestic animals from Ghardaïa district, South Algeria. *Vet. Parasitol.*, **280**,109089.

BÜSCHER P., GONZATTI M.I., HÉBERT L., INOUE N., PASCUCCI I., SCHNAUFER A., SUGANUMA K., TOURATIER L., VAN REET N. (2019). Equine trypanosomosis: enigmas and diagnostic challenges. *Parasit. Vectors*, **12**, 234.

CALISTRI P., NARCISI V., ATZENI M., DE MASSIS F., TITTARELLI M., MERCANTE M.T., RUGGIERI E. & SCACCHIA M. (2013). Dourine re-emergence in Italy. *J. Equine Vet. Sci.,* **33**, 83–89.

CLAES F., AGBO E.C., RADWANSKA M., TE PAS M.F., BALTZ T., DE WAAL D.T., GODDEERIS B.M., CLAASSEN E. & BUSCHER P. (2003). How does *T. equiperdum* fit into the *Trypanozoon* genus? A cluster analysis and multiplex genotyping approach. *Parasitol,* **126***,* 425–431.

CUYPERS B., VAN DEN BROECK F., VAN REET N., MEEHAN C.J., CAUCHARD J., WILKES J.M., CLAES F., GODDEERIS B., BIRHANU H., DUJARDIN J.-C., LAUKENS K., BÜSCHER P. & DEBORGGRAEVE S. (2017). Genome-wide SNP analysis reveals distinct origins of *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma equiperdum*. *Genome Biol. Evol.*, **9**, 1990–1997.

DAVAASUREN B., AMГALANBAATAR T., MUSINGUZI S.P., SUGANUMA K., OTGONSUREN D., MOSSAAD E., NARANTSATSRAL S., BATTUR B., BATTSETSEG B., XUAN X. & INOUE N. (2017). The evaluation of GM6-based ELISA and ICT as diagnostic methods on. a Mongolian farm with an outbreak of non-tsetse transmitted horse trypanosomosis. *Vet. Parasitol.*, **244**, 123–128.

HAGOS A., DEGEFA G., YACOB H., FIKRU R., ALEMU T., FESEHA G., CLAES F. & GODDEERIS B.M. (2010). Seroepidemiological survey of *Trypanozoon* infection in horses in the suspected dourine-infected Bale highlands of the Oromia region, Ethiopia. *Rev. Sci. Tech*, **29**, 649–654.

HENNING M.W. (1955). Animal Diseases in South Africa, Third Edition. Central News Agency, South Africa.

HOARE C.A. (1972). The Trypanosomes of Mammals. A Zoological Monograph. Blackwell Scientific Publications, Oxford & Edinburgh, UK.

LANHAM S.M. & GODFREY D.G. (1970). Isolation of salivarian trypanosomes from man and other mammals using DEAE- cellulose. *Exp. Parasitol*, **28**, 521–534.

LI F.J., GASSER R.B., LAI D-H., CLAES F., ZHU X-Q. & LUN Z-R. (2007). PCR approach for the detection of *Trypanosoma brucei* and *T. equiperdum* and their differentiation from *T. evansi* based on maxicircle kinetoplast DNA. *Mol. Cell. Probes*, **21**, 1–7.

LUCIANI M., DI FEBO T., ORSINI M., KRASTEVA I., CATTANE O.A., PODALIRI VULPIANI M., DI PANCRAZIO C., BACHI A. & TITTARELLI M. (2018). *Trypanosoma equiperdum* Low Molecular Weight Proteins As Candidates for Specific Serological Diagnosis of Dourine. *Front. Vet. Sci.*, **5**, 40. doi: 10.3389/fvets.2018.00040. eCollection 2018.

MASIGA D.K., SMYTH A.J., HAYES P., BROMIDGE T.J. & GIBSON W.C. (1992). Sensitive detection of trypanosomes in tsetse flies by DNA amplification. *Int. J. Parasitol.*, **22**, 909–918.

PARKIN B.S. (1948). The demonstration and transmission of the South African strain of *Trypanosoma equiperdum* of horses. *Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Ind*, **23**, 41–57.

PASCUCCI I., DI PROVVIDO, A., CAMMÀ C., DI FRANCESCO G., CALISTRI P., TITTARELLI M., FERRI N., SCACCHIA M. & CAPORALE V. (2013). Diagnosis of dourine outbreaks in Italy. *Vet. Parasitol.*, **193**, 30–38.

ROUGET J. (1896). Contribution à l'étude du trypanosome des mammifères. *Annales Inst. Pasteur*, **10**, 716–728. SANCHEZ E., PERRONE T., RECCHIMUZZI G., CARDOZO I., BITEAU N., ASO P.M., MIJARES A., BALTZ T., BERTHIER D., BALZANO-

NOGUEIRA L. & GONZATTI M.I. (2015a). Molecular characterization and classification of *Trypanosoma* spp. Venezuelan isolates based on microsatellite markers and kinetoplast maxicircle genes. *Parasit. Vectors*, **8**, 536–546.

SANCHEZ E., PERRONE T., RECCHIMUZZI G., CARDOZO I., BITEAU N., ASO P.M., MIJARES A., BALTZ T., BERTHIER D., BALZANO- NOGUEIRA L., GONZATTI M.I. (2015b). Erratum to: Molecular characterization and classification of *Trypanosoma* spp. Venezuelan isolates based on microsatellite markers and kinetoplast maxicircle genes. *Parasit. Vectors,* **8**, 566.

SCACCHIA M., CAMMÀ C., DI FRANCESCO G., DI PROVVIDO A., GIUNTA R., LUCIANI M., MARINO A.M.F., PASCUCCI I. & CAPORALE V. (2011). A clinical case of dourine in an outbreak in Italy. *Vet. Ital.*, **47**, 473–475.

SCHNEIDER G. & BUFFARD M. (1900). Le trypanosome de la dourine. *Arch. Parasitol*, **3**, 124–133.

SOLDINI M. (1939). Procédé rapide et pratique pour le diagnostic expérimental de la Dourine. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, **32**,334–341.

SUGANUMA K., NARANTSATSRAL S., BATTUR B., YAMASAKI S., OTGONSUREN D., MUSINGUZI S.P., DAVAASUREN B., BATTSETSEG B. &INOUE N. (2016). Isolation, cultivation and molecular characterization of a new *Trypanosoma equiperdum* strain in Mongolia. *Parasit. Vectors*, **9**, 481.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (2016). Complement Fixation Test for Detection of Antibodies to *Trypanosoma equiperdum* – Microtitration Test. United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, National Veterinary Services Laboratories, Ames, Iowa, USA.

VAN DEN BOSSCHE P., GEERTS S. & CLAES F. (2009). Equine trypanosomiasis. *In:* Infectious diseases of the horse, Mair

T.S. & Hutchinson R.S., eds. Equine Veterinary Journal, Ely, UK, 354–365. https://www.amazon.co.uk/Infectious- Diseases-Horse-Tim-Mair/dp/0954568923

WASSALL D.A., GREGORY R.J.F. & PHIPPS L.P. (1991). Comparative evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the serodiagnosis of dourine. *Vet. Parasitol*, **39**, 233–239.

WATSON A.E. (1920). Dourine in Canada 1904–1920. History, Research and Suppression. Dominion of Canada Department of Agriculture, Health of Animals Branch, Ottawa, Canada.

WOO P.T.K. (1970). The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Acta Trop*, **27**, 384-386.

*

* *

ЖИЧ: Нийлүүлгийн өвчнийг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори бий.
(Дэлгэрэнгүй мэдээллийг ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас авна уу:
https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

Нийлүүлгийн өвчнийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудтай холбогдож авна уу.

ЖИЧ: 1990 ОНД АНХ, 2021 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

БҮЛЭГ 34 (3.6.5)

АДУУНЫ ЦУС БАГАСАХ ХАЛДВАРТ ӨВЧИН
(АДУУНЫ ЦУС БАГАСАХ ХАЛДВАРТ ӨВЧНИЙ ВИРУСИЙН ХАЛДВАР)

А. УДИРТГАЛ

Адууны цус багасах халдварт өвчин (АЦБХӨ) дэлхий даяар тохиолдон адууны аж ахуйд ихээхэн хохирол учруулна. АЦБХӨ нь ДМАЭМБ-д заавал мэдэгддэг өвчинд ордог. Өмнө нь намгийн халуурал гэж нэрлэгдэж байсан энэ өвчин адууны овгийн амьтад: адуу, илжиг, луусанд (Wang нар, 2023), тохиолдох ба харин түүнийг судалт тахьд судалсан нь ховор. Өвчний олон тохиолдол эмнэл зүйн шинж тэмдгийн хувьд анзаарагдахгүй өнгөрнө. Өвчтэй амьтанд сэлгэн халуурах, ялтаст эс цөөрөх, цус багасах, богино хугацаанд турах, биеийн доод хэсгээр хавагнах шинж тэмдэг илэрнэ. Хэрэв цочмог үеийн аль нэг шинж лавширч хүндэрснээс үхэлд хүргэчхээгүй бол өвчин архагшиж халдвар далдлагдах хандлагатай болно. Өвчний нууц үе ихэвчлэн 1-3 долоо хоног, гэхдээ 3 ба түүнээс ч олон сар байх нь бий. Зарим адуу ямар нэг хэлбэрийн стресст өртөх хүртлээ эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлэхгүй (Harrold нар, 2020) эсхүл өвчний мэдэгдэм шинж тэмдэг ерөөсөө үзүүлдэггүй. Цочмог үед тунгалгийн зангилаа, дэлүү, элгэнд цус ихсэж томорно. Бичил бүтцийн хувьд эдгээр эрхтэнд залуу лимфоцит, сийвэнт эс сүлжилдэн нэвчсэн байна. Элгэн дэх Куферийн эс дотроо ихэвчлэн гемоседрин эсхүл улаан эс агуулна. Шулуун гэдсээр суйлж барилахад дэлүү томорсон нь мэдрэгдэнэ. Адууны тараагуур судасны вируст үрэвсэл, *Anaplasma phago-cytophilum*, хачгийн халуун, лептоспироз, стронгилозтох, хаван суух, халуурах, цус багасах эсхүл ялтаст эс цөөрөх, арьс цайх бусад эмгэгээс ялгаварлан оношилно.

АЦБАӨ нь адууны овгийн амьтанд орогномол вирусийн халдвар юм. АЦБХӨ-ий үүсгэгч вирус нь *Retroviridae* овгийн *Orthoretrovirinae* дэд овгийн *Lentivirus* төрөлд ангилагдах *Lentivirus equinfane* зүйлийн лентивирус юм.

АЦБХӨ-ий вирусээр нэгэнт халдварласан л бол цаашид амьдрах хугацаанд цус нь халдвартай үлдэж бусад амьтанд халдвар дамжуулах боломжтой болно (Cheevers & McGuire, 1985). Цус сэлбэх үеэр эсхүл халдвартай адууны бохирдсон шүүрлээр халдвар дамжина. Цус сорогч гэрийн ялаа (*Tabanidae*) болон өвөлждөг ялаа (Dantas Malossi нар, 2020) халдвартай адуу болон мэдрэмтгий адууг байгаль дээр ээлжлэн сорж хооллохдоо вирус тараах илүү магадлалтай. Цусны бохирдсон бүтээгдэхүүн, зүү, тариур, дуслын тарианы болон бусад хэрэгсэл ашиглах явцад бохир цус дамжсанаас халдвар дамжих нь тохиолдоно. Халдвар биеийн шүүрэл, ж.нь: үрийн шингэн, хөлс, шээсээр дамжина (Romo-Sáenz нар, 2021). Үр дүнтэй эмчилгээний арга, вакцин одоогоор байхгүй (Dantas Malossi нар, 2020). Эмнэл зүйн шинж тэмдэгтэй адууны цусны сийвэнд вирусийн ачаалал өндөр байх бөгөөд ийм адуунаас халдвар дамжих эрсдэл вирусийн ачаалал багатай, илт эрүүл харагдах тээгч адууныхаас өндөр байна. Луусанд хийсэн судалгаагаар вирусийн ачаалал болон ийлдэс судлалын урвалжит чанарын хооронд шүтэлцээ байдаггүй нь тогтоогджээ. Энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА)-аар эерэг, харин агарын гельд нэвчин тунадасжих урвал (АГНТУ)-аар сөрөг эсхүл эргэлзээтэй дүн үзүүлсэн байгалийн халдвартай шинж тэмдэггүй луусны сийвэн дэх вирусийн нуклеин хүчлийн агууламж өндөр байж болох бөгөөд энэ нь халдварыг хадгалах болон тараахад нөлөөлөх боломжтой.

АЦБХӨ-ий вирус хүний эрүүл мэндэд эрсдэлгүй гэж үздэг. Лабораторийн аливаа ажлыг биологийн эрсдэлийн шинжилгээгээр тогтоосон шаардлагыг хангасан биоаюулгүй, тусгаарлалтын нөхцөлд гүйцэтгэнэ (1.1.4 Биоаюулгүй ажиллагаа ба биохамгаалал: *Мал эмнэлгийн лаборатори, туршилтын амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандарт* бүлгийг үз).

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

АГНТУ (Coggins нар, 1972) болон ЕЛИЗА арга нь халдварын эхэн үе эсхүл халдвартай эхээс төрсөн унаганаас бусад тохиолдолд АЦБХӨ-ийг адуунд мадаггүй, найдвартай илрүүлдэг арга юм (USDA 2007). Өвчний цочмог үед эсрэгбиетэй холбогдоход хангалттай хэмжээний вирус цусанд эргэлдэж байвч үүссэн эсрэгбие анхны түвшнээсээ нэмэгдэж шинжилгээнд мэдрэгдэж илрэх хэмжээнд хүрээгүй л бол төөрөгдөлд оруулам үр дүн өгдөг нь хэдийгээр ховор боловч тохиолдоно.

Хэдийгээр ЕЛИЗА аргыг АГНТУ аргатай харьцуулахад эсрэгбиеийг заримдаа эрт, бага агууламжтай байхад нь илрүүлэх боловч ЕЛИЗА шинжилгээний үр дүнг АГНУТ-аар баталгаажуулдаг. Энэ нь шууд бус ЕЛИЗА шинжилгээгээр хуурамч эерэг үр дүн илэрч байсантай холбоотой юм. АГНТУ нь өвөрмөц учраас эсрэгбие АЦБХӨ-ий эсрэгтөрөгчтэй болон АЦБХӨ-ий бус эсрэгтөрөгчтэй холбогдох урвалыг ялгаварлах давуу талтай. Халдвартай амьтны дэлүү эсхүл адууны арьсны эсийн өсгөврөөс (https://www.atcc.org/products/ccl-57) гаралтай эсрэгтөрөгч хэрэглэн АГНТУ тавихад өвөрмөц бус урвал тохиолдох ба учир нь эсрэгтөрөгчийн тэдгээр эх үүсвэрт бусад эсийн эсхүл өвчлөмтгий эзэн амьтны гаралтай уургууд агуулагддагийн улмаас шинжлэх ийлдсэнд агуулагдах эсрэгбие нь АЦБХӨВ-ийн бус эсрэгтөрөгчтэй нийлж өвөрмөц бус тунадасжилтын шугам үүсгэнэ. АЦБХӨВ-ийн эсрэгтөрөгч бэлтгэхэд рекомбинант технологи ашиглавал АГНТУ-д өвөрмөц бус урвал явагдахгүй (Alvarez нар, 2007). Вирусийн P26 уургийн нийтлэг эпитопын эсрэг ижил гарлын өвөрмөц эсрэгбие ашигласан өрсөлдөөнт ЕЛИЗА аргын мэдрэх болон өвөрмөц чанар өндөр болох нь тогтоогджээ(Hu нар, 2023). Өвөрмөц, мэдрэмтгий, тогтвортой, үр дүнгийн таарц сайтай, дархлаа судлалын коллоид хроматографын туузат түргэн шинжилгээний арга боловсруулсан нь АЦБХӨВ-ийн эсрэгбиеийг илрүүлэх эхний шатанд мал эмнэлгийн анхан шатны тусламжийн цэгт шинжлэх боломжтой шинжилгээний арга болж байна (Zhang нар, 2024). Шинжилгээний үр дүн зөрөх эсхүл эргэлзээтэй үр дүнд гарвал цаашид иммунблотын аргаар баталгаажуулна (Issel нар, 2013).

Хүснэгт 1. Адууны цус багасах халдварт өвчнийг оношлох шинжилгээний арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүйг тогтоох (a)	Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох (b)	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх (c)	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах (d)	Халдварын тархалт тогтоох – тандалт (e)	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгч илрүүлэх (f)						
ПГУ	☐☐☐	☑☐☐/☐☐☐	☐☐☐	☑☐☐/☐☐☐	☑☐☐/☐☐☐	☐☐☐
Вирус ялгах	☐☐☐	☐☐☐	☐☐☐	☑☐☐	☐☐☐	☐☐☐
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
АГНТУ	☑☑☐	☑☑☐	☑☑☐	☑☑☐	☑☑☐	☐☐☐
ЕЛИЗА	☑☑☑	☑☑☑	☑☑☑	☑☑☐	☑☑☑	☐☐☐

Түлхүүр үг:
☑☑☑ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
☑☑☐= энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
☑☐☐ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
☐☐☐ = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй;
ЕЛИЗА= энзим холбоост дархлааны урвал;
ПГУ = полимеразагийн гинжин урвал;
АГНТУ = агарын гельд нэвчин тунадасжих урвал.
(a) Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 1-р хавсралтаас үзэх
(b) Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 2-р хавсралтаас үзэх
(c) Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 3-р хавсралтаас үзэх.
(d) Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 4-р хавсралтаас үзэх.
(e) Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 5-р хавсралтаас үзэх
(f) эмнэл зүйн нэг ижилхэн дээжээс үүсгэгч илрүүлэх аргыг хамтруулан хэрэглэхийг зөвлөдөг.

1. Үүсгэгчийг илрүүлэх

1.1. Вирус ялгаж авах, ялган тогтоох

Онош тогтооход вирус ялгах шаардлага ихэнхдээ гардаггүй.

Халдваргүй нь тогтоогдсон адуунаас бэлтгэсэн цагаан эсийн өсгөвөрт өвчний сэжиг бүхий адууны цуснаас (сийвэн, ийлдэс, цагаан эс) жижиглэн эсхүл нэгэн жигд шингэрүүлсэн дэлүү, адууны цусны цагаан эс моноцитээс бэлтгэсэн макрофаг, захын цуснаас бэлтгэсэн дан бөөмт эс) тарилт хийж вирус ялгаж болно (Fidalgo-Carvalho нар, 2009). АЦБХӨ-ий өвөрмөц эсрэгтөрөгчийг ЕЛИЗА, иммун флюоресценцийн, эсхүл

молекул түвшний аргаар (Cook нар, 2002; Dong нар, 2012). илрүүлэх замаар өсгөвөрт вирус үржиж байгааг баталгаажуулна. Адууны цагаан эсийн өсгөврийг ургуулахад төвөгтэй, зарим омог нь эсийн өсгөвөрт дасахдаа муу (Ма нар, 2014) учраас түүнийг вирус ялгахад төдийлөн ашигладаггүй.

1.2. Полимеразагийн гинжин урвал

АЦБХӨ-ий провирусийн буюу эзэн эсэд нэгдсэн АЦБХӨ-ий вирусийн ДНХ-г адууны захын цусанд илрүүлэх полимеразагийн гинжин угсраа урвал (угсраа ПГУ)-ыг боловсруулсан байна (Nagarajan & Simard, 2007). Энэхүү угсраа ПГУ-ын арга нь эсийн ДНХ-д нэгдсэн вирусийн геномын *gag* мужаас сонгосон праймерийн дараалалд суурилна. Энэ арга АЦБХӨ- ий халдвартай адууны цусны цагаан эс дэх АЦБХӨ-ий вирусийн хээрийн омгийг илрүүлэх мэдрэмтгий арга болох нь батлагдсан бөгөөд геномд онилсон ДНХ-г хамгийн багадаа ойролцоогоор 10 хувилсантай тэнцэх хэмжээгээр илрүүлнэ. Бодит цагийн урвуу транскрипцт ПГУ-ын шинжилгээг мөн боловсруулжээ (Cook нар, 2002). *Tat* генийн хэсгийн (118 х.с) эхний кодлогч мужаас загварласан праймер ашигладаг бодит цагийн ПГУ-ын өөр нэг арга нь АЦБХӨВ-ийн геномын хуулбар t*at* РНХ илрүүлэхдээ тодорхой хязгаартай. *Tat* болон *gag* генийн хоорондын хэрчмийн нуклеотидийг олшруулдаг өөр нэг бодит цагийн ПГУ бий (Li нар, 2023). Вирусийн РНХ илрүүлдэг ПГУ-ын оношилгооны мэдрэх чанарыг нэмэхийн тулд идэвхгүй хэлбэрийн вирусийн ДНХ ашиглах хэрэгтэй. Маш мэдрэмтгий эдгээр аргын үр дүнг баталгаатай байлгахын тулд оношилгооны зорилгоор шинжлэх дээж бүрийг хосоор нь шинжлэхийг зөвлөдөг. Солбицон бохирдох эрсдэлтэй учраас шинжилгээний аргыг ягштал мөрдөх нь чухал ач холбогдолтой (Li нар, 2023; Scicluna нар, 2013). (Бүлэг 1.1.5 *Мал эмнэлгийн шинжилгээний лабораторийн чанарын удирдлага*, Бүлэг 1.1.6 *Халдварт өвчнийг оношлох шинжилгээг баталгаажуулах зарчим, арга*).

Дор дурдсан нөхцөл байдалд ПГУ-ыг адуунд АЦБХӨ-ий вирус илрүүлэхэд хэрэглэж болно:

i) Ийлдэс судлалын шинжилгээний үр дүн хоорондоо зөрөх;

ii) Халдварын сэжигтэй ч ийлдэс судлалын шинжилгээгээр сөрөг эсхүл эргэлзээтэй дүн үзүүлэх;

iii) Эерэг үр дүнг баталгаажуулахад ийлдсийн шинжилгээнд хавсарга болгох;

iv) АЦБХӨ-ий вирусийн эсрэгбие ийлдсэнд шинжилгээгээр мэдрэгдэх хэмжээнд үүсээгүй байхад халдварыг эрт илрүүлэх;

v) Ийлдэс судлалын шинжилгээнээс гадна эсрэг ийлдэс эсхүл вакцин үйлдвэрлэхэд ашигласан эсхүл цусны донор адуунд АЦБХӨ-ий вирус байхгүй болохыг баталгаажуулах;

vi) Халдвартай гүүний унаганы халдварын байдлыг баталгаажуулах.

1.3. Генийн дараалал тогтоох

АЦБХӨ-ий үүсгэгчийн омгийн шинж чанарыг тогтоох нь вирусийн гарал үүсэл, тархалтыг тоймлох эпидемиологийн судалгаа шинжилгээнд чухал юм. Зорилтот генийн дарааллыг сонгон ялгах, дараалал тогтоох шинэ үеийн арга нь хувилах эсхүл олшруулах арга хэрэглэлгүйгээр шууд АЦБХӨ-ий вирусийн бүтэн геномын дараалал тогтоох боломж олгоно (Deshiere нар, 2019).

2. Ийлдэс судлалын арга

Халдвар авсан адууны овгийн амьтанд АЦБАӨ-ий вирус орогнодог учир ийлдсэн дэх эсрэгбиеийг илрүүлэх нь АЦБХӨ-ий вирусийн халдварын оношийг баталгаажуулна. Оношилгооны мэдрэх болон өвөрмөц чанарын хувьд хангалттай байлгахын тулд гурван шатлалт оношилгооны системийг ашиглаж болно (Issel нар, 2013; Scicluna нар, 2013). Энэ аргачлалаар бол ЕЛИЗА аргаар (шатлал 1) эхэлж илрүүлээд эерэг урвал үзүүлснийг нь АГНТУ-аар (шатлал 2) баталгаажуулж, ЕЛИЗА аргаар эерэг мөртөө АГНТУ-аар сөрөг үр дүнтэй байвал эцсийн баталгаажуулалтыг иммунблотын аргаар (шатлал 3) эцэслэнэ.

2.1. Агарын гельд нэвчин тунадасжих арга

АГНТУ арга нь АЦБХӨ-ий вирусийн халдварын хариу урвалын дүнд үүссэн эсрэгбиеийн тунадасжилтыг илрүүлнэ. Үүний тулд АЦБХӨ-ий эсрэгтөрөгч, шинжлэх ийлдсийн хооронд үүссэн тунадасжилтын зурвасаар илрэх өвөрмөц урвалыг эсрэгтөрөгч болон хяналтын стандарт эерэг ийлдэс хоёрын дунд үүссэн урвалтай адил болохыг жишиж баталгаажуулдаг.

АГНТУ-д хэрэглэх урвалжийг хэд хэдэн компани худалдаанд гаргасан байна. Дор өгүүлсний дагуу АГНТУ-ын эсрэгтөрөгч, лавлагааны ийлдэс бэлтгэж болно.

2.1.1. Эсрэгтөрөгч бэлтгэх

АЦБХӨ-ий өвөрмөц эсрэгтөрөгчийг цочмог халдвартай адууны дэлүүнээс (Coggins нар, 1973), адууны эдийн халдварлуулсан өсгөврөөс), нохойн сэрээ булчирхайн халдварлуулсан дамжмал эсээс, эсхүл рекомбинант ДНХ технологи ашиглан бактери эсхүл бакуловирусийн экспреслэсэн уургаас тус тус бэлтгэж болно. Халдварлуулсан эсийн өсгөвөр эсхүл рекомбинант ДНХ аргаар эсрэгтөрөгч бэлтгэх нь дэлүүний эс хэрэглэснээс илүү нэгэн жигд үр дүн өгдөг учраас урвалжуудыг цаашид илүү сайн стандартчилах боломж олгоно.

Адууны хээлийн бөөр эсхүл арьсны эс, эсхүл нохойн сэрээ булчирхайн эсийг АЦБХӨ-ий вирусийн омгоор халдварлуулж эсийн өсгөвөрт ургуулан дасгаж бас болно (Америкийн төрөл бүрийн өсгөврийн сан, адууны хээлийн арьсны эсэд дасгасан Хятад омог). Өсгөврөөс вирусийг 8% полиэтиленгликоголоор тунадасжуулж эсхүл үлэмж хурдаар хурилдуурдах аргаар тунааж ялгана. Вирусийг угаалгын бодис эсхүл эфирээр боловсруулж оношилгооны p26 эрсэгтөрөгчийг ялгаруулж авна. Бактери, ө.х. *E. coli* эсхүл бакуловирусийн (Alvarez нар, 2007; Scicluna нар, 2019) экспреслэсэн АЦБХӨ-ий вирусийн үндсэн уургийг худалдаанд гаргасан ба түүнийг ийлдэс судлалын шинжилгээний өндөр чанартай эрсэгтөрөгчөөр ашиглаж байна (Bannai нар, 2023).

Вирусийн дотоод бүтцийн уураг болох p26-г gag ген кодолно. p26 нь АЦБХӨ-ий вирусийн омгууд дотроос эрсэгтөрөгчийн хувьд вирионы gp45 ба gp90 глико уургуудаас илүү тогтвортой. P26 уургийн амин хүчлийн дарааллаараа омгуудыг ялгаж болох нотолгоо байдаг ч энэ ялгаатай байдал нь ийлдэс судлалын аливаа шинжилгээнд нөлөөлдөг тухай нотолгоо байхгүй.

2.1.2. Стандарт эсрэг ийлдэс бэлтгэх

Өмнө нь АЦБХӨ-ий вирусийн байгалийн эсхүл туршилтын халдвар авсан адуунаас эерэг урвалтай болох нь илэрхий ийлдэс цуглуулж болно. Шинжлэх ийлдэс ямар урвал үзүүлэхийг тодорхой урвал бүхий лавлагааны эерэг стандарт ийлдэстэй харьцуулж шалгахад АЦБХӨ-д өвөрмөц тунадасжилтын нэгэн жигд нягт зурвас үүсэж байх ёстой. Шинжилгээний мэдрэх чанарыг хамгийн оновчтой байлгахын тулд эсрэгтөрөгч болон эсрэгбиеийн төвшрүүлгийг тэнцвэржүүлэх нь чухал ач холбогдолтой. Эсрэгтөрөгч болон лавлагааны стандарт эерэг ийлдэс хийсэн хоёр үүрний хоорондын яг дунд хэрд тунадасжилтын нарийн зурвас үүсэж байхаар тооцож урвалжийн төвшрүүлгийг дараалан шингэлсэн эсрэгтөрөгч болон ийлдсийг солбицуулан шинжилж тохируулна (Бүлэг 2.2.6 лавлагааны дээж болон багц дээжийг сонгох, хэрэглэх). ДМАЭМБ-ын баталсан олон улсын стандарт урвалжийн жагсаалт бас бэлэн бий [1].

2.1.3. Шинжилгээний аргачлал ([AFNOR], 2000; Coggins нар, 1973)

i) Шилэн аяга гулсаж болзошгүй учраас Петрийн хуванцар аяганд цутгасан агарын үе дээр дархлааны нэвчүүлэх урвал тавина. 100 мм голчтой Петрийн аяганд 0.145 М боратын pH 8.6 (± 0.2) бүхий буферт (нэг литр тутамд 9 г H_3BO_3, дээр 2 г NaOH) 1%- иар бэлтгэсэн Нобел агар 15-17 мл-ийг хийж хэрэглэнэ. Металл цоолтуур ашиглан голч нь ижилхэн, төвдөө нэг, түүнийг тойрсон зургаан үүр гаргана. Үүрний голч 5.3 мм, хоорондын зай 2.4 мм байна. Үүр бүрд урвалжийг ижил хэмжээгээр дүүргэх ба халиулж болохгүй.

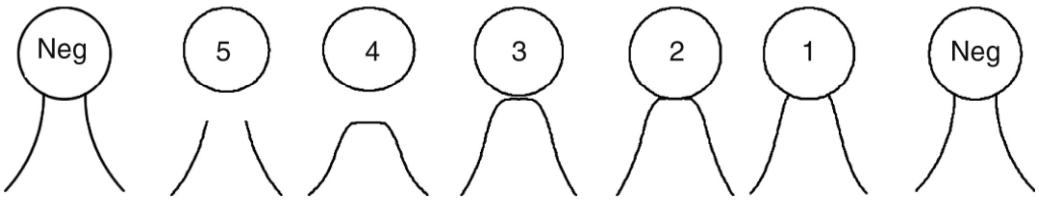
ii) Эсрэгтөрөгчийг төвийн ганц үүрэнд, стандарт эсрэг ийлдсийг тойрсон үүрэнд үүр алгасан ээлжлэн хийнэ. Үлдсэн гурван үүрэнд шинжлэх ийлдэс хийнэ.

iii) Аягыг чийглэг орчинд тасалгааны хэмд (18°C–26°C-ийг зөвлөдөг) байлгана.

iv) 24 болон 48 цагийн дараа аягыг харанхуй дэвсгэр дээр барьж байгаад тод, ташуу тусгалтай зурвас гэрэлд томруулагч хэрэгслээр харж тунадасжих урвалыг шалгана. Лавлагаа бэлдмэлийн шугаман зурвас 24 цагт тод харагдах ба шинжилж байгаа илт эерэг урвалтай аль ч ийлдэс нь стандарт урвалжуудын хооронд тогтсон зурвастай адилхан зурвас үүсгэнэ. Сул эерэг урвалтай ийлдсийн зурвас 48 цагт тодрох ба эсрэгтөрөгч, шинжилж байгаа ийлдсийн хоорондын тунадасжилтын стандарт зурвас бага зэрэг махийсан байна. АЦБХӨ-ий АГНТУ тавихад сул эерэг урвалын тунадасжилтын зурвасын үзүүр үл мэдэг махийх эсхүл дээжийн үүр рүү дугуйрсан мэт харагдана. Тунадасжуулагч эсрэгбие өндөр таньцтай агуулагдах ийлдэсний хувьд ялгагдах өвөрмөц зурвас нь бүтэн үүсэх эсхүл дээжийн үүр рүү орсон тунадасжилтын өргөн тууз үүсгэнэ (зураг 1 үзэх). Ийм урвал өгсөн ийлдсийг ½-оор болон дараа нь дараалан шингэлж дахин шинжлээд үүсэх тод ялгарах зурвасаар нь уг урвал АЦБХӨ-д өвөрмөц болохыг баталгаажуулна. АЦБХӨ-ий эсрэгбиегүй ийлдэс тунадасжилтын шугам үүсгэхгүй ба стандарт урвалжийн шугамд нөлөө үзүүлэхгүй. Өвөрмөц бус тунадасжилтын зурвас үүсэж болно. Өвөрмөц бус ийм зурвас нь хяналтын үүр рүү давсан байж болох ч хяналтын хэвийн зурвастай адилтгах зурвас үүсэхгүй

v) *Үр дүнг үнэлэх:* халдварын эхэн үед адуу АГНТУ-аар ийлдэс судлалын эерэг дүн үзүүлэхгүй байж магадгүй. Ийм адуунаас 3-4 долоо хоногийн дараа эсхүл эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрсэн тохиолдолд түүнийг илэрснээс хойш наад зах нь долоо хоногийн дараа цус авна. Нялх унаганд энэ өвчнийг оношлохын тулд эхийн бие дэх эсрэгбиеийн агууламжийг тодорхойлох шаардлагатай. Хэрэв унага эхийн уураг сүүгээр дамжуулан АЦБХӨ эсрэгбиеийг авсан бол тэр нь 6 сарын дараа эсхүл түүнээс дээш хугацаанд буурна. Унаганд сарын зайтай дараалсан шинжилгээ хийх нь эхээс авсан эерэг биеийн бууралтыг хянах ач холбогдолтой. Унагыг халдваргүй гэж тогтоохын тулд унага АЦБХӨ-ий эерэг урвалтай гүүнээс эсхүл эерэг урвалтай ямар ч адуунаас наад зах нь хоёр сар хавьталтай байгаагүй үед хийсэн шинжилгээгээр сөрөг урвал үзүүлсэн байх (эхлээд эерэг урвалтай байсны дараа) шаардлагатай. Эхийн гаралтай эсрэгбие ихэвчлэн 12 сарын настай болтол илэрч болох учир унага, сарвааны цусанд АЦБХӨ-ий вирус байгаа эсхүл байхгүйг илрүүлэхэд хэрэглэх ПГУ зэрэг оношилгооны өөр аргыг авч үзэх хэрэгтэй.

Зураг. 1. АЦБХӨ-ийг АГНТУ-аар шинжлэхэд илрэх урвал, Issel нар. (2013).



1.2. Энзим холбоост дархлааны урвал

АЦБХӨ-д зориулсан хэд хэдэн АГНТУ, ЕЛИЗА оношилгооны цомгийг янз бүрийн улсад АЦБХӨ-ий оношилгоонд хэрэглэх зөвшөөрөл авсан ба тэдгээрийг олон улсын хэмжээнд хэрэглэх боломжтой болжээ. Энэ ЕЛИЗА аргаар ерөнхийдөө эсрэгтөрөгчийн p26 үндсэн уургийн эсрэг үүсэх эсрэгбиеийг амьтны ийлдсэнд илрүүлэх зориулалттай боловч gp45 эсрэгтөрөгчийн эсрэг үүссэн эсрэгбиеийг давхар илрүүлж болно. ЕЛИЗА-д ашиглах эдгээр эсрэгтөрөгч нь нэгдүүлэн нийлэгжүүлсэн уураг эсхүл рекомбинант эсрэгтөрөгч байна. ЕЛИЗА шинжилгээний нийтлэг арга зүй хэрэглэнэ. ЕЛИЗА-д ашиглах бэлэн худалдаанд гарсан материал байхгүй бол p26 эсрэгтөрөгчийг эсийн өсгөврийн материалаас цэвэршүүлэн ашиглаж өрсөлдөөнт бус ЕЛИЗА болгон хэрэглэж болно (Shane нар, 1984).

ЕЛИЗА шинжилгээгээр хуурамч эерэг үр дүн илэрч байсантай холбоотойгоор ЕЛИЗА шинжилгээний эерэг үр дүнг АГНУ-аар баталгаажуулдаг. ЕЛИЗА шинжилгээний үр дүнг иммунблот аргаар баталгаажуулж бас болно. Дархлааны нэвчүүлэх урвалд хэрэглэх, дотроо эсрэгбиеийг хэмжигдэх түвшинд агуулж байгаа стандарт эсрэг ийлдсийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториос авах боломжтой. Энэ стандартыг ЕЛИЗА урвалын илрүүлэх доод

хязгаарын лавлагааны материалаар ашиглаж болохгүй. АЦБХӨ-тэй тэмцэх нэгдсэн арга хэвлэгдсэн байна (USDA, 2007).

1.3. Иммунблотын арга

Иммунблотын (ИБ) арга нь мэдрэх болон өвөрмөц чанар аль аль нь өндөр, ЕЛИЗА/АГНТУ-ын үр дүн зөрсөн тохиолдолд баталгаажуулалт хийх хувилбарт тооцогдоно. Энэ шинжилгээнд ИБ-ын хальсанд шингээсэн бүтэн вирус, p26, gp45, gp90 уургийг ашиглаж байгаа тохиолдолд АЦБХӨВ-ийн эсрэгтөрөгчтэй дархлааны урвал үзүүлэх байдлаар нь шинжилж байгаа ийлдсийн урвалыг: p26-д болон бусад эсрэгтөрөгчөөс наад зах нь нэгд эерэг толбо үүсвэл АЦБХӨВ-т ийлдэс судлалын шинжилгээгээр эерэг гэж үзнэ (Issel нар, 2013; Scicluna нар, 2019). Энэ шинжилгээний урвалж худалдаанд гараагүй, олон улсын ур чадварын сорилоор шалгагдаагүй, зөвхөн ДМАЭМБ-ын Итали улс дахь лавлах лабораторид хэрэглэж байна.

1.4. Коллоид алт бүхий хроматографын арга (КАХА)

Коллоид алт бүхий хроматографын арга (КАХА)-ыг өвчнийг илрүүлэх, тандан судлахад, ялангуяа COVID-19 гэх мэтийн хүний өвчинд өргөн хэрэглэдэг АЦБХӨВ-ийн эсрэгбиеийг илрүүлэхэд хэрэглэдэг КАХА-ын гол эсрэгтөрөгч нь p26 and gp45 уураг юм. АЦБХӨВ-ийн эсрэгбиеийг илрүүлэхэд хэрэглэдэг КАХА-ын мэдрэх болон өвөрмөц чанар өндөр, нэг удаагийн шинжилгээнд 15 минут зарцуулж дүгнэлт гаргадаг (Alvarez нар, 2010; Zhang нар, 2024) учраас өвчний тандалтад хэрэглэх боломжтой нэг хувилбар арга юм.

B. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

АЦБХӨ-ий вирусийн идэвхгүйжүүлсэн, дэд нэгжийн вакциныг төрөл бүрийн лабораторид шалгаж зөвхөн гомолог анхны омгийн халдвараас хамгаалдгийг тогтоожээ. 1970-аад оны эхээр зохион бүтээсэн сулруулсан амьд вакциныг БНХАУ-д 1975-1990 онд өргөн хүрээнд хэрэглэсэн нь нэгэнт тархсан АЦБХӨ-тэй тэмцэхэд үр дүнгээ өгчээ. Вакцинжуулсан болон халдвар авсан амьтныг шинжилгээгээр хараахан ялгаж чадахгүй байгаа, вакцины үүсгэсэн эсрэгбие оношлох шинжилгээний үр дүнг будилуулах тул 1990 оноос хойш халдварын тархалт буурсан АЦБХӨ-тэй тэмцэхдээ вакцинжуулалтаас хорио цээрийн дэглэм хэрэгжүүлэх стратегид шилжсэн байна.

Хэдийгээр АЦБХӨ-ий сулруулсан вируст вакциныг БНХАУ-д хэрэглэхэд аюулгүй байдалтай холбоотой асуудал гараагүй ч АЦБХӨ-ий вирус бусад лентивирусийн адилаар мутацид ороходоо амархан учраас эзэн биеийн геномд нэгдчих боломжтой юм (Lin нар, 2020; Liu нар, 2017). Иймд АЦБХӨ-ий амьд вакцин хэрэглэх асуудлыг эрсдэлийн үнэлгээ хийсний дараа авч үзэх нь зүйтэй.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

ALVAREZ I., GUTIERREZ G., BARRANDEGUY M. & TRONO K. (2010). Immunochromatographic lateral flow test for detection of antibodies to Equine infectious anemia virus. J. Virol. Methods, 167, 152–157. doi: 10.1016/j.jviromet.2010.03.026

ALVAREZ I., GUTIERREZ G., VISSANI A., RODRIGUEZ S., BARRANDEGUY M. & TRONO K. (2007). Standardization and validation of an agar gel immunodiffusion test for the diagnosis of equine infectious anemia using a recombinant p26 antigen. Vet.Microbiol., 121, 344–351.

ASSOCIATION FRAN3AISE DE NORMALISATION (AFNOR) (2000). Animal Health Analysis Methods. Detection of Antibodies against Equine Infectious Anaemia by the Agar Gel Immunodiffusion Test. NF U 47-002. AFNOR, 11 avenue Francis de Pressensй, 93571 Saint-Denis La Plaine Cedex, France.

BANNAI H., KAMBAYASHI Y., NEMOTO M., YAMANAKA T. & TSUJIMURA K. (2023). Comparison of 4 agars gel immunodiffusion kitsfor serologic detection of equine infectious anemia virus antibodies. J. Vet. Diagn. Invest., 35, 431–433.

doi:10.1177/10406387231171567 COGGINS L., NORCROSS N.L. & KEMEN M.J. (1973). The technique and application of the immunodiffusion test for equine infectious anaemia. Equine Infect. Dis., III, 177–186.

COGGINS L., NORCROSS N.L. & NUSBAUM S.R. (1972). Diagnosis of equine infectious anaemia by immunodiffusion test. Am. J. Vet. Res., 33, 11–18.

CULLINANE A., QUINLIVAN M., NELLY M., PATTERSON H., KENNA R., GARVEY M., GILDEA S., LYONS P., FLYNN M., GALVIN P. &NEYLON M. (2007). Diagnosis of equine infectious anaemia during the 2006 outbreak in Ireland. Vet. Rec., 161, 647–652.

DANTAS MALOSSI C., FIORATTI E.G., CARDOSO J.F., MAGRO A.J., KROON E.G., MOURA DE AGUIAR D., BORGES A.M.C.M.,NOGUEIRA M.F., ULLMANN L.S. & PESSOA ARAUJO J.JR (2020). High Genomic Variability in Equine Infectious Anemia VirusObtained from Naturally Infected Horses in Pantanal, Brazil: An Endemic Region Case. Viruses, 12, 207.

DESHIERE A., BERTHET N., LECOUTURIER F., GAUDAIRE D. & HANS A. (2019). Molecular characterization of Equine InfectiousAnemia Viruses using targeted sequence enrichment and next generation sequencing. Virology, 537, 121–129. doi:10.1016/j.virol.2019.08.016. Epub 2019 Aug 22. PMID: 31493650

DONG J.B., ZHU W., COOK F.R., GOTO Y., HORII Y. & HAGA T. (2012). Development of a nested PCR assay to detect equineinfectious anemia proviral DNA from peripheral blood of naturally infected horses. Arch. Virol., 157, 2015–2111.

FIDELES RESENDE C., SANTOS A.M., COOK R.F., VICTOR R.M., FALCÃO CÂMARA R.J., PEREIRA GONÇALVES G., GONÇALVES LIMAJ., MACIEL E SILVA A.G., CERQUEIRA LEITE R. & DOS REIS J.K.P. (2022). Low transmission rates of Equine infectious anemiavirus (EIAV) in foals born to seropositive feral mares inhabiting the Amazon delta region despite climatic conditionssupporting high insect vector populations. BMC Vet. Res., 18, 286.

FIDALGO-CARVALHO I., CRAIGO J.K., BARNES S., COSTA-RAMOS C. & MONTELARO R.C. (2009). Characterization of an equinemacrophage cell line: application to studies of EIAV infection. Vet. Microbiol., 136, 8–19.

HARROLD S.M., COOK S.J., COOK R.F., RUSHLOW K.E., ISSEL C.J. & MONTELARO R.C. (2000). Tissue sites of persistent infectionand active replication of equine infectious anemia virus during acute disease and asymptomatic infection in experimentallyinfected equids. J. Virol., 74, 3112–3121.

HU Z., GUO K., DU C., SUN J., NALETOSKI I., CHU X, LIN Y, WANG X.F., BARRANDEGUY M, SAMUEL M, WANG W., LAU P.I., WERNERYU., RAGHAVAN U. & WANG X. (2023). Development and evaluation of a blocking ELISA for serological diagnosis of equineinfectious anemia. Appl. Microbiol. Biotechnol., 107, 3305–3317. https://doi.org/10.1007/s00253-023-12504-5

ISSEL C.J., SCICLUNA M.T., COOK S.J., COOK R.F., CAPRIOLI A., RICCI I., ROSONE F., CRAIGO J.K., MONTELARO R.C. & AUTORINO G.L. (2013) Challenges and proposed solutions for more accurate serological diagnosis of equine infectious anaemia. VetRec., 172, 210.

KEMEN M.J. & COGGINS L. (1972). Equine infectious anaemia: transmission from infected mares to foals. J. Am. Vet. Med. Assoc.,161, 496–499.

LI S., GUO K., WANG X.F., LIN Y., WANG J., WANG Y., DU C., HU Z. & WANG X. (2023). Development and evaluation of a realtimequantitative PCR for the detection of equine infectious anemia virus. Microbiol. Spectr., 11: e02599-23.https://doi.org/10.1128/spectrum.02599-23

LIN Y., WANG X.F., WANG Y., DU C., REN H., LIU C., ZHU D., CHEN J., NA L., LIU D., YANG Z. & WANG X. (2020). Env diversitydependentprotection of the attenuated equine infectious anaemia virus vaccine. Emerg. Microbes Infect., 9, 1309–1320.

LIU Q., WANG X.F., DU C., LIN Y.Z., MA J., WANG Y.H., ZHOU J.H.& WANG X. (2017). The integration of a macrophage-adaptedlive vaccine strain of equine infectious anaemia virus (EIAV) in the horse genome. J. Gen. Virol., 98, 2596–2606.

MA J., WANG S.S., LIN Y.Z., LIU H.F., LIU Q, WEI H.M., WANG X.F., WANG Y.H., DU C., KONG X.G., ZHOU J.H. & WANG X. (2014)Infection of equine Monocyte-Derived Macrophages with an attenuated Equine Infectious Anemia Virus(EIAV) strain. Vet.Res., 45, 82.

NARDINI R., AUTORINO G.L., ISSEL C.J., COOK R.F., RICCI I., FRONTOSO R., ROSONE F. & SCICLUNA M.T. (2017) Evaluation of sixserological ELISA kits available in Italy as screening tests for equine infectious anaemia surveillance. BMC Vet. Res., 13,105.

NAGARAJAN M.M. & SIMARD C. (2007). Gag genomic heterogeneity of equine infectious anemia virus (АЦБХӨВ) in naturally infected horses in Canada: implication on EIA diagnosis and peptide-based vaccine development. Virus Res., 129, 228–235.

ROMO-SÁENZ C.I., TAMEZ-GUERRA P., OLIVAS-HOLGUIN A., RAMOS-ZAYAS Y., OBREGÓN-MACÍAS N., GONZÁLEZ-OCHOA G., ZAVALAF. J., DE LA SERNA D., RODRÍGUEZ-PADILLA C., TAMEZ-GUERRA R. & GOMEZ-FLORES R. (2021). Molecular detection of equineinfectious anaemia virus in clinically normal, seronegative horses in an endemic area of Mexico. J. Vet. Diagn. Invest., 33,758–761.

SCICLUNA M.T., ISSEL C.J., COOK F.R., MANNA G., CERSINI A., ROSONE F., FRONTOSO R, CAPRIOLI A.ANTONETTI V. &AUTORINO G.L. (2013). Is a diagnostic system based exclusively on agar gel immunodiffusion adequate for controlling the spread of equine infectious anaemia? Vet. Microbiol., 165, 123–134.

SCICLUNA M.T., AUTORINO G.L., COOK S.J., ISSEL C.J., COOK R.F. & NARDINI R. (2019). Validation of an immunoblot assayemploying an objective reading system and used as a confirmatory test in equine infectious anaemia surveillanceprograms. J. Virol. Methods, 266, 77–88.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA) (2007). Equine Infectious Anemia Uniform Methods and Rules. Animal and Plant Health Inspection Service, USDA: https://www.aphis.usda.gov/vs/nahss/equine/eia/eia_umr_jan_10_2007.pdf

WANG X.F., ZHANG, X.M., MA W., LI J. & WANG X. (2023). Host cell restriction factors of equine infectious anemia virus. Virol.Sin., 38, 485–496.

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH (WOAH) (1998). Guidelines of the Office International des Epizooties forlaboratory quality evaluation, for international reference standards for antibody assays and for laboratory proficiency testing. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 17, 600–631. English, French, Spanish. http://dx.doi.org/10.20506/rst.17.2.1120

ZHANG Z., GUO K., CHU X., LIU M., DU C., HU Z. & WANG X. (2024). Development and evaluation of a test strip for the rapiddetection of antibody against equine infectious anemia virus. Appl. Microbiol. Biotechnol., 108, 85.https://doi.org/10.1007/s00253-023-12980-9

*

* *

ЖИЧ: АЦБХӨ-ийг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори бийв
(Дэлгэрэнгүй мэдээллийг ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас авна уу:
https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

АЦБХӨ ийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг
ДМАЭМБ-ын лавлагаа лабораториудтай холбогдож авна уу.

Хавсралт 1: Адууны цус багасах халдварт өвчин
Шинжилгээний зорилго: Популяци халдваргүйг тогтоох

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Шинжилсэн популяци	Баталгаажуулалтын тайлан	Давуу тал	Сул тал	Эх сурвалж
ПГУ ☐☐☐	Цус Сийвэн Эрхтэн (дэлүү, элэг) Exon 1 tat Цусны дээж LTR-tat	Exon 1 tat: Анализын мэдрэх чанар(LOD) = 1 хуулбар бай/мкл Анализын өвөрмөц чанар= 44 exon 1 tata ампликоны дараалал тогтоосон LTR-tat: Анализын мэдрэх чанар (LOD) = 10 хуулбар бай/мкл	Exon 1 tat: 5 луусны сийвэн (бүгд эерэг) 37 адууны эерэг цус 16 адууны эерэг сийвэн LTR-tat: 53 цусны дээж (40 эерэг, 13 сөрөг) Лавлах эх сурвалж үзэх	Лавлах эх сурвалж үзэх	Exon 1 tat болон LTR tat илрүүлэхэд: 1. Анализын мэдрэх чанар өндөр 2. Анализын өвөрмөц чанар өндөр	Exon 1 tat болон LTR tat илрүүлэхэд: 1. Шинжилгээний бүтээмж бага 2. Өндөр өртөгтэй 3. Лабораторийн тусгай багаж шаардагддаг 4. Лабораторийн туршлагатай ажилтан шаарддаг 5. Вирусийн генетикийн хувьсамтгай чанар өнөр тул оношилгооны өвөрмөц чанар буурах магадлалтай	Scicluna нар (2013)
АГНТУ ☑☑☐	Ийлдэс рекомбинант p26 ууураг	Лавлах шинжилгээ: Иммунблот Өвөрмөц чанар: 100% Мэдрэх чанар 59.4%	Итали дахь ДМАЭМБ-ын ЛЛ-д ЕЛИЗА аргаар илрүүлж дараа нь АГНТУ болон иммунблотоор шинжилсэн 548 эерэг дээж	Удахгүй нийтлэгдэнэ	1. Өвөрмөц чанар өндөр 2. Өмнө нь шинжилж байгаагүй популяцид мэдрэх чанар өндөр 3. Өртөг бага 4. Лабораторийн ерөнхий багаж хангалттай	1. Халдварын эхэнд болон эсрэгбиеийн түвшин бага үед мэдрэх чанар сул 2. Шинжилгээний бүтээмж бага 3. Үр дүн удаж гардаг 4. Урвалжит чанар сул тохиолдолд урвалын үр дүнг үнэлэхэд туршлага шаардагдана	

ЕЛИЗА ☑☑☑	Ийлдэс, рекомбинант p26 уураг, угсармал (chimeric) рекомбинант p26/gp45 уураг	Лавлах шинжилгээ: АГНТУ, Иммунблот **Рекомбинант p26:** ОӨч: 73.2% (CI: 67.6–78.1%) ОМч 100% (CI: 91.6–100%) **Рекомбинант p26/gp45:** ОӨч: 99.3% (CI: 96.8-99.8%) ОМч 100% (CI: 100-100%) **Саатуулагч ЕЛИЗА:** Лавлах шинжилгээг АГНТУ ашиглан хийсэн. ОӨч = 100% ОМч = 97.0% Тохирол 98.3%	**Рекомбинант p26:** Иммунблотоор шинжилсэн хээрийн 324 ийлдэс (52 эерэг, 272 сөрөг). Туршилтын журмаар вакцинжуулсан адууны 96 ийлдэс АГНТУ-аар шинжлсэн хээрийн 1,102 ийлдэс (857 эерэг, 245 сөрөг) Есөн лабораторийг хамарсан лабораторийн хоорондын сорил **Рекомбинант p26/gp45:** Туршилтын журмаар вакцинжуулсан адууны 96 ийлдэс АГНТУ-аар шинжлсэн хээрийн 615 ийлдэс **Саатуулагч ЕЛИЗА:** Хятадын АЦБАӨ-өөр тайван өөр өөр фермээс авсан 1129 сөрөг дээж, 18 эерэг ийлдэс, 45 сөрөг ийлдэс, Аргентинийн 18 эерэг ийлдэс, 45 сөрөг ийлдэс, 353 шинжилгээний ийлдэсний дээж 3 стандарт эерэг ийлдэс Хятадын АЦБАӨ-өөр тайван өөр өөр мужаас цуглуулсан адуу болон илжигний 15,900 ийлдэсний дээж	Эх сурвалж үзэх	1. Мэдрэх чанар өндөр 2. Худалдаанд гарсан ийлдэс судлалын ЕЛИЗА оношлуур олон улс оронд хэрэглэгддэг, бас лабораторид дотооддоо бэлтгэсэн ЕЛИЗА хэрэглэж болно (лавлах эх сурвалж үзэх) 3. Зарим худалдаанд гарсан болон лабораториуд дотооддоо бэлтгэсэн ЕЛИЗА г харьцуулахад тэдний оношилгооны үзүүлэлт дүйцэж байсан байна (лавлах эх сурвалж үзэх) 4. Шинжилгээг богино хугацаанд хийж, үр дүнг түргэн гаргах боломжтой 5. Өртөг бага 6. Ашигласан зорилтот эсрэгтөрөгч нь ихэвчлэн маш тогтвортой байдаг 7. Шинжилгээний бүтээмж өндөр 8. Нийтлэг зарим вирустэй солбицох урвалд ордоггүй	1. Лабораторийн тусгай тоног төхөөрөмж шаардагдана 2. Оношилгооны өвөрмөц чанарыг хангахын тулд эерэг дээжийг АГНТУ-аар баталгаажуулах, үр дүн нь зөрвөл иммунблотын урвалаар дахин баталгаажуулах 3. Халдварын эхэн үед мэдрэх чанар ерөнхийдөө сул 4. Зарим ЕЛИЗА хуурамч эерэг дүн үзүүлэх тохиолдол гарсан	Nardini нар (2016) Nardini нар (2017) Scicluna нар (2018) Naves нар (2019) Dominguez нар (2021) Hu нар (2023) Russi нар (2023)

Хавсралт 2: Адууны цус багасах халдварт өвчин
Шинжилгээний зорилго: Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Шинжилсэн популяци	Баталгаажуулалтын тайлан	Давуу тал	Сул тал	Эх сурвалж
ПГУ ☑☐☐/☐☐☐	Цус Сийвэн Эрхтэн (дэлүү, элэг) Exon 1 tat Цусны дээж LTR-tat	Exon 1 tat: Анализын мэдрэх чанар(LOD) = 1 хуулбар бай/мкл Анализын өвөрмөц чанар= 44 exon 1 tata ампликоны дараалал тогтоосон LTR-tat: Анализын мэдрэх чанар (LOD) = 10 хуулбар бай/мкл	Exon 1 tat: 5 луусны сийвэн (бүгд эерэг) 37 адууны эерэг цус 16 адууны эерэг сийвэн LTR-tat: 53 цусны дээж (40 эерэг, 13 сөрөг) Лавлах эх сурвалж үзэх	Лавлах эх сурвалж үзэх	Exon 1 tat болон LTR tat илрүүлэхэд: 1. Анализын мэдрэх чанар өндөр 2. Анализын өвөрмөц чанар өндөр	Exon 1 tat болон LTR tat илрүүлэхэд: 1. Шинжилгээний бүтээмж бага 2. Өндөр өртөгтэй 3. Лабораторийн тусгай багаж шаардагддаг 4. Лабораторийн туршлагатай ажилтан шаарддаг 5. Вирусийн генетикийн хувьсамтгай чанар өнөр тул оношилгооны өвөрмөц чанар буурах магадлалтай	Scicluna нар (2013)
АГНТУ ☑☑☐	Ийлдэс рекомбинант p26 уураг	Лавлах шинжилгээ: Иммунблот Өвөрмөц чанар: 100% Мэдрэх чанар 59.4%	Итали дахь ДМАЭМБ-ын ЛЛ-д ЕЛИЗА аргаар илрүүлж дараа нь АГНТУ болон иммунблотоор шинжилсэн 548 эерэг дээж	Удахгүй нийтлэгдэнэ	1. Өвөрмөц чанар өндөр 2. Өртөг бага 3. Лабораторийн ерөнхий багаж хангалттай	1. Халдварын эхэнд болон эсрэгбиеийн түвшин бага үед мэдрэх чанар сул 2. Шинжилгээний бүтээмж бага 3. Үр дүн удаж гардаг 4. Урвалжит чанар сул тохиолдолд урвалын үр дүнг үнэлэхэд туршлага шаардагдана	

ЕЛИЗА ☑☑☑	Ийлдэс, рекомбинант p26 уураг, угсармал (chimeric) рекомбинант p26/gp45 уураг	Лавлах шинжилгээ: АГНТУ, Иммунблот **Рекомбинант p26:** ОӨч: 73.2% (CI: 67.6–78.1%) ОМч 100% (CI: 91.6–100%) **Рекомбинант p26/gp45:** ОӨч: 99.3% (CI: 96.8-99.8%) ОМч 100% (CI: 100-100%) **Саатуулагч ЕЛИЗА:** Лавлах шинжилгээг АГНТУ ашиглан хийсэн. ОӨч = 100% ОМч = 97.0% Тохирол 98.3%	**Рекомбинант p26:** Иммунблотоор шинжилсэн хээрийн 324 ийлдэс (52 эерэг, 272 сөрөг). Туршилтын журмаар вакцинжуулсан адууны 96 ийлдэс АГНТУ-аар шинжлсэн хээрийн 1,102 ийлдэс (857 эерэг, 245 сөрөг) Есөн лабораторийг хамарсан лабораторийн хоорондын сорил **Рекомбинант p26/gp45:** Туршилтын журмаар вакцинжуулсан адууны 96 ийлдэс АГНТУ-аар шинжлсэн хээрийн 615 ийлдэс **Саатуулагч ЕЛИЗА:** Хятадын АЦБАӨ-өөр тайван өөр өөр фермээс авсан 1129 сөрөг дээж, 18 эерэг ийлдэс, 45 сөрөг ийлдэс, Аргентинийн 18 эерэг ийлдэс, 45 сөрөг ийлдэс, 353 шинжилгээний ийлдэсний дээж 3 стандарт эерэг ийлдэс Хятадын АЦБАӨ-өөр тайван өөр өөр мужаас цуглуулсан адуу болон илжигний 15,900 ийлдэсний дээж	Эх сурвалж үзэх	1. Мэдрэх чанар өндөр 2. Худалдаанд гарсан ийлдэс судлалын ЕЛИЗА оношлуур олон улс оронд хэрэглэгддэг, бас лабораторид дотооддоо бэлтгэсэн ЕЛИЗА хэрэглэж болно (лавлах эх сурвалж үзэх) 3. Зарим худалдаанд гарсан болон лабораториуд дотооддоо бэлтгэсэн ЕЛИЗА г харьцуулахад тэдний оношилгооны үзүүлэлт дүйцэж байсан байна (лавлах эх сурвалж үзэх) 4. Шинжилгээг богино хугацаанд хийж, үр дүнг түргэн гаргах боломжтой 5. Өртөг бага 6. Ашигласан зорилтот эсрэгтөрөгч нь ихэвчлэн маш тогтвортой байдаг 7. Шинжилгээний бүтээмж өндөр 8. Нийтлэг зарим вирустэй солбицох урвалд ордоггүй	1. Лабораторийн тусгай тоног төхөөрөмж шаардагдана 2. Оношилгооны өвөрмөц чанарыг хангахын тулд эерэг дээжийг АГНТУ-аар баталгаажуулах, үр дүн нь зөрвөл иммунблотын урвалаар дахин баталгаажуулах 3. Халдварын эхэн үед мэдрэх чанар ерөнхийдөө сул 4. Зарим ЕЛИЗА хуурамч эерэг дүн үзүүлэх тохиолдол гарсан	Nardini нар (2016) Nardini нар (2017) Scicluna нар (2018) Naves нар (2019) Dominguez нар (2021) Hu нар (2023) Russi нар (2023)

Хавсралт 3: Адууны цус багасах халдварт өвчин
Шинжилгээний зорилго: Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Шинжилсэн популяци	Баталгаажуулалтын тайлан	Давуу тал	Сул тал	Эх сурвалж
ПГУ □□□	Цус Сийвэн Эрхтэн (дэлүү, элэг) Exon 1 tat Цусны дээж LTR-tat	Exon 1 tat: Анализын мэдрэх чанар(LOD) = 1 хуулбар бай/мкл Анализын өвөрмөц чанар= 44 exon 1 tata ампликоны дараалал тогтоосон LTR-tat: Анализын мэдрэх чанар (LOD) = 10 хуулбар бай/мкл	Exon 1 tat: 5 луусны сийвэн (бүгд эерэг) 37 адууны эерэг цус 16 адууны эерэг сийвэн LTR-tat: 53 цусны дээж (40 эерэг, 13 сөрөг) Лавлах эх сурвалж үзэх	Лавлах эх сурвалж үзэх	Exon 1 tat болон LTR tat илрүүлэхэд: 1. Анализын мэдрэх чанар өндөр 2. Анализын өвөрмөц чанар өндөр 3. Эерэг үр дүн нь халдварлах чанартай шүтэлцээтэй болохыг адууны овгийн амьтдад өмнө нь хийж байсан туршилтын халдварын судалгаа харуулсан	Exon 1 tat болон LTR tat илрүүлэхэд: 1. Шинжилгээний бүтээмж бага 2. Өндөр өртөгтэй 3. Лабораторийн тусгай багаж шаардагддаг 4. Лабораторийн туршлагатай ажилтан шаарддаг 5. Вирусийн генетикийн хувьсамтгай чанар өнөр тул оношилгооны өвөрмөц чанар буурах магадлалтай	Scicluna нар (2013)
АГНТУ ☑☑□	Ийлдэс рекомбинант p26 уураг	Лавлах шинжилгээ: Иммунблот Өвөрмөц чанар: 100% Мэдрэх чанар 59.4%	Итали дахь ДМАЭМБ-ын ЛЛ-д ЕЛИЗА аргаар илрүүлж дараа нь АГНТУ болон иммунблотоор шинжилсэн 548 эерэг дээж	Удахгүй нийтлэгдэнэ	1. Өвөрмөц чанар өндөр 2. Өмнө нь шинжилж байгаагүй популяцид мэдрэх чанар өндөр 3. Өртөг бага 4. Лабораторийн ерөнхий багаж хангалттай	1. Халдварын эхэнд болон эсрэгбиеийн түвшин бага үед мэдрэх чанар сул 2. Шинжилгээний бүтээмж бага 3. Үр дүн удаж гардаг 4. Урвалжит чанар сул тохиолдолд урвалын үр дүнг үнэлэхэд туршлага шаардагдана	
ЕЛИЗА ☑☑☑	Ийлдэс, рекомбинант p26 уураг, угсармал (chimeric) рекомбинант p26/gp45 уураг	Лавлах шинжилгээ: АГНТУ, Иммунблот **Рекомбинант p26:** ОӨч: 73.2% (CI: 67.6–78.1%) ОМч 100% (CI: 91.6–100%) **Рекомбинант p26/gp45:**	**Рекомбинант p26:** Иммунблотоор шинжилсэн хээрийн 324 ийлдэс (52 эерэг, 272 сөрөг). Туршилтын журмаар вакцинжуулсан адууны 96 ийлдэс	Эх сурвалж үзэх	1. Мэдрэх чанар өндөр 2. Худалдаанд гарсан ийлдэс судлалын ЕЛИЗА оношлуур олон улс оронд хэрэглэгддэг, бас лаборатори дотооддоо бэлтгэсэн ЕЛИЗА хэрэглэж болно (лавлах эх сурвалж үзэх)	1. Лабораторийн тусгай тоног төхөөрөмж шаардагдана 2. Оношилгооны өвөрмөц чанарыг хангахын тулд эерэг дээжийг АГНТУ-аар баталгаажуулах, үр дүн нь зөрвөл иммунблотын урвалаар дахин баталгаажуулах	Nardini нар (2016) Nardini нар (2017) Scicluna нар (2018) Naves нар (2019)

		ОӨч: 99.3% (CI: 96.8-99.8%) ОМч 100% (CI: 100-100%) **Саатуулагч ЕЛИЗА:** Лавлах шинжилгээг АГНТУ ашиглан хийсэн. ОӨч = 100% ОМч = 97.0% Тохирол 98.3%	АГНТУ-аар шинжлсэн хээрийн 1,102 ийлдэс (857 эерэг, 245 сөрөг) Есөн лабораторийг хамарсан лаборатори хоорондын сорил **Рекомбинант p26/gp45:** Туршилтын журмаар вакцинжуулсан адууны 96 ийлдэс АГНТУ-аар шинжлсэн хээрийн 615 ийлдэс **Саатуулагч ЕЛИЗА:** Хятадын АЦБАӨ-өөр тайван өөр өөр фермээс авсан 1129 сөрөг дээж, 18 эерэг ийлдэс, 45 сөрөг ийлдэс, Аргентинийн 18 эерэг ийлдэс, 45 сөрөг ийлдэс, 353 шинжилгээний ийлдэсний дээж 3 стандарт эерэг ийлдэс Хятадын АЦБАӨ-өөр тайван өөр өөр мужаас цуглуулсан адуу болон илжигний 15,900 ийлдэсний дээж		3. Зарим худалдаанд гарсан болон лабораториуд дотооддоо бэлтгэсэн ЕЛИЗА г харьцуулахад тэдний оношилгооны үзүүлэлт дүйцэж байсан байна (лавлах эх сурвалж үзэх) 4. Шинжилгээг богино хугацаанд хийж, үр дүнг түргэн гаргах боломжтой 5. Өртөг бага 6. Ашигласан зорилтот эсрэгтөрөгч нь ихэвчлэн маш тогтвортой байдаг 7. Шинжилгээний бүтээмж өндөр 8. Нийтлэг зарим вирустэй солбицох урвалд ордоггүй	3. Халдварын эхэн үед мэдрэх чанар ерөнхийдөө сул 4. Зарим ЕЛИЗА хуурамч эерэг дүн үзүүлэх тохиолдол гарсан	Dominguez нар (2021) Hu нар (2023) Russi нар (2023)

Хавсралт 4: Адууны цус багасах халдварт өвчин Шинжилгээний зорилго: Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Шинжилсэн популяци	Баталгаажуулалтын тайлан	Давуу тал	Сул тал	Эх сурвалж
ПГУ ☑☐☐/☐☐☐	Цус Сийвэн Эрхтэн (дэлүү, элэг) Exon 1 tat	Exon 1 tat: Анализын мэдрэх чанар(LOD) = 1 хуулбар бай/мкл	Exon 1 tat: 5 луусны сийвэн (бүгд эерэг) 37 адууны эерэг цус 16 адууны эерэг сийвэн	Лавлах эх сурвалж үзэх	Exon 1 tat болон LTR tat илрүүлэхэд: 1. Анализын мэдрэх чанар өндөр	Exon 1 tat болон LTR tat илрүүлэхэд: 1. Шинжилгээний бүтээмж бага	Scicluna нар (2013)

	Цусны дээж LTR-tat	Анализын өвөрмөц чанар= 44 exon 1 tata ампликоны дараалал тогтоосон LTR-tat: Анализын мэдрэх чанар (LOD) = 10 хуулбар бай/мкл	LTR-tat: 53 цусны дээж (40 эерэг, 13 сөрөг) Лавлах эх сурвалж үзэх		2. Анализын өвөрмөц чанар өндөр 3. Эерэг үр дүн нь халдварлах чанартай шүтэлцээтэй болохыг адууны овгийн амьтдад өмнө нь хийж байсан туршилтын халдварын судалгаа харуулсан	2. Өндөр өртөгтэй 3. Лабораторийн тусгай багаж шаардагддаг 4. Лабораторийн туршлагатай ажилтан шаарддаг 5. Вирусийн генетикийн хувьсамтгай чанар өнөр тул оношилгооны өвөрмөц чанар буурах магадлалтай	
Вирус ялган авах ☑☐☐	Сийвэн, ийлдэс, цагаан эс эсхүл дэлүүний жигдрүүлсэн эд. АЦБӨ-ний виурс	Баримт мэдээлэл байхгүй	Баримт мэдээлэл байхгүй	Баримт мэдээлэл байхгүй	Хээрийн омгийг судлахад тохиромжтой	1. Мэдрэх чанар сул 2. Мэдлэг, туршлагатай ажилтан шаардагдана 3. Хугацаа их зарах ба олон тооны дээжийг богино хугацаанд шинжлэхэд тохиромжгүй,	Fidalgo-Carvalho нар (2009) Ма нар (2014)
АГНТУ ☑☑☐	Ийлдэс рекомбинант p26 уураг	Лавлах шинжилгээ: Иммунблот Өвөрмөц чанар: 100% Мэдрэх чанар 59.4%	Итали дахь ДМАЭМБ-ын ЛЛ-д ЕЛИЗА аргаар илрүүлж дараа нь АГНТУ болон иммунблотоор шинжилсэн 548 эерэг дээж	Удахгүй нийтлэгдэнэ	1. Өвөрмөц чанар өндөр 2. Өмнө нь шинжилж байгаагүй популяцид мэдрэх чанар өндөр 3. Өртөг бага 4. Лабораторийн ерөнхий багаж хангалттай	1. Халдварын эхэнд болон эсрэгбиеийн түвшин бага үед мэдрэх чанар сул 2. Шинжилгээний бүтээмж бага 3. Үр дүн удаж гардаг 4. Урвалжит чанар сул тохиолдолд урвалын үр дүнг үнэлэхэд туршлага шаардагдана 5. Нэг удаагийн шинжилгээгээр эсрэгбие илрүүлэх нь саяхан авсан халдварыг илрүүлж чадахгүй (ж.нь: эерэг урвал халдвар байгааг илтгэх бол сөрөг тохиолдолд дахин дээж авч шинжилнэ)	Nardini нар (2017) Cullinane нар (2007

ЕЛИЗА ☑☑☐	Ийлдэс, рекомбинант p26 уураг, угсармал (chimeric) рекомбинант p26/gp45 уураг	Лавлах шинжилгээ: АГНТУ, Иммунблот **Рекомбинант p26:** ОӨч: 73.2% (CI: 67.6–78.1%) ОМч 100% (CI: 91.6–100%) **Рекомбинант p26/gp45:** ОӨч: 99.3% (CI: 96.8-99.8%) ОМч 100% (CI: 100-100%) **Саатуулагч ЕЛИЗА:** Лавлах шинжилгээг АГНТУ ашиглан хийсэн. ОӨч = 100% ОМч = 97.0% Тохирол 98.3%	**Рекомбинант p26:** Иммунблотоор шинжилсэн хээрийн 324 ийлдэс (52 эерэг, 272 сөрөг). Туршилтын журмаар вакцинжуулсан адууны 96 ийлдэс АГНТУ-аар шинжлсэн хээрийн 1,102 ийлдэс (857 эерэг, 245 сөрөг) Есөн лабораторийг хамарсан лаборатори хоорондын сорил **Рекомбинант p26/gp45:** Туршилтын журмаар вакцинжуулсан адууны 96 ийлдэс АГНТУ-аар шинжлсэн хээрийн 615 ийлдэс **Саатуулагч ЕЛИЗА:** Хятадын АЦБАӨ-өөр тайван өөр өөр фермээс авсан 1129 сөрөг дээж, 18 эерэг ийлдэс, 45 сөрөг ийлдэс, Аргентинийн 18 эерэг ийлдэс, 45 сөрөг ийлдэс, 353 шинжилгээний ийлдэсний дээж 3 стандарт эерэг ийлдэс Хятадын АЦБАӨ-өөр тайван өөр өөр мужаас цуглуулсан адуу болон илжигний 15,900 ийлдэсний дээж	Эх сурвалж үзэх	1. Мэдрэх чанар өндөр 2. Худалдаанд гарсан ийлдэс судлалын ЕЛИЗА оношлуур олон улс оронд хэрэглэгддэг, бас лаборатори дотооддоо бэлтгэсэн ЕЛИЗА хэрэглэж болно (лавлах эх сурвалж үзэх) 3. Зарим худалдаанд гарсан болон лабораториуд дотооддоо бэлтгэсэн ЕЛИЗА г харьцуулахад тэдний оношилгооны үзүүлэлт дүйцэж байсан байна (лавлах эх сурвалж үзэх) 4. Шинжилгээг богино хугацаанд хийж, үр дүнг түргэн гаргах боломжтой 5. Өртөг бага 6. Ашигласан зорилтот эсрэгтөрөгч нь ихэвчлэн маш тогтвортой байдаг 7. Шинжилгээний бүтээмж өндөр 8. Нийтлэг зарим вирустэй солбицох урвалд ордоггүй	1. Лабораторийн тусгай тоног төхөөрөмж шаардагдана 2. Оношилгооны өвөрмөц чанарыг хангахын тулд эерэг дээжийг АГНТУ-аар баталгаажуулах, үр дүн нь зөрвөл иммунблотын урвалаар дахин баталгаажуулах 3. Халдварын эхэн үед мэдрэх чанар ерөнхийдөө сул 4. Зарим ЕЛИЗА хуурамч эерэг дүн үзүүлэх тохиолдол гарсан 5. Нэг удаагийн шинжилгээгээр эсрэгбие илрүүлэх нь саяхан авсан халдварыг илрүүлж чадахгүй (ж.нь: эерэг урвал халдвар байгааг илтгэх бол сөрөг тохиолдолд дахин дээж авч шинжилнэ)	Nardini нар (2016) Nardini нар (2017) Cullinane нар (2007) Scicluna нар (2018) Naves нар (2019) Dominguez нар (2021) Hu нар (2023) Russi нар (2023)

Хавсралт 5: Адууны цус багасах халдварт өвчин
Шинжилгээний зорилго: Халдварын тархалт тогтоох - тандалт

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Шинжилсэн популяци	Баталгаажуулалтын тайлан	Давуу тал	Сул тал	Эх сурвалж
ПГУ ☑☐☐/☐☐☐	Цус Сийвэн Эрхтэн (дэлүү, элэг) Exon 1 tat Цусны дээж LTR-tat	Exon 1 tat: Анализын мэдрэх чанар(LOD) = 1 хуулбар бай/мкл Анализын өвөрмөц чанар= 44 exon 1 tata ампликоны дараалал тогтоосон LTR-tat: Анализын мэдрэх чанар (LOD) = 10 хуулбар бай/мкл	Exon 1 tat: 5 луусны сийвэн (бүгд эерэг) 37 адууны эерэг цус 16 адууны эерэг сийвэн LTR-tat: 53 цусны дээж (40 эерэг, 13 сөрөг) Лавлах эх сурвалж үзэх	Лавлах эх сурвалж үзэх	Exon 1 tat болон LTR tat илрүүлэхэд: 1. Анализын мэдрэх чанар өндөр 2. Анализын өвөрмөц чанар өндөр	Exon 1 tat болон LTR tat илрүүлэхэд: 1. Шинжилгээний бүтээмж бага 2. Өндөр өртөгтэй 3. Лабораторийн тусгай багаж шаардагддаг 4. Лабораторийн туршлагатай ажилтан шаарддаг 5. Вирусийн генетикийн хувьсамтгай чанар өнөр тул оношилгооны өвөрмөц чанар буурах магадлалтай	Scicluna нар (2013)
АГНТУ ☑☑☐	Ийлдэс рекомбинант p26 уураг	Лавлах шинжилгээ: Иммунблот Өвөрмөц чанар: 100% Мэдрэх чанар 59.4%	Итали дахь ДМАЭМБ-ын ЛЛ-д ЕЛИЗА аргаар илрүүлж дараа нь АГНТУ болон иммунблотоор шинжилсэн 548 эерэг дээж	Удахгүй нийтлэгдэнэ	1. Өвөрмөц чанар өндөр 2. Өмнө нь шинжилж байгаагүй популяцид мэдрэх чанар өндөр 3. Өртөг бага 4. Лабораторийн ерөнхий багаж хангалттай	1. Халдварын эхэнд болон эсрэгбиеийн түвшин бага үед мэдрэх чанар сул 2. Шинжилгээний бүтээмж бага 3. Үр дүн удаж гардаг 4. Урвалжит чанар сул тохиолдолд урвалын үр дүнг үнэлэхэд туршлага шаардагдана	
ЕЛИЗА ☑☑☑	Ийлдэс, рекомбинант p26 уураг, угсармал (chimeric) рекомбинант p26/gp45 уураг	Лавлах шинжилгээ: АГНТУ, Иммунблот **Рекомбинант p26:** ОӨч: 73.2% (CI: 67.6–78.1%) ОМч 100% (CI: 91.6–100%) **Рекомбинант p26/gp45:**	**Рекомбинант p26:** Иммунблотоор шинжилсэн хээрийн 324 ийлдэс (52 эерэг, 272 сөрөг). Туршилтын журмаар вакцинжуулсан адууны 96 ийлдэс	Эх сурвалж үзэх	1. Мэдрэх чанар өндөр 2. Худалдаанд гарсан ийлдэс судлалын ЕЛИЗА оношлуур олон улс оронд хэрэглэгддэг, бас лаборатори дотооддоо бэлтгэсэн ЕЛИЗА хэрэглэж болно (лавлах эх сурвалж үзэх)	1. Лабораторийн тусгай тоног төхөөрөмж шаардагдана 2. Оношилгооны өвөрмөц чанарыг хангахын тулд эерэг дээжийг АГНТУ-аар баталгаажуулах, үр дүн нь зөрвөл иммунблотын урвалаар дахин баталгаажуулах	Nardini нар (2016) Nardini нар (2017) Scicluna нар (2018) Naves нар (2019)

		ОӨч: 99.3% (CI: 96.8-99.8%) ОМч 100% (CI: 100-100%) **Саатуулагч ЕЛИЗА:** Лавлах шинжилгээг АГНТУ ашиглан хийсэн. ОӨч = 100% ОМч = 97.0% Тохирол 98.3%	АГНТУ-аар шинжлсэн хээрийн 1,102 ийлдэс (857 эерэг, 245 сөрөг) Есөн лабораторийг хамарсан лаборатори хоорондын сорил **Рекомбинант p26/gp45:** Туршилтын журмаар вакцинжуулсан адууны 96 ийлдэс АГНТУ-аар шинжлсэн хээрийн 615 ийлдэс **Саатуулагч ЕЛИЗА:** Хятадын АЦБАӨ-өөр тайван өөр өөр фермээс авсан 1129 сөрөг дээж, 18 эерэг ийлдэс, 45 сөрөг ийлдэс, Аргентинийн 18 эерэг ийлдэс, 45 сөрөг ийлдэс, 353 шинжилгээний ийлдэсний дээж 3 стандарт эерэг ийлдэс Хятадын АЦБАӨ-өөр тайван өөр өөр мужаас цуглуулсан адуу болон илжигний 15,900 ийлдэсний дээж		3. Зарим худалдаанд гарсан болон лабораториуд дотооддоо бэлтгэсэн ЕЛИЗА г харьцуулахад тэдний оношилгооны үзүүлэлт дүйцэж байсан байна (лавлах эх сурвалж үзэх) 4. Шинжилгээг богино хугацаанд хийж, үр дүнг түргэн гаргах боломжтой 5. Өртөг бага 6. Ашигласан зорилтот эсрэгтөрөгч нь ихэвчлэн маш тогтвортой байдаг 7. Шинжилгээний бүтээмж өндөр 8. Нийтлэг зарим вирустэй солбицох урвалд ордоггүй	3. Халдварын эхэн үед мэдрэх чанар ерөнхийдөө сул 4. Зарим ЕЛИЗА хуурамч эерэг дүн үзүүлэх тохиолдол гарсан	Dominguez нар (2021) Hu нар (2023) Russi нар (2023)

[1] https://www.woah.org/en/what-we-offer/veterinary-products/reference-reagents/
[2] https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3

БҮЛЭГ 35 (3.6.6)

АДУУНЫ ТОМУУ ӨВЧИН
(АДУУНЫ ТОМУУ ӨВЧНИЙ ВИРУСИЙН ХАЛДВАР)

А. УДИРТГАЛ

Адууны томуу өвчин томуу өвчний А хүрээний (*Orthomyxoviridae* овгийн *Influenzavirus* А төрлийн) H7N7 (хуучнаар дэд хэвшил 1) болон H3N8 (хуучнаар дэд хэвшил 2) гэсэн дэд хэвшлийн хоёр вирус үүсгэдэг боловч сүүлийн 30 жилд H7N7 дэд хэвшлийн вирусийн халдварын талаар маш цөөн мэдээлэгджээ.

Өвчинд ихэд мэдрэмтгий адууны овгийн амьтанд халуурах, хамраас шингэн гоожих, хуурай ширүүн амьсгалах эмнэл зүйн шинж илрэх бол нялх унага, илжгэнд уушги үрэвсэх, адуунд тархины үрэвсэл ховор боловч тохиолддог байна (Daly нар, 2006; Gerber, 1970). Нохой энэ халдвартай холбоотойгоор халуурах, ханиалгах эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлэх ба халдварын улмаас мөгөөрсөн хоолой, уушги үрэвсэж идээлэх, гэнэт үхэх нь хааяа тохиолдоно (Crawford нар, 2005). Томуу өвчин мэдрэмтгий популяцийн дотор хурдан тархдаг онцлогтой. Үүсгэгч вирус амьсгалын замаар тархах ба бохирдол тээсэн хүн, машин, хог хаягдлаар шууд бусаар тархана. Адуу мэдрэмтгий учраас энэ өвчний нууц үе 24 цаг ч хүрэхгүй байж болно. Вакцинжуулалтаар дархлаа сайтар тогтоогүй адуунд нууц үе удаан үргэлжлэх, зарим нэг эсхүл бүлэг шинж тэмдэг илрэхгүй байж болох бөгөөд өвчний тархалт бага байж болно. Херпес вирустэй холбоотой адууны амьсгалын замын өвчин зэрэг вирусээр үүсдэг бусад өвчин эмнэл зүйн хувьд томуу өвчний хөнгөн хэлбэртэй төстэй учраас эдгээр нь адууны томуу өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдгийн оношилгоог илүү төвөгтэй болгоно. Адууны томуу өвчний халдвар авсан адуу бактерийн хоёрдогч халдварт мэдрэмтгий болж хамраас нь салст идээт шингэн гоожих тул үндсэн шалтгааныг харгалзалгүйгээр бактерийн халдвар гэж оношлоход хүргэх нь бий.

Адууны томуу өвчний вирусийг шувууны томуу өвчний вирусээс гаралтай гэж үздэг ба тун саяхан шувууны вирусээс дамжсан халдвар адуу, илжигт бүртгэгдсэн байна. БНХАУ-ын зүүн хойд хэсэгт гарсан адууны томуу өвчний багахан тархалтын үе болох 1989 онд ялган авсан H3N8 вирусийн нуклеотидийн дараалал тогтоох шинжилгээгээр уг вирус адууны томуу өвчний вирусээс илүүтэй шувууны томуу өвчний вирустэй ойр хамааралтай байсныг тогтоожээ (Guo нар, 1992). Египет улсад гарсан шувууны H5N1 вирус илжигний амьсгалын замын өвчинтэй холбоотой гэж үзсэн байна (Abdel-Moneim нар, 2010).

Адууны томуу өвчний вирус амьтны зүйл хоорондын хоригийг давах боломжтой ба энэ нь ихэвчлэн Хойд Америкт нохойн амьсгалын замын өвчинтэй холбоотой гарч байв (Crawford нар, 2005). Түүнчлэн ИБУИНХУ-д адууны томууны халдварын салангид дэгдэлт нохойд гарсан боловч вирус нь нохойн популяцид хадгалагдаж үлдээгүй байна. Мөн БНХАУ-ын төв хэсэгт гахайнаас адууны томуу өвчний вирусийг ялган авчээ (Tu нар, 2009). Ажил мэргэжлийн шалтгаанаар вирусийн халдварт өртсөн хүн ийлдэсний эерэг урвалтай болсныг тохиолдлоор тогтоосон хэдий ч адууны томуу өвчин амьтнаас хүнд халдварласан баримт эдүгээ маш цөөн юм (Alexander & Brown, 2000).

Өвчний эндемик тархалттай улсад адууны томуу өвчний улмаас учрах эдийн засгийн хохирлыг вакцинжуулалтаар хамгийн доод түвшинд хүртэл бууруулж болох ба уралдаан зохион байгуулах эрх бүхий олон байгууллага, адууны нийгэмлэг, холбоод адууг заавал вакцинжуулах бодлого хэрэгжүүлж байна. Адууны томуу өвчний вакцинжуулалт нь ариун дархлаа үүсгэдэггүй бөгөөд вакцинжуулсан адуу вирус ялгаруулан өвчнийг алгуур тараах боломжтой. Ийм боломж гаргахгүй байлгах эрсдэлийн менежментийн стратегийг боловсруулах хэрэгтэй.

Улс орны уг өвчний тархалтын сүүлийн үеийн мэдээллийг ДМАЭМБ-ын Дэлхийн мал, амьтны эрүүл мэндийн мэдээллийн системээс (OIE WAHIS) авна уу (https://wahis.woah.org/#/home).

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Адууны томуу өвчнийг оношлох шинжилгээний арга, тэдгээрийн зорилгыг 1-р хүснэгтэд нэгтгэв. Амьсгалын замын эрхтний цочмог явц бүхий эмгэгтэй адуунаас авсан хамрын арчдаст вирус

илрүүлэх замаар адууны томуу өвчний вирусийн цочмог халдварыг лабораторид оношилно. Үүнээс гадна ийлдсийн дээж хосоор нь шинжлэн халдварын эсрэгбиеийн хариу урвалыг илрүүлэхийг зорьж болно. Эдгээр аргыг хослуулан хэрэглэвэл бүр сайн. Адууны томуу өвчний вирусийг тахианы үр тогтсон өндөг, эсхүл эсийн өсгөвөрт ялгана. Мөн эсрэгтөрөгч баригч энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА) ашиглан амьсгалын замын шүүрэлд вирусийн эсрэгтөрөгч илрүүлэх эсхүл урвуу транскрипцт полимеразагийн гинжин урвал (УТ-ПГУ) ашиглан вирусийн геномыг илрүүлэх замаар халдварыг нотлон харуулж болно. Томуу өвчний аливаа вирус мэдрэмтгий амьтанд өндөр халдвартай бөгөөд санамсаргүй байдлаар хөндлөн бохирдол үүсгэчихгүйн тулд халдвар хийсэн өндөг, эсийн өсгөвөртэй харьцах үедээ болгоомжтой ажиллана. Оношилгооны лабораторид стандарт омгийг үржүүлж болохгүй бөгөөд оношилгоонд ирүүлсэн сорьцыг наад зах нь нэг ижил хугацаанд эсхүл нэг дор боловсруулж шинжлэхгүй байх хэрэгтэй. Шинжилгээг биоаюулаас хамгаалсан 2 дугаар түвшний тусгаарлалтын нөхцөлд биохамгааллын шүүгээнд хийхийг чухалчлан вирустэй ажиллахын өмнө ба хойно ажлын бүх гадаргууг үр дүнтэй аргаар халдваргүйжүүлнэ.

Эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрч эхэлсэн 3-5 хоногт багтаан сорьц авах нь чухал. Эдгээр сорьцод хамар залгиурын арчдас, хамар эсхүл мөгөөрсөн хоолойг зайлсан шингэн, дотуур дурангаар авсан зүйл орно. Арчдасыг хамар залгиурын доод хана дагуулан нэвт өнгөрөхөд хүрэлцэх урттай нарийн савхны үзүүрт шингээгч хөвөн ороосон бойтуураар авна. Арчдасыг авсан даруйд зөөвөрлөлтийн орчин бүхий цодонд хийнэ. Энэ орчин нь 40% глицерин эсхүл 2%-ийн антибиотикийн уусмал ([100] мл ариутгасан нэрмэл усанд пенициллин [10,000 нэгж], стрептомицин [10,000 нэгж]) бүхий 2% триптоз фосфатын шөлний аль нэгийг болон 2% фунгизон (250 мг/мл нөөц) агуулсан фосфатын буфержүүлсэн давсны уусмал юм. Хэрэв сорьцыг 1-2 хоногт тарилтад ашиглах бол 4°C-д, хэрэв удаан хадгалахаар бол –70°C, түүнээс доош хэмд хадгална. Сорьцыг лабораторид тээвэрлэн хүргэхдээ сэрүүн нөхцөлд байлгана.

Сорьцыг боловсруулахдаа солбицох бохирдохоос хамгаалах арга хэмжээ авч 1.1.5 *Мал эмнэлгийн шинжилгээний лабораторийн чанарын менежмент* бүлэгт заасан чанарын арга хэмжээг мөрдөнө. Бойтуурыг хямсаагаар чимхэж шингэнийг шахаж аваад бойтуурыг тохирох аргаар устгана. Сорьц бактериар их бохирдсон байвал нэмээд антибиотик нэмнэ. Үлдсэн шингэнийг –70°C-д хадгална. Антибиотикоор боловсруулсан сорьцыг нунтаг мөсөнд 30-60 минут суулгаад дараа нь бактери, тэдгээрийн үлдцийг авахын тулд 15 минут 1500 ***g*** хурилдуурдаж дээд шингэн хэсгийг тарилт хийхэд ашиглана. Үлдсэн шингэнийг –70°C-д хадгална. Томуу өвчний вирус шүүлтүүрт шингэж сорьцоос хорогдох учраас сорьцыг шүүхийг зөвлөдөггүй.

Хүснэгт 1. Адууны томуу өвчнийг оношлох шинжилгээний арга

Арга	**Зорилго**					
	Популяци халдваргүйг тогтоох	Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах	Халдварын тархалт тогтоох - тандалт	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгчийг ялган тогтоох [(а)]						
Вирус ялган авах	–	+	–	++	–	–
Бодит цагийн ПГУ	–	+++	+++	+++	+++	–
RAD	–	+	–	++	+	–
Эсрэгтөрөгч баригч ЕЛИЗА	–	++	++	+++	++	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ЦНСУ	++	+[(б)]	–	+++[(б)]	+++	++
ЦЗБҮА	++	++[(б)]	–	+++[(б)]	+++	+++
ЕЛИЗА	++	+	++[(в)]	+[(б)]	+++	+

Түлхүүр үг:

+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
++ энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй

ЕЛИЗА= энзим холбоост дархлааны урвал;
УТ-ПГУ = урвуу транскрипцт полимеразагийн гинжин урвал;
ФЭБШУ = флюоресцент эсрэгбиеийн шууд урвал;
RAD = эсрэгтөрөгч түргэн илрүүлэх арга;
ЦНСУ = цус наалдалтыг саатуулах урвал;
ЦЗБҮА = цус задралын бүс үүсгэх арга;
(а) Үүсгэгчийг ялган таних аргыг хамтруулан хэрэглэхдээ эмнэл зүйн ижил сорьц ашиглана.
(б) Дээжийг хосоор нь шинжлэх шаардлагатай;
(в) Шаардлага хангах вакцин хэрэглэж байгаа бол вакцины болон халдварын улмаас үүссэн эсрэгбиеийг ялгаварлахад ашиглаж болно.

1. Үүсгэгчийг ялган таних

Төрөл бүрийн эмнэл зүйн сорьцыг эсийн өсгөвөрт дараалан зорчуулахгүй бол эсэд ургахдаа муу учраас адууны томуу өвчний вирусийг өндгөнд өсгөвөрлөн ялгах аргыг илүү хэрэглэж ирсэн уламжлалтай. Өндгөнд болон нохойн бөөрний Мадин-Дарби эсэд (MDCK) ялгаж авсан H3N8 вирусийг харьцуулж үзэхэд MDCK эс нь эмнэл зүйн сорьцод давамгайлж байгаа вирусийг үл төлөөлөхүйц өөр вирусийг сонгон өсгөвөрлөх чанартай байжээ (Ilobi нар, 1994). Гэвч өндгөнд өсгөвөрлөж чадаагүй зарим вирусийг MDCK эсэд амжилттай өсгөвөрлөн ялгаж авсан ба өөр хувилбар вирусийг сонгон өсгөвөрлөх чанар өндгөнд өсгөвөрлөхөд ч тохиолдож байсан байна (Oxburgh & Klingborn, 1999). Энэ хоёр аргыг хослуулан вирус ялган авахыг хичээвэл илүү зохистой.

УТ-ПГУ болон бодит цагийн УТ-ПГУ-ыг вирус ялган авахаас илүү мэдрэмтгий хувилбар арга гэж үзэн оношилгооны лабораториудад өргөн хэрэглэж байна (Quinlivan нар, 2005). Адууны томуу өвчний вирусийн нуклео уургийн эсрэг ижил гарлын эсрэгбие (ИГЭБ) ашиглан H3N8 вирус илрүүлэхэд зориулсан эсрэгтөрөгч баригч мэдрэмтгий ЕЛИЗА урвалаар хамрын шүүрэлд томуу өвчний эсрэгтөрөгчийг шууд илрүүлж болно (Livesay нар, 1993). Эдгээр аргаар оношлох үйлчилгээ хийж байгаагаас өөр бэлэн хэрэглээний цомог худалдаанд гараагүй, харин хүний томуу өвчнийг илрүүлэх худалдаанд гарсан иж бүрдэл цомгийг ашиглан адууны томуу өвчний вирусийг илрүүлж болно. Энэ арга нь УТ-ПГУ-аас мэдрэх чанараар сул хэдий ч менежментийн шийдвэр гаргах үндэслэл болдог түүний үр дүн түргэн гарна. Энэ аргыг хэрэглэснээр вирус ялгах ажлыг орхигдуулж болохгүй. Шинэ вирусийг ялган авах, улмаар лавлагааны лабораторид хүргүүлэх нь эсрэгтөрөгчийн аажим хувьсал, шинэ вирусийн нэвтрэлтэд хяналт-шинжилгээ хийх тандалтын хөтөлбөрийн нэг хэсэг болгон түүний шинж чанарыг тодорхойлох, вакциныг сайжруулахад ашиглах өсгөврөөр хангахад маш чухал юм. Вирус ялгах эх үүсвэр хомс тохиолдолд УТ-ПГУ болон ЕЛИЗА урвалын эерэг үр дүн нь вирус ялгаж авах сорьцыг сонгож авахад эсхүл лавлах лабораторид вирус ялгах, шинж чанарыг тодорхойлуулахаар илгээх дээж сонгоход хэрэг болно.

1.1. Тахианы хөврөлжүүлсэн өндгөнд вирус ялган авах

Үр тогтсон өндгийг чийгшүүлэгчтэй 37–38°C дулаан тогтоогуурт байрлуулж хоногт хоёр удаа эргүүлэн 10-11 хоногийн дараа өндөг гэрэлтүүлэгчээр шалгаж хөврөлжүүлсэн өндгийг цаашид ашиглахаар сонгоно. Хийн зайн дээд гадаргууг спиртээр цэвэрлэн хальсыг цоолж жижиг нүх гаргана. Халдварлуулах зүйлийг амнионы эсхүл аллантойсын хөндийд тарина. Хэд хэдэн өндөгний амнионы хөндийд нэмж шингэлээгүй (дээжийг антибиотик агуулсан ФБУ-д 1/10 ба 1/100-аар шингэлж болно) өндөг/дээж (0.1 мл) тарина. Тариурын зүүг 1 см орчим буцааж сугалаад халдварлуулах зүйлийг 0.1 мл-ээр аллантоисын хөндийд тарина. Олон лаборатори хийн зайн заагийн яг дор нь хоёр дахь нүх гаргаад түүгээрээ аллантойсын хөндийд халдвар хийдэг өөр хувилбар бий. Нүхнүүдийг вакс эсхүл Селло наалтаар бөглөөд 34–35°C-д 3 хоног өсгөвөрлөнө. Халдвар хийснээс хойш 24 цагийн хугацаанд үхсэн хөврөлийг зайлуулна. Халдвар хийснээс хойш 24 цагийн дараа үхсэн эсхүл 3 хоногийн дараа амьд хөврөлтэй байгаа өндгийг шалгаж адууны томуу өвчний вирус байгаа эсэхийг тогтооно.

Өндгийг 4°C бүхий хэсэгт шилжүүлэн 4 цаг эсхүл хонуут байлган хөврөлийг үхүүлж өсгөвөр хурааж авах үед гарах цусыг багасгана. Хальсыг халдваргүйжүүлж соруураар амнионы ба/эсхүл аллантоисын шингэнийг тус тусад нь хураан авч тусад нь хадгална. Хураан авсан шингэнийг хоёр дахин шингэлээд ижил эзлэхүүн (0.025 мл) бүхий тахианы цусны улаан эстэй (ЦУЭ) (ФБУ-д 0.5% [э/э] тунамал эс) хольж V- эсхүл U-ёроолтой үүр бүхий бичил таньцын хавтанд эсхүл 0.4% усан гахайн улаан эстэй хольж (ФБУ-д 0.4% [э/э] тунамал эс) V- эсхүл U-ёроолтой үүр бүхий бичил таньцын хавтанд цус наалдуулах (НА) идэвхийг шалгана. Хавтанг 4°C-д 30 минут орчим байлгаж неироаминидаза идэвхжихээс хамгаална. Хэрэв тахианы улаан эс хэрэглэж байгаа бол хавтанг 70 градусаар хазайлган наалдаагүй эсийг үүрний ёроол руу “урсган” урвалыг уншина. Усан гахайн наалдаагүй эс үүрний ёроолд товч хэлбэртэй харагдах ба бүрэн суутлаа удна. Хэрэв наалдуулах идэвх байхгүй бол хурааж

авсан шингэн бүрийг хэсэгчлэн хуваасныгаа нийлүүлээд өндгөнд дараагийн зорчуулалт хийнэ. Наалдуулах идэвх эерэг бүх дээжийг хэсэгчлэн хуваагаад –70°C-д хадгалах ба наалдуулах идэвхийг тогтоохын тулд нэг хэсгийг яаралтай таньцлана. Наалдуулах идэвхийн таньц нь наалдалт үүсгэж байгаа хамгийн их шингэлэлтийн эсрэг утга юм. Хэрэв цус наалдуулах идэвх 1/16 эсхүл түүнээс их бол өсгөврийн шинж чанарыг яаралтай тогтооно. Эерэг дээжийн таньц бага байвал цааш зорчуулна. Халдварлуулах зүйлийг 1/10, 1/100, 1/1,000-аар урьдчилан шингэлэх замаар вирусийн гэмтсэн хэлтэрхий үүсэхээс болгоомжлох хэрэгтэй. Өндөр шингэлэлттэй дээжээс эерэг урвалтай гарсан хэсгээс сонгон нөөцөд авч хадгална. Ялангуяа вакцинжуулсан адуунаас ялгасан вирусийг таваас доошгүй удаа зорчуулах шаардлагатай. Хэрэв таван удаагийн зорчуулалтаар вирус сэргээгүй бол цаашид зорчуулаад амжилтад хүрэх магадлал бага байна.

1.2. Эсийн өсгөвөрт вирус ялган авах

Адууны томуу өвчний вирусийг ялган авахад MDCK (MDCK, ATCC CCL34) дамжмал эс хэрэглэж болно. Эсийг хуруу шилэнд зайгүй үргэлжилсэн үе тогттол ургуулаад дээр дурдсан аргаар боловсруулсан дээж тус бүрийг 0.25–0.5 мл-ээр гурван удаа халдварлуулна. Халдвар хийхийн өмнө дан үе эсийг трипсин (2 мкг/мл) агуулсан, ийлдэсгүй эсийн өсгөврийн орчноор наад зах нь нэг удаа угаана. Өсгөвөрт ийлдэсгүй бөгөөд 0.5–2 мкг/мл трипсин (химиотрипсинийг зайлуулах зорилгоор TPCK [L-1-tosylamine-2-phenylethyl chloromethyl ketone]-ээр урьдчилан боловсруулсан жишээ нь Сигмагаас авч болох олдоцтой урвалж бий) агуулсан тэжээлт орчин хэрэглэж өдөр тутам шалган эс эмгэгшүүлэх нөлөөг (ЭЭН) илрүүлнэ. Хэрэв эерэг дүн үзүүлбэл эсхүл аль ч тохиолдолд 7 хоногийн дараа наалдуулах идэвхийг дээд шингэн хэсэгт шалгана. Шингэний таньц ≥1/16 бол өсгөврийн шинж чанарыг яаралтай тодорхойлно. Сөрөг урвалтай шингэн болон <1/16 таньцтай шингэнийг тав хүртэл удаа зорчуулна.

Өөр нэг хувилбар нь эс цус шингээсэн эсэхийг илрүүлж нотлох арга юм. Энэ аргачлалаар эсийн гадаргуу дээр вирусийн эсрэгтөрөгч экспреслэгдсэн эсэхийг илрүүлнэ. Эсийн өсгөврийн тэжээлт орчныг авч зайлуулаад цодонг ФБУ-аар угаана. Тахианы эсхүл усан гахайн цусны улаан эсийн 50%-ийн цийдмэгээс нэгээс хоёр дусал нэмж цодонг болгоомжтой эргэлдүүлээд тасалгааны хэмд (23°C ± 2°C) 30 минут тавина. Холбогдоогүй улаан эс ФБУ-аар угаагдах ба өсгөврийг микроскопоор харж цус шингээсэн нотолгоо байгаа эсэхийг шалгана.

1.3. Гемаглютининий (H) дэд хэвшил тогтоох

Адууны томуу өвчний вирусийн шинэ өсгөврийн гемаглютининий дэд хэвшлийг H7N7 ба H3N8 өвөрмөц эсрэг ийлдэс ашиглан цус наалдалтыг саатуулах урвалаар (Б.2.1 хэсэг, НУ) тодорхойлж болно. Өсгөврийг эхлээд Твин 80/эфирээр боловсруулах нь вирусийг халдварлахгүй болгож солбицон бохирдох эрсдэлийг бууруулна. Ингэж боловсруулах нь ялангуяа H3N8 вирусийн тухайд цус наалдуулах идэвхийг сайжруулна (John & Fulginiti, 1966). Гэвч Твин 80/эфирээр боловсруулахад урвалын өвөрмөц чанар бууран үр дүнгийнх нь хэлбэлзэл ихсэх магадлалтай. Вирусийг ялган танихын тулд стандарт эсрэгтөрөгчийг, үүний дотор H7N7 (жишээ нь A/eq/Prague/56, A/eq/Newmarket/77) ба H3N8 (жишээ нь A/eq/Newmarket/2/93, A/eq/South Africa/4/03 ба A/eq/Richmond/1/07) омгийг шинжлэх дээжтэй зэрэгцүүлэн таньцлана. Вирусийн омгийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториос олж авч болно (*Газрын амьтны өвчний оношилгооны гарын авлагын* 4 дүгээр хэсэгт хүснэгтээр үзүүлэв). Үүнээс гадна газар зүйн ижил бүс нутагт хэрэв байгаа бол сүүлийн үеийн өсгөврийг хамт шинжилнэ. Солбицох бохирдлоос хамгаалан стандарт эсрэгтөрөгчийг Твин 80/эфирээр боловсруулна. Шинжлэх эсрэгтөрөгч, стандарт эсрэгтөрөгч дэх эсрэгтөрөгчийн агуулламжийг ямагт урвуу таньцлалт хийж баталгаажуулна.

1980-аад оноос эхлэн адуунаас зөвхөн H3N8 дэд хэвшил ялган авсан байна. Адууны H3 өсгөврийн гемаглютининий дараалалыг Раш нарын (2014) тодорхойлсны дагуу УТ-ПГУ-аар эсхүл дараалал тогтоох аргаар түргэн тодорхойлж болох ба эдгээрийг тандах судалгааны зорилгоор ашиглахыг зөвлөдөг.

Адууны томуу өвчний шинэ вирусийн шинж чанарыг омог-өвөрмөц эсрэг ийлдэс ашиглан цус наалдалтыг саатуулах урвалаар сайтар тодорхойлж болох юм. Эсрэг ийлдсийн солбицон урвалд орох чанарт эсрэгбие гарган авсан амьтны зүйл нөлөөлөх ба илүү омог-өвөрмөц ийлдсийг өмхий хүрнээс гаргаж авна (Mumford, 1992). Мөн дархлаажуулалтын арга ийлдэсний өвөрмөц болон солбицон урвалд орох чанарт нөлөөлнө. Дан эсрэгтөрөгч хэрэглэснээс хойш 3 долоо хоногийн дараа авсан ийлдэс хамгийн сайн ялгаварлагдана.

Бүх өсгөврийг ДМАЭМБ эсхүл ДЭМБ-ын олон улсын лавлах лабораторид яаралтай илгээж эсрэгтөрөгчийн аажим хувьсал, гаднаас нэвтэрч болох шинэ вирусийг хянан-шинжилж байдаг омог тандалтын хөтөлбөрт хамруулж байх хэрэгтэй.

1.4. Неираминидазагийн дэд хэвшил тогтоох

Неираминидазагийн дэд хэвшил тогтооход өвөрмөц эсрэг ийлдэс шаардагдах ба яг тогтсон арга зүй байхгүй. ПГУ-ын праймер ашиглан дэд хэвшлийг тогтоож болно. 1980-аад оноос эхлэн адуунаас зөвхөн H3N8 дэд хэвшил ялган авсан байна. Адууны H3 өсгөврийн неираминидазагийн дарааллыг Раш нарын тодорхойлсны (2014) дагуу УТ-ПГУ-аар эсхүл дараалал тогтоох аргаар түргэн тодорхойлж болох ба үүнийг тандах судалгааны зорилгоор ашиглах нь зохистой юм.

1.5. Полимеразагийн гинжин урвал

Ердийн болон бодит цагийн УТ-ПГУ-ын шинжилгээ нь өндгөнд вирус өсгөвөрлөх эсхүл хүний томуу өвчнийг илрүүлэхэд зориулсан эсрэгтөрөгч түргэн илрүүлэх цомгоор вирусийн нуклеопротеин илрүүлэх аргаас илүү мэдрэмтгий учир адууны томуу өвчний вирусийн геномыг хамрын гоождост илрүүлэхэд тогтмол хэрэглэж байна. Австралид адуун сүргийн дунд явуулах өргөн хүрээтэй илрүүлэх шинжилгээнд ашиглах өндөр бүтээмжтэй арга нэвтрүүлэхийн тулд 2007 онд хэрэгжүүлсэн томуу өвчнийг устгах хөтөлбөр хэрэгжүүлэх явцдаа томуу өвчний А хүрээний вирус, түүний дотор шувууны H5N1 (Heine нар, 2007) вирусийг өргөн хүрээнд илрүүлдэг, томуу өвчний үүсгэгчийн матрикс генд чиглэсэн проб ашигладаг бодит цагийн УТ-ПГУ-ыг боловсруулж ДНХ-ийг автоматаар ялган авах системтэй хамтатган хэрэглэсэн байна. Тив дамжин тархсан томуу өвчнийг шинжлэх энэ аргыг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудад адууны томуу өвчнийг оношлох, тандах ажилд хэрэглэсээр байна (Gildea нар, 2013a). Түүнчлэн адууны томуу-2 (H3N8) болон адууны томуу-1 (H7N7) өвчинд өвөрмөц бодит цагийн УТ-ПГУ-ыг боловсруулсан бөгөөд адууны томуу өвчнийг илрүүлэх УТ-ПГУ-ын цомог худалдаанд гарсан байна.

ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториуд Хаине нарын боловсруулсан аргад суурилан вирусийн матрикс генийг онилсон, тив дамжин гарч байгаа томууг илрүүлэх боломжтой бодит цагийн УТ-ПГУ-ыг ДМАЭМБ-ын баталгаажуулалтын загварын дагуу баталгаажуулахаар сонгоод байна. Энэ аргыг худалдаа, шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль амьтан халдваргүй болохыг гэрчлэх зорилгоор баталгаажуулаад байна.

ПГУ праймерийн дараалал:

Хөтлөх: 5’-AGA-TGA-GYC-TTC-TAA-CCG AGG-TCG-3’

Буцаах: 5’-TGC-AAA-NAC-ATC-YTC-AAG-TCT-CTG-3’

Проб: 6-FAM-5’-TCA-GGC-CCC-CTC-AAA-GCC-GA-3’-TAMRA

N=A, G, C эсхүл T; Y=C эсхүл T

Дараах зааврыг тухайн лаборатори эсхүл УТ-ПГУ-ын цомгийн шаардлагад тохируулан өөрчлөн зохицуулах шаардлага гарч болно. Шинжилгээг нэвтрүүлэх, баталгаажуулах, хяналт-шинжилгээ хийх ажлыг хөнгөвчлөхөд зориулан хяналтын хүчтэй эерэг, сул эерэг, сөрөг дээж Ирланд улсын адууны төв дэх ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториос авч болно.

i) Хамар залгиурын 100 мкл шүүрлээс РНХ ялгаж авна. Уусгалтын 80 мкл буферт нуклеин хүчлийг уусгаж аваад 5 мкл-ийг нэг шатат УТ-ПГУ-ын 25 мкл тус бүрд темплат болгон ашиглана.

   ДНХ ялгах цомгууд худалдаанд байгаа бөгөөд цомог бүрд заасан аргын дагуу вирусийн нуклеин хүчлийг ялгана. Цомгийн доторх нийлэгжүүлсэн эерэг хяналтыг урвалын энэ шатаас эхлэн бүх шинжилгээний турш хэрэглэн ПГУ-ыг саатуулагч зүйлд мониторинг хийх буюу өөрөөр хэлбэл хуурамч эерэг дүн гарах магадлалыг бууруулна.

ii) Бодит цагийн нэг шатат УТ-ПГУ-ын цомгийг худалдан авах боломжтой. Дор дурдсан суурь ажлыг тухайн улс орны шаардлага, хэрэглэж байгаа цомог, байгаа багаж төхөөрөмжөөс хамааруулан өөрчилж болно.

iii) Праймер, пробыг 10 µM ажлын шингэлэлттэй болгоод хадгална.

iv) Бодит цагийн нэг шатат УТ-ПГУ-ын үндсэн холимгийг үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу шинжлэх дээжийн тоонд хүрэлцэх хэмжээний эзлэхүүнээр бэлтгэнэ. Ердийн үед 12.5 мкл 2 × БХ буфер, 2.0 мкл tРНХ, праймер тус бүрээс 0.8 мкл (эцсийн төвшрүүлэг 0.32 μM), проб 0.2 мкл (эцсийн төвшрүүлэг 0.08 μM), 1.0 мкл 25 × УТ-ПГУ-ын энзимийн холимог, 1.25 мкл ДЭХ (дотоод эерэг хяналт) праймер/пробын холимог, 1.45 мкл нуклеазагүй болгосон ус агуулах 20 мкл мастер холимгийг дээж тус бүрд хэрэглэнэ.

v) ПГУ-ын тохирох үүрэн дэх 20 мкл мастер холимог дээр шинжлэх, эерэг, сөрөг хяналтыг оруулан 5 мкл дээжийн РНХ нэмнэ.

vi) Бодит цагийн дулаан сэлгэгчийг үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу урвуу транскрипцлах, хДНХ-г олшруулах эсхүл флюоресценцээр илрүүлэх үе шатаар программчлаад бичил хавтанг байрлуулна. Дулаан сэлгэлтийн нөхцөлийн жишээ: урвуу транскрипцийн шатыг 45°С-д 10 минут явуулсны дараа денатурацийн шатыг 95°С-д 10 минут явуулна. хДНХ-г 95°С-д 15 секундээр 40 мөчлөг, 60°С-д 45 секундээр олшруулна.

vii) Жич: хугацаа, температурыг өөрчилж болох ба хэрэглэх урвалж, цомгоос хамааруулан хамгийн оновчтой тохиргоо хийнэ.

1.5.1. Үр дүнгийн үнэлгээ

Урвалын мэдээлэгч будгийн гэрэлтэлт статистикийн хувьд илт мэдэгдэхүйц өсөхөд хүргэж байгаа мөчлөгийн тоог заах босго утга (Ct)-аар урвалын үр дүнг илэрхийлнэ. Үр дүнг тодорхойлоход ашиглах босго утгын тэмдэглээг олшруулах урвалын хянах дэлгэц (координатын хавтгай) дээрх шугаман хамааралтай хэсгийн дунд хэрд тогтмол ΔRn утга дээр гараар тохируулна. Ct утга нь 40 хүртэл байвал эерэг гэж үзнэ. Хэрэв IPC Ct утга нь үйлдвэрлэгчийн зөвшөөрдөг хязгаарт байгаа болон томуу өвчний шинжилгээнд Ct утга 40 ба түүнээс дээш бол тухайн дээжийг сөрөг гэж үнэлнэ.

Дээр өгүүлсэн бодит цагийн ПГУ нь адууны томуу өвчний вируст өвөрмөц биш учир шувууны болон гахайн томууны вирусийг бас илрүүлнэ. Хэдийгээр маш бага эрсдэлтэйд тооцогддог ч санамсаргүй байдлаар адууны хамар залгиурыг эсхүл сорьцыг бохирдуулж болох хүний томуу өвчний вирусийг энэ аргаар илрүүлэх боломжтой. БЦ-ПГУ-аар эерэг гарсан дээжид дараа нь гемаглютининий генийн дараалал тогтоох шинжилгээ хийнэ. Раш нарын тодорхойлсон (2014) аргад суурилан Флорида бүлэг 1 ба Флорида бүлэг 2 өсгөвөр алинд нь ч хэрэглэж болох аргыг дор тодорхойлов. Гэвч энэ хоёр бүлэг өсгөврийн нуклеотидийн дараалал өөр хоорондоо улам бүр холдсоор байгаа учраас праймерийн дарааллыг хамгийн оновчтой байхаар өөрчилж түүнийгээ сүүлийн үед гарсан адууны томууны вирусийн нуклеотидийн дарааллын нийтэд нээлттэй санд байгаа дараалалтай харьцуулан үзэж байх хэрэгтэй. НА ген нь нуклеотидийн дөрвөн нийлэлт (overlapping) бүхий ПГУ-ын бүтээгдэхүүн байдлаар, харин NA ген нь нуклеотидээс үүссэн гурван нийлэлт бүхий ампликоноор тус тус олширно. Амфликон бүр нь 400 – 600 хос суурийн урттай. Адууны томууны H3N8 вируст өвөрмөц ПГУ-ын праймеруудын 5' төгсгөлд M13 хөтлөх эсхүл буцаах праймерийн дараалал байдаг учраас генийн дараалал тогтоох дараагийн урвалыг хялбар болгож өгнө. Доорх аргын заавар нь ерөнхий шинжтэй тул түүнийг янз бүрийн энзим, хэрэглэх цомогтоо тохируулах хэрэгцээ гарч магадгүй юм.

1.5.2. Хамжаа ДНХ-ийн нийлэгжилт

Хамжаа ДНХ нь вирусийн РНХ-ээс (дээрх аргаар ялгасан) урвуу транскрипцээр нийлэгжинэ. Урвуу транскриптаза энзимийг үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу хэрэглэнэ. Нэгдүгээрт: өөрчилсөн UNI-12 праймер (5'-AGT-AGC-RAA-AGC- AGG-3', эцсийн төвшрүүлэг 1 μM), 7 мкл устай 70°С орчинд 4 мкл РНХ-г 10 минут байлгаж денатурацид оруулна (мөсөөр хөргөхийн өмнө). Дараа нь dNTP холимог (эцсийн төвшрүүлэг dNTP тус бүр 0.5 μM), DTT (10 mM эцсийн төвшрүүлэг), 1 × урвалын буфер ба 200U урвуу транскриптаза энзимийг урвалын эцсийн эзлэхүүн 20 мкл рүү нэмнэ. Урвалыг 42°С-д 1 цаг тавьсны дараа 65°С-д 20 минут байлгаж идэвхгүйжүүлнэ. Урвуу транскрицийн хяналт болгон РНХ-г усаар орлуулна.

1.5.3. ГА болон НА генийн хэрчмийг ПГУ-аар олшруулах

ПГУ-аар ГА ба НА генийн хэсгийг олшруулахад өндөр цэвэршилттэй ДНХ полимераза энзим ашиглана. ПГУ-ын 50 мкл орчин нь 2-р хүснэгтэд зааснаар 2 мкл х ДНХ, dNTP холимог (dNTP тус бүр 0.2 μM), 1 × урвалын буфер, 1U ДНХ полимераза, ус, хос праймераас (0.2 μM тус бүрийн эцсийн төвшрүүлэг) бүрдэнэ.

Дулаан сэлгэлтийн дараах нийтлэг нөхцөлийг хэрэглэж байгаа ДНХ полимеразагаас хамааруулан тохируулах шаардлага гарна: эхний денатурац 98°С-д 30 секунд, дараа нь 98°С-д 10 секундээр 30 мөчлөг, 50°С-д 30 секунд, 72°С-д 30 секунд, төгсгөлд нь сүүлийн уртасгалт 72°С-д 2 минут байна. Хос праймер тутамд сөрөг хяналтыг оруулах ба үүний тулд хДНХ-г урвуу транскрицийн сөрөг хяналтын бүтээгдэхүүнээр орлуулна.

Хүснэгт 2. Дараалал тогтооход зориулан адууны томууны H3N8 вирусийн ГА ба НА генийн хэсгийг ПГУ-аар олшруулах праймерийн дараалал

Праймер нэр	Праймерийн дараалал (5'–3')	Хамрах нуклеотид ойролцоогоор
HA/AF	GC-GTAAAACGACGGCCAGTAGCAAAAGCAGGGGACGATATT	1–515
HA/AR	GC-AACAGCTATGACCATGGATTTGTTAGCCAATTCAG	
HA/BF	GC-GTAAAACGACGGCCAGTCAGGTGTCACTCAAAACG	428–1032
HA/BR	GC-AACAGCTATGACCATGGGATTTGCTTTTCTGGTAC	
HA/CF	GC-GTAAAACGACGGCCAGTGGTTACATATGGAAAATGCC	939–1336
HA/CR	GC-AACAGCTATGACCATGGAGCCACCAGCAATTCT	
HA/DF	GC-GTAAAACGACGGCCAGTGAAGGAAGAATTCAGGA	1251–1733
HA/DR	GC-AACAGCTATGACCATG GAGTAGAAACAAGGGTGTTTTTAAC	
NA/AF	GC-GTAAAACGACGGCCAGTAGCAAAAGCAGGAGTTT	1–508
NA/AR	GC-AACAGCTATGACCATGGCCCTATTTTGACACTC	
NA/BF	GC-GTAAAACGACGGCCAGTCACACAGGGCTCATTAC	417–1049
NA/BR	GC-AACAGCTATGACCATGCCGAAACCTTTTACACCG	
NA/CF	GC-GTAAAACGACGGCCAGTCACAGTTGGATATTTGTG	951–1461
NA/CR	GC-AACAGCTATGACCATGAGTAGAAACAAGGAGTT	

ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг нуклеин хүчлийн будаг хольсон 0.8%-ийн агароз бүхий электрофорезд ачаалж илрүүлнэ. ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг худалдааны бэлэн цомог ашиглан эсхүл этанолоор тунадасжуулах аргаар цэвэршүүлнэ. ДНХ-ийн аль ч утаслагийн дараалал тодорхойлох ПГУ-ын бүтээгдэхүүн нэг бүрд дидеоксинуклеотидүүд болон М13 хөтлөх (5'-GTA-AAA-CGA-CGG-CCA-GT-3') болон буцаах (5'-AAC-AGC-TAT-GAC-CATG-3') праймер ашиглан нуклейтидийн дараалал тогтоох урвалыг явуулна. Эцсийн дарааллыг нуклеотидийн нийлэлт бүхий ампликонуудаас угсран тогтоох ба праймерээс үүссэн нуклейтидийн аливаа дарааллыг хасаж болно.

Өсгөврийн генетикийн дарааллыг ПГУ-ын тусламжтайгаар тогтоож болох боловч шинээр ялгасан вирусийн эсрэгтөрөгчийн шинж чанар болон хээрийн нөхцөлд явагддаг эсрэгтөрөгчийн аажим хувьслыг тогтоохын тулд халдвартай вирусийг ялгаж авах нь ач холбогдолтой хэвээр байх болно.

2. Ийлдэс судлалын арга

Ийлдэсний хос дээж шинжилж өвөрмөц эсрэгбиеийн нэмэгдэлтийг харуулж томуу өвчний халдварыг илрүүлнэ. Энэ шинжилгээг вирус ялгах ажил хийсэн эсэхээс үл хамааран хийнэ. Эдгээр арга найдвартайн дээр вирус ялгах шаардлагагүйгээр дээж эерэг урвалтай болохыг баталгаажуулна. ЦНСУ болон цус задралын бүслүүр үүсгэх арга (ЦЗБҮ) гэсэн өргөн хэрэглэгддэг, хялбар хоёр арга бий. Томуу өвчний вирусийн нуклеопротеиний эсрэгбие илрүүлэх ЕЛИЗА аргыг хэдийгээр өргөн хэрэглэдэггүй ч найдвартай, бас олон тооны дээж шинжлэхэд ач холбогдолтой арга юм (Galvin нар, 2013, Kittleberger нар, 2011, Sergeant нар, 2011). Хавсарга холбох урвал (ХХУ)-ыг ашиглах боломжтой ч өргөн хэрэглэгддэггүй. Ийлдсийн хос дээжийг, жишээ нь амьтнаас цочмог өвчтэй үед нь болон эдгэрсэн хойно нь авсан ийлдсийг хамт шинжлэх ба ингэх нь янз бүрийн хугацаанд хийсэн шинжилгээнд гарч болох хэлбэлзлийг багасгана. Стандарт эсрэгтөрөгчийг дээр тодорхойлов (Б.1.3 дахь хэсэг). Боломжтой бол томуу өвчний саяхны дэгдэлтийн өсгөврийг хамруулна. A/eq/Newmarket/77 (H7N7), A/eq/Newmarket/1/93 (American lineage H3N8), A/eq/Newmarket/2/93 (Европын шугам H3N8), A/eq/South Africa/4/03 (Флорида бүлэг 1, Америк шугамын дэд шугам), A/eq/Richmond/07 (Флорида бүлэг 2, Америк

шугамын дэд шугам)-ын халдвар авсны дараа адуунаас цуглуулсан хөлдөөн хатаасан ийлдэс болон томуу өвчнөөр сөрөг адууны ийлдэс Европын холбооны Эмийн чанарын байгууллага (EDQM)-д[1] бий. Эдгээр ийлдсэнд цус задралын бүслүүр үүсгэх утгыг олон улсын хамтын ажиллагааны шугамаар тогтоосон ба шинжилгээнд эн тэргүүний стандартаар хэрэглэж болно (Daly нар, 2007; Mumford, 2000).

2.1. Цус наалдалтыг саатуулах урвал

Урвалын мэдрэх чанарыг дээшлүүлэхийн тулд, ялангуяа H3N8 шинжлэхэд эхлээд эсрэгтөрөгчийг Твин 80/эфирээр боловсруулна. Мэдрэх чанар нь буурдаг ч ЦНСУ-ыг эфирээр боловсруулалгүйгээр тавьж болно. Урвал тавихдаа бичил таньцын хавтанд шингэлэлт хийхэд тохирсон хэрэгсэл ашиглах нь илүү зохистой. Гемаглютининий эцсийн таньц үүр бүрд 1/8 байхаар тооцож эсрэгтөрөгчийг шингэлээд ФБУ, ийлдэс, эсрэгтөрөгчөөс тус бүр 0.5 мл-ийг авч урвалыг том эзлэхүүнд тавьж болно. Ийлдсийг урьдчилан боловсруулж өвөрмөц бус гемаглютининийг арилгасны дараа 56°C-д 30 минут идэвхгүйжүүлнэ. Дараах аль нэг арга хэрэглэн урьдчилан боловсруулалт хийнэ: (a) цагаан шавар, цусны улаан эс шингээгч, H7N7 ЦНСУ-д хэрэглэхгүй, (b) калийн периодат, эсхүл (c) *Vibrio cholerae* рецептор задлагч энзим. Боловсруулалтад калийн периодат эсхүл *Vibrio cholerae* рецептор задлагч энзимийг илүүтэй ашигладаг. Боловсруулсан ийлдсийг ФБУ-аар шингэлээд эсрэгтөрөгчийн стандарт тунг нэмж (бичил таньцын хавтангийн үүр бүрд ГА таньц нь 1/4) тэдгээрийг тасалгааны хэмд (23°C ±2°C) 30 минут байлгана. Аяархан холиод цусны улаан эс (ЦУЭ) нэмж урвалын дүнг 30 минутын дараа уншина. Наалдалтыг бүрэн саатуулсан ийлдсийн хамгийн өндөр шингэлэлт нь цус наалдалтыг саатуулах таньц болно. V-ёроолтой бичил таньцын хавтанд тахианы ЦУЭ (1% [э/э] тунасан эс) эсхүл V- эсхүл U- ёроолтой бичил таньцынхавтанд усан гахайн ЦУЭ (0.5 % [э/э] тунасан эс) хэрэглэнэ. Хэрэв тахианы ЦУЭ хэрэглэж байгаа бол хавтанг 70 градусаар хазайлган наалдаагүй эсийг үүрний ёроол руу “урсган” урвалыг уншина. Усан гахайн наалдаагүй эс үүрний ёроолд товч хэлбэртэй харагдах ба бүрэн сууж өгтлөө удна. Цус наалдалтыг саатуулах таньц нь наалдалтыг бүрэн саатуулж байгаа хамгийн их шингэлэлтийн эсрэг утга юм. Эдүгээ эерэг дээжийн босго утгыг ЦНСУ-д тогтоогоогүй байгаа учир нам таньцтай дээжийг лавшруулан шинжлэх хэрэгтэй. Тодорхой хугацааны зайтай авч шинжилсэн хоёрдох ийлдэсний таньц дөрөв дахин эсхүл түүнээс илүү нэмэгдэх нь халдвар аваад удаагүй болохыг илтгэнэ.

2.1.1. Вирусийг Твин 80/эфирээр боловсруулах

i) Халдвартай аллантоисын 39.5 мл шингэн дээр ФБУ-д уусгасан Твин 80-ын 10%-ийн цийдмэгээс 0.5 мл нэмж Твин 80-ын төвшрүүлгийг 0.125% (э/э) болгоно.

ii) Тасалгааны хэмд 5 минут алгуурхан хольсны дараа диэтилийн эфирээс 20 мл нэмж эзлэхүүний 33.3% эцсийн төвшрүүлэгтэй болгоод цийдмэгийг 4°C-д 15 минут холино.

iii) Хөдөлгөөнгүй байлгаж үе тогтоосны дараа вирусийн задармал өчүүхэн хэсгийг агуулж байгаа усархаг үеийг авч холхимдог таглаатай шилэн саванд хийж илүүдэл эфирийг хонуут ууршуулна (John & Fulginiti, 1966). Эфиртэй ажиллахдаа аюулгүй ажиллагааг хатуу мөрдөж шинжилгээг татах шүүгээнд үргэлжлүүлнэ.

iv) Боловсруулсан вируст материалыг жижиглэн тасалж хуваагаад –70°C-д хадгална.

2.1.2. Цус наалдалтыг таньцлах

i) Бичил таньцын хавтангийн мөрний бүх үүрэнд 25 мкл ФБУ нэмнэ.

ii) Эхний үүрэнд 25 мкл вирус нэмж түүнээсээ хойш хавтангийн бүх үүрэнд хоёр дахин дараалсан шингэлэлт хийх ба харин сөрөг хяналт хийх хамгийн сүүлийн үүрийг үлдээнэ.

iii) Бүх үүрэнд дахин 25 мкл ФБУ нэмнэ.

iv) Бүх үүрэнд ЦУЭ 50 мкл нэмнэ. Тасалгааны хэмд эсхүл 4°C-д (ялангуяа орчны температур өндөр байвал) 30 минут байлгана. Цус наалдалтын таньц нь цус наалдалт хэсэгчлэн үүсгэж байгаа вирусийн сүүлийн шингэлэлт болно.

[1] Удирдах төв: Франц улс, Страсбург хот, Кастнерийн өргөн чөлөө, CS 30026, F-67081, EDQM – Европ дахь төлөөлөгчийн газар

2.1.3. Ийлдсийг калийн периодатаар боловсруулах

i) Нэг эзлэхүүн (150 мкл) ийлдсийг хоёр эзлэхүүн (300 мкл) шинэхэн бэлтгэсэн 0.016 М калийн периодаттай (100 мл ФБУ-д 0.38 г) холиод 22°C (± 2°C)-д 15 минут тавина.

ii) Периодатын илүүдлийг саармагжуулахаар ФБУ-д уусгасан 3%-ийн нэг эзлэхүүн глицеринийг нэмж хольсны дараа тасалгааны хэмд (23°C ± 2°C) 15 минут тавина.

iii) Усан халаагуурт 56°C-д 30 минут тавьж идэвхгүйжүүлнэ.

2.1.4. Шинжлэх аргачлал

ii) Бичил таньцын хавтангийн бүх үүрэнд 25 мкл ФБУ хийнэ.

iii) 12 дугаар мөрний эхний үүрэнд (25 мкл) ийлдэс нэмээд түүнээсээ хоёр дахин (1/8 -аас наад зах нь 1/512 хүртэл шингэлэлт хийж ийлдсийн боловсруулалтын ¼ шингэлэлт хийх боломжтой болно) дараалсан шингэлэлт хийх ба харин хяналт хийх сүүлийн үүрийг үлдээнэ.

iv) Эсрэгтөрөгчийг шингэлж 4 НА нэгж бүхий тунг үүсгэнэ (4х хамгийн бага наалдуулах тун, өөрөөр хэлбэл таньц/4).

v) Үүр бүрд 25 мкл нэмж тасалгааны хэмд 22°C ± 2°C) 30 минут байлгана.

vi) Үүр бүрд 50 мкл ЦУЭ нэмнэ. Тасалгааны хэмд эсхүл 4°C-д (ялангуяа орчны температур өндөр байвал) 30 минут байлгана.

vii) Хавтанг 70 градусаар хазайлган наалдаагүй эсийг үүрний ёроол руу “урсган” урвалыг уншина. Наалдалт үүсээгүй бол үр дүнг эерэг гэж үзэж тэмдэглэнэ.

2.2. Цус задралын бүслүүр - цагариг үүсгэх арга

Цус задралын бүслүүр үүсгэх энэ арга нь вирусийн эсрэгтөрөгчийг усан гахайн хавсарга (С’) бүхий агарозод тархсан цусны бэхэлмэл улаан эстэй холбох арга юм. Шинжлэх ийлдсийг агарозод гаргасан үүрнүүдэд хийнэ. Томуу өвчний вирус болон хавсарга нь эсрэгтөрөгчөөр бүрсэн ЦУЭ-ийг хайлуулсны үр дүнд үүрний эргэн тойронд цус задралын тод бүслүүр үүсгэх ба бүсийн хэмжээ нь ийлдэсний дээж дэх тухайн омогт өвөрмөц эсрэгбиеийн түвшинтэй шууд хамааралтай байна (Morley нар, 1995).

Шинжилгээнд дархлааны тунадасжих урвалын тусгай хавтан (МР Биомедикал) ашиглаж болох ба Петрийн энгийн аяга ч тохирно. Алсеверийн шингэнд тосож авсан хонины улаан эсийг гурван удаа угаана. Хавсаргыг худалдан авч болох, эсхүл усан гахайн хэвийн ийлдэс ашиглаж болно. Вирусийн эсрэгтөрөгч нь өндгөнд өсгөвөрлөсөн эх материал эсхүл цэвэршүүлсэн бэлдмэл байх ба ЦНСУ-ынхтай ижилхэн омог хэрэглэнэ. Вирус нь ЦУЭ-тэй калийн периодат эсхүл хромын хлоридоор холбогдоно. Эсрэгтөрөгч/ЦУЭ-ийн холбогдсон бэлдмэлийг хавсаргатай, мөн ФБУ-д уусгасан агарозын (хайлах зэрэглэл багатай) 1%-ийн уусмалтай хамт холино. Температурыг аль ч үед 42°C-аас хэтрүүлэхгүй байх нөхцөлийг хангана. Холимгийг хавтанд юүлээд агарозыг биежтэл хүлээнэ. Биежиж хатуурсан агарозод хавтангийн захаас наад зах нь 6 мм дотогш, хоорондоо 12 мм зайтай, 3 мм голчтой үүр ухаж гаргана. Ийм хавтанг 4°C-д 12 долоо хоног хадгалж болно. Эсрэгтөрөгч бүрд тусдаа хавтан бэлтгэнэ.

Ийлдсийг 56°C-д 30 минут идэвхгүйжүүлэх ба үүнээс хойш боловсруулалт хийхгүй. Хос ийлдсийг нэг хавтан дээр шинжилнэ. Хамгийн багадаа дэд хэвшилд өвөрмөц эсрэг нэг ийлдсийг хяналтын ийлдэс болгон хавтан тус бүрд оруулан шинжилнэ. Өвөрмөц бус задралыг шалгах вирусээс бусад бүх бүрэлдэхүүн хэсгийг агуулсан хяналтын хавтанд бүх ийлдсийг шинжилнэ. Хяналтын хавтанд A/PR/8/34 (H1N1) зэрэг үл хамаарах вирус ашиглах өөр хувилбар бий. Хонины ЦУЭ-д цус задлах идэвх үзүүлсэн ийлдсийг хонины ЦУЭ-д урьдчилан шингээнэ. Задралын бүс нь тод бөгөөд сарнимал, бүүдгэр бус байна. Бүх тод бүсийг хэмжиж цус задралын талбайг тооцож гаргана.

2.2.1. Урвалж бэлтгэх

i) *Физиологийн уусмал/HEPES:* 0.85% NaCl (4.25 г/500 мл); 0.05 М HEPES (5.95 г/500 мл); 0.02% натрийн азид. NaOH-аар pH-ыг 6.5 болгоно.

ii) *Физиологийн уусмал/HEPES/УИА*: 0.2% (ж/э) үхрийн ийлдэсний глобулин (УИА) агуулсан физиологийн уусмал/HEPES

iii) *CrCl3 нөөц уусмал* (*2.25 М*) *6 г/10 мл:* Хийх шинжилгээ бүрдээ 0.85% NaCl-д 1/400 шингэлэлтээр шинээр бэлтгэнэ.

iv) *ФБУ 'А':* NaCl (10.00 г); KCl (0.25 г); Na_2PO_4 (1.45 г); KH_2PO_4 (0.25 г), натрийн азид (0.20 г)-ийг нэрмэл усаар 1 литр болтол бэлтгэнэ.

v) *ФБУ-д агароз бэлтгэх:* ФБУ 'А'-г хийсэн колбыг зайлагч дээр тавина. Зайлж байгаа шингэнд 10 г агароз алгуурхан нэмнэ. Даралттай саванд чанаж шингэрүүлнэ. 22°C (± 2°C)-д хадгалах шилэн савнуудад хуваж хийнэ.

vi) .*Вирусийн эсрэгтөрөгч:* халдвартай вирус агуулсан аллантоисын шингэнийг хурааж аваад –70°C-д хадгална. Хонины цусны мэдрэгжүүлсэн улаан эс бэлтгэхэд хэрэглэх вирусийн эсрэгтөрөгчийн ЦУЭ-д хамгийн тохиромжтой байх харьцааг таньцлалтын богино муруйгаар тодорхойлно. Томууны H7N7 вирусийн омог ямагт тод бүс үүсгэдэг бол H3N8 омог зарим үед бүүдгэр бүслүүр үүсгэх ба ийм тохиолдолд хурилдуурдах замаар вирусийг өтгөрүүлэх шаардлагатай.

vii) *Хонины цус*: цус авч түүнтэй ижил хэмжээний Алсеверийн шингэнд хийгээд 4°C-д хадгална. ЦУЭ-ийн шинж чанар хонь бүрд адилгүй учраас хэд хэдэн хониноос цус авч шинжлэх шаардлагатай. Цусыг хэрэглэхийн өмнө 2 хоног байлгах ба түүнээс хойш 3 долоо хоногийн хугацаанд хэрэв цусыг ариун байлгаж чадвал ашиглаад байх боломжтой.

viii) *Хавсарга:* Худалдаанд байдаг усан гахайн хавсарга эсхүл 300-350 г амьдын жинтэй, залуу усан гахайнаас ийлдэс авч жижиг эзлэхүүнтэй болгож хуваагаад –70°C.-д хадгална. Хэрэглэхдээ эхлээд хүйтэн усанд сойж гэсгээгээд холихын өмнө 4°C-д байлгана.

ix) *Ийлдэс боловсруулах:* Шингэлээгүй ийлдсийг 56°C-д 30 минут идэвхгүйжүүлнэ. Олон дахин хөлдөөж гэсгээгээд байж болохгүй.

2.2.2. Шинжлэх аргачлал

i) Хонины ЦУЭ-ийг физиологийн уусмал/HEPES -ээр гурваас доошгүй удаа угаана.

ii) Эхлээд шаардагдах тооны хавтанг тооцоод нэг дархлааны урвалын 6 × 11 см хавтан тус бүрд 1 мл, үүн дээр 1-2 мл-ийг нэмээд нийт шаардагдах эзлэхүүнээр 8%-ийн ЦУЭ-ийг физиологийн уусмал/HEPES -д бэлтгэнэ.

iii) 8%-ийн ЦУЭ-ийн уусмалд вирусийн эсрэгтөрөгчийг урьдчилж тогтоосон эзлэхүүнээр[2] нэмээд 4°C-д 10 минут тавина. Цус наалдалт ажиглагдаж болно.

iv) Вирус/улаан эсийн цийдмэгийн нийт эзлэхүүний хагаст нь CrCl3 (0.85% NaCl- д 1/400 харьцаагаар)-ыг аажуухан нэмнэ. 22°C (±2°C) хэмд хаяа нэг зайлаад 5 минут байлгана.

v) Мэдрэгжсэн ЦУЭ-ийг 1500 *g*-д 5 минут хурилдуурдаж суулгана.

vi) Физиологийн уусмал/HEPES/УИА-аар болгоомжтой уусган сэргээгээд 1500 *g*-д 5 минут хурилдуурдана.

vii) ФБУ 'А'-д бэлтгэсэн 8%-ийн цийдмэгт ЦУЭ-ийг уусган сэргээнэ.

Мэдрэгжүүлэх явцад агароз хайлна. Хэрэглэхийн өмнө 7.8 мл-ийг сорууруар авч эргэдэг тагтай шилэн лонхонд хийгээд 42°C-д байлгана. Хэрэглэхийн өмнө агар 42°C-оос доош буутал хөрсөн эсэхийг шалгана.

2.2.3. Хавтан бэлтгэх

i) Вирусээр мэдрэгжсэн хонины ЦУЭ-ээс 0.9 мл-ийг 7.8 мл агарозд (42°C) нэмнэ. Түргэн мөртөө болгоомжтой холино.

ii) Усан гахайн шингэлээгүй ийлдэс 0.3 мл нэмнэ. Дахин холиод агар цутгалтын ширээн дээрх дархлааны урвалын хавтанд хийнэ. Хэсэг байлгаад таггүйгээр агаарт 5 минут хатаана.

iii) Хавтанг таглаад хэрэглэх хүртлээ чийгээ барьдаг саванд 4°C-д хадгална.

iv) Мэдрэгжүүлээгүй эстэй эсхүл томууд хамааралгүй вирусээр мэдрэгжүүлсэн эстэй хяналтын хавтан бэлтгэнэ. Бэлтгэсэн хавтангийн багцыг хэдэн долоо хоног хадгалж болно.

[2] 2 мл цусны улаан эс дээр 0.6, 1.2 эсхүл 1.8 мл вирусийн эсрэгтөрөгч нэмсэн гурван хавтан бэлтгэнэ. CrCl3-ыг 1.3, 1.6, 1.9 мл-ээр тус тус нэмж ФБУ "А"-д 2 мл хүртэл уусган сэргээнэ. Холбогдох лавлагааны ийлдэстэй хамгийн том бөгөөд тод бүс үүсгэсэн вирусийн эсрэгтөрөгчийн эзлэхүүнийг хамгийн зохистойд тооцно.

v) Шинжлэх 16 ийлдэс, эерэг хяналтын ийлдэс шинжлэхээр бэлтгэсэн үлгэр ашиглан 3 мм голчтой үүрийг биежсэн гельд гаргана. Эсрэгтөрөгчийн хяналтын хавтан дээр найман үүр бүхий 5 мөр үүр гаргана.

vi) Дулаанаар идэвхгүйжүүлсэн (56°C-д 30 минут) шинжлэх ийлдэс болон эерэг хяналтын ийлдсээс 10 мл-ийг сорууpаар авч тохирох үүрэнд хийнэ. Чийгээ барьдаг хайрцагт 34°C-д 20 цаг байлгана.

vii) Үүссэн бүсүүдийн голчийг хэмжиж үүрний эзлэх талбайг хасаад цус задралын талбайг тооцож гаргана.

2.2.4. Үр дүнг үнэлэх

Эерэг ба сөрөг хяналтын ийлдэс олон улсын хамтын судалгаагаар тогтоосон үр дүнг өгч байвал уг урвалын үр дүнг баталгаатай гэж үзэх ба (Daly нар, 2007; Mumford, 2000) хэрэв олон улсын эдгээр стандартыг хэрэглээгүй бол өмнөх туршлагадаа суурилан тоймлосон гарах үр дүнд нийцэж байх ёстой. Хяналтын ийлдэсний цус задралын бүс тод, хяналтын ийлдсийг лабораторид дотроо шинжлэхэд гарсан үр дүнгийн хэлбэлзэл 5%-иас хэтрэхгүй байх ёстой. Үр дүнг мм^2-аар эсхүл хяналтын ийлдсийн үзүүлсэн утгатай харьцуулах замаар гаргана. Хяналтын хавтанд эерэг үр дүн үзүүлсэн ийлдсийг хонины улаан эсэд шингээж шинжилнэ. Оношилгооны зорилготой шинжилгээ хийж байгаа бол өвчний цочмог үеийн болон өвчлөөд өнгөрсөн үеийн ийлдсийг нэг хавтанд аль алийг хосоор нь шинжилж харьцуулж үзнэ. Өвчлөөд эдгэрсэн үеийн ийлдэсний үүсгэсэн цус задралын бүсийн талбайн хэмжээ өвчний цочмог үеийн ийлдэснийхээс томорсон бол халдвартай байгаагийн нотолгоо болно. Тухайн лабораторид нэг төрлийн шинжилгээг дахин хийхэд үр дүн нь сайн давтагддаг буюу үр дүнгийн тохирцоос хамааpч цус задралын бүсийн талбай 25 мм^2 эсхүл талбайн хэмжээ 50% томрохын аль нь бага эсэхээс үл хамааран ач холбогдолтой үр дүнд тооцогдох ба томролт нь эсрэгбиеийн төвшрүүлгийг хоёр дахин эсхүл түүнээс илүү ихэсгэсэнтэй тэнцүү утгатай байх ёстой. Дараалан шингэлсэн стандарт эсрэг ийлдэс ашиглан байгуулсан стандартын муруйгаар тайлбайн хэмжээг тооцоолж гаргана.

2.3. Өрсөлдөөнт/саатуулагч ЕЛИЗА

Томуу өвчний вирусийн нуклеопротеин, тунхууны пероксидазатай коньюгаталсан нуклеопротеиний эсрэг ижил гарлын эсрэгбиед суурилсан өрсөлдөөнт/саатуулагч хэд хэдэн ЕЛИЗА аргыг боловсруулсан байна. Анхлан шувууны томуу өвчинд зориулан боловсруулсан, олж хэрэглэхэд хялбар дөрвөн ЕЛИЗА цомогт үнэлгээ хийхэд адууны А хүрээний томуу өвчний вирусийн эсрэгбиеийг илрүүлэхэд үр дүнтэй байгаа нь харагджээ (Kittleberger нар, 2011). Шинжилгээ хийх бүрдээ түүнд тохирсон тусгай арга зүйг мөрдөнө.

B. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

1. Удиртгал

1.1. Үндэслэл, бүтээгдэхүүний хэрэглэх зориулалт

Адууны томуу өвчин нь өөрөө аяндаа эдгэрдэг өвчин бөгөөд уг өвчний вирус хавьтлаар дамждаг учраас түүний эдийн засгийн хор холбогдол нь юуны өмнө адуутай холбоотой үйл ажиллагаа тасалдагддагт оршино. Адууны томуу өвчинтэй тэмцэх гол арга нь шуурхай оношилгоо, шилжилт хөдөлгөөний хязгаарлалт, вакцинжуулалт юм. Вакцинжуулснаар өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдгийн илрэл болон вирусийн тархалт багасна. Адууны томуу өвчний вакцин хаа сайгүй элбэг бөгөөд Европ, Америк, Азид уралдааны адуунд тогтмол хэрэглэдэг. Зарим улсад адууны уралдаан зохиох байгууллагын дүрэм журмын дагуу тэмцээнд оролцох спортын адуу, уралдааны адууг заавал вакцинжуулдаг. Эхний вакцинаас хойш 1 сар ба 6 сарын дараа олгох эхний гурван удаагийн тунгаас хойш жил бүр сэргээх тун тарих нь вакцинжуулалтын наад захын шаардлага юм. Өсвөр адууг илүү олон вакцинжуулахыг зөвлөдөг ба адууны уралдаан зохион байгуулдаг зарим байгууллагын шаардлагаар сэргээх тунг хоёр жил тутамд тарьдаг.

Адууны томуу өвчний вируст вакцин нь идэвхгүйжүүлсэн бүтэн вирус эсхүл тэдгээрийн гликопротеиний дэд нэгжээс тогтох ба зарим нь хүчлүүртэй зарим нь үгүй байна. Зарим улсад сулруулсан амьд вакцин болон канари шувууны цэцэгийн вируст суурилсан векторт

вакцин худалдаанд гараад байна. Идэвхгүйжүүлсэн вакциныг булчинд тарьж олгоход үүсэх дархлаа нь ГА-ний эсрэг цусаар эргэлдэх вирус саармагжуулдаг эсрэгбиеийн үүсэлтийг идэвхжүүлэхээс хамаарах ба зарим бүтээгдэхүүний тухайд амьсгалын эрхтний шүүрэл дэх эсрэгбиеийг өдөөж өгдөг байна. Вакцин идэвхгүйжүүлэх явцдаа ГА-ны нэгдмэл байдал, бүтцийг адагдуулахгүй байх нь шаардагдах хэмжээний саармагжуулах эсрэгбиеийн үүсэлтийг уг вакцинаар өдөөхөд онцгой ач холбогдолтой. Үүнийг ГА-ний эсрэг үүссэн өвөрмөц эсрэгбиетэй урвалд орох дархлааны идэвхтэй ГА-ыг хэмждэг дан бүслүүр нэвчүүлэн үүсгэх (ДБНҮ) зэрэг дархлаа судлалын аргаар шалгана. Вакцины дархлаа төрүүлэх идэвхийг цөөхөн амьтны загвар бүлэг эсхүл зорилтот зүйлийн амьтанд идэвхжсэн ГА эсрэгбиеийг хэмжих замаар баталгаажуулна. Адууны томуу өвчний хэд хэдэн вакцин, үүний дотор идэвхгүйжүүлсэн бүтэн вирионт вакцин, дэд нэгжийн вакцин, канарын шувууны цэцэгийн вектор вакцин нь эсэвэр дамжих дархлаа төрүүлэх боломжтой (Gildea нар, 2013b).

Томууны вирусийн ГА-г кодлогч ген агуулах амьд вируст вектор вакцины дархлаа төрүүлэх идэвхийг ДБНҮ аргаар тогтоож чадахгүй. Энэ аргын оронд вакцины идэвхийг *in-vitro* нөхцөлд шалгахад рекомбинантын халдварлах таньцыг ашигладаг ба вакцин хэрэглэж болох заалттай амьтанд үүссэн эсрэгбиеийг хэмжих замаар дархлаа төрүүлэх чанарыг үнэлнэ.

Идэвхгүйжүүлсэн бүтэн вирионт вакцин, дэд нэгжийн вакцин, канарын шувууны цэцэгийн вектор вакцинаар бий болсон ГА-ий эсрэгбиеийн түвшин томуу өвчний туршилтын халдвараас хамгаалах түвшинтэй сайтар шүтэлцээтэй байгааг ЦЗБҮ аргаар тодорхойлсон байна (Edlund Toulemonde нар, 2005; Mumford, 1983; 1994). Үүний эсрэгээр, хүйтэнд дасгаж температурт мэдрэг болгон ондоошуулсан омгийг сулруулсан амьд вакцин болгон хэрэглэхэд амьсгалын дээд замд үржихдээ ГА-ий цусаар эргэлдэх эсрэгбиеийг өндөр түвшинд өдөөхгүй боловч туршилтын халдвараас хамгаалдаг байна. Дархлаа нь цусаар эргэлдэх эсрэгбиеэс илүүтэй салстын эсхүл эсийн хариу урвалаар илэрдэг гэж таамагладаг. Вектор вакцины адилаар үйл ажиллагааны явцын хяналтын шалгалт нь халдвартай вирусийн таньцыг тогтооход тулгуурлана.

Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зааварчилгааг 1.1.8 *Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зарчим* бүлэгт оруулав. Үйлдвэрлэгч Европын фармакофей, АНУ-ын ХААЯ, тухайн улсын болон бүс нутгийн шаардлагыг хангах үүрэгтэй учраас энэ хэсэгт болон 1.1.8 дугаар бүлэгт оруулсан зааварчилгаа нь ерөнхий агуулгатай болно.

Адууны томууны эсрэг вакцин нь эпидемиологийн ач холбогдол бүхий омог агуулж байх ёстой.

1995 оноос эхлэн адууны томуу өвчний дэлхий дахины тандалтын албан ёсны хөтөлбөр хэрэгжиж байна. ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори, хамтран ажиллагч бусад байгууллага адууны томуу өвчний дэгдэлтийн болон омгийн хувилбарын талаарх мэдээллийг цуглуулж ДМАЭМБ болон ДЭМБ-ын төлөөллийг оролцуулсан тандалтын экспертийг бүлэг (ESP) жил бүр нягтлан хянаж байна. Экспертийн бүлгээс вакциныг шинэчлэх шаардлагын талаар боловсруулсан зөвлөмжийг ДМАЭМБ-ын Мэдээллийн сонин эсхүл ДМАЭМБ-ын веб хуудсанд жил бүр нийтэлдэг. Адууны томуу өвчний вакциныг шинэчлэх шалгуур нь хүний томууны вакцинд тавьдаг шалгууртай адилхан бөгөөд эсрэгтөрөгчийн өөрчлөлт, генетик өөрчлөлтөд хийсэн дүн шинжилгээ, боломжтой бол нэмээд зориудын халдвараас хамгаалах чадварыг нь тогтоосон дүнг үндэслэх хэрэгтэй. *H7N7:* Олон вакцинд одоо хүртэл H7N7 омгийг оруулдаг. Гэвч сүүлийн 30 жилд энэ дэд хэвшлээр халдвар гараагүй учраас түүнийг вакцинд оруулахгүй байхыг тандалтын экспертийн бүлэг зөвлөсөн байна. *H3N8:* H3N8 вирусийн эсрэгтөрөгчийн болон генетик хувилбарууд хамтдаа эргэлдэж байгаа ба ДМАЭМБ-ын тандалтын экспертийг бүлгийн зөвлөснөөр эпидемиологийн хувьд холбогдолтой байгаа омог эсхүл омгуудыг вакцинд оруулах нь ач холбогдолтой. Вакцинд тохирох омог сонгоход ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториуд туслах боломжтой.

2. Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны тодорхойлолт, ердийн вакцинд тавих наад захын шаардлага

2.1. Эх омгийн шинж чанар

2.1.1. Биологийн шинж чанар

Вакцинд сонгосон омог тус бүрийг вакцины омог болж чадах эсэхийг тогтоох, өөрөөр хэлбэл цэвэршилт, аюулгүй чанарыг стандарт аргаар баталгаажуулахын тулд багцын туршилтын загвар цувралыг бэлтгэнэ. Эх омгийн бэлдэц нь өндөр таньц үзүүлэн өсгөвөрлөгдөх болон уг вакцин хэрэглэх зүйлийн амьтанд шингэний дархлаа хангалттай хэмжээгээр үүсгэхэд шаардагдах эсрэгтөрөгчийн масс өгөх чадвартай эсэхийг баталгаажуулна. Үүнээс гадна, MDCK эсэд өсгөвөрлөсөн вакцины вирусийн

шинж чанарыг бүрэн тогтоож өсгөвөрлөх явцад эсрэгтөрөгчийн хувилбарууд үүсээгүй, иймд вакцины вирус нь цаашид анхны эх өсгөврийн төлөөлөл биш гэдгийг нотлон харуулна.

2.1.2. Чанарын шалгуур (ариун чанар, цэвэршилт, гадны зүйл агуулаагүй байх)

Вирусийн омгийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториос авах боломжтой (Газрын амьтны өвчний оношилгоо, вакцины гарын авлагын 4-р хэсэгт хүснэгтлэв). Вакцины омогт сонгон авсан омгийн гарал үүсэл, зорчуулалтын түүхийг тодорхой бичнэ. Омгийг 10 хоногийн настай тахианы хөврөлтэй өндөгний аллантойсын хөндийд эсхүл MDCK гэх мэт эсийн өсгөвөрт үржүүлнэ. Дээрх ажиллагааг омог тус бүрд тусад нь хийнэ. Вирусийн ургалтад ГА-ны урвалаар хяналт шинжилгээ хийнэ. Зорчуулсан вирусийг ийлдэс судлалын ЦНСУ эсхүл ЦЗБҮ эсхүл өвөрмөц праймер ашиглан ПГУ-аар ялгаж танина. Хэрэв вакцины вирусийг эсийн өсгөвөрт ургуулсан бол үндсэн эх омог болон ажлын эх омгийг бэлтгэх зорчуулалтын явцад вирусийн шинэ хувилбар сонгогдчихоогүй гэдгийг нотлохын тулд өмхий хүрэнгийн ийлдэс болон ижил гарлын эсрэгбие (ИГЭБ) ашиглан эсрэгтөрөгчийн судалгаа явуулна. Үндсэн эх болон ажлын эх омгийн вирусийг хэсэгчлэн хуваагаад гадны зүйл агуулаагүй болохыг шалгасны дараа хөлдөөн хатааж –20°C эсхүл –70°C-д хадгална. Хадгалалтын горимыг байнга тэмдэглэнэ.

Вакцины сонгосон омог тус бүрийн үндсэн эх омгийн бэлдцэд хийх нэг удаагийн боловсруулалтаар найрлагыг нь нэгэн жигд болгож, гадны зүйл агуулаагүйг тогтоож, шинж чанарыг бүрэн судална. Вакцины омгийн шинж чанарыг тогтоох ЦНСУ-д хэрэглэх эсрэг ийлдэс эсхүл ИГЭБ-ийг ДМАЭМБ, ДЭМБ-ын лавлах лабораториос авч болно.

Үндсэн эх омгоос гаргасан ажлын эх омог нэгэн жигд найрлагатай, гадны зүйлгүй, шинж чанар нь бүрэн судлагдсан байх ёстой. Ажлын эх омгийг хэсэгчлэн хуваагаад вакцин үйлдвэрлэхэд ашиглана.

Үндсэн эх болон ажлын эх омгийн бэлдцийг тусгайлан заасан эмгэг төрүүлэгчгүй өндөг эсхүл арга ядаж эрүүл сүргээс гаралтай өндгөнд бэлтгэнэ.

Вакцины вирусийг үржүүлэхэд MDCK эс ашиглаж байгаа бол үндсэн дамжмал эсийн өсгөвөр нь тогтвортой, шингэн азотод хадгалдаг, тухайн улсын хяналтын эрх бүхий байгууллагын зааварчилгааг баримтлан гадны зүйл агуулаагүй болохыг баталгаажуулна.

Эх омгийн вируст гадны зүйл, тэр дундаа микоплазм, адууны бусад вирусийг шаардлагатай аргаар, тухайлбал мэдрэмтгий эсийн өсгөвөрт халдвар хийх, эс эмгэгшүүлэх нөлөөг шалгах эсхүл эсрэгтөрөгч илрүүлэх флюоресцент эсрэгбие ашиглах аргаар шалгана.

Адуунд нийтлэг амьсгалын замын эмгэг төрүүлэгч, тухайлбал адууны херпесвирус 1, 2, 4, адууны пикорнавирус, адууны тараагуур судасны үрэвслийн вирус, адууны аденовирусийн халдвар байхгүй болохыг онцгойлон тогтооно.

Бактерийн халдвар байхгүйг жижиг амьтанд хийх ариун чанарын стандарт арга, хоруу чанарын шинжилгээгээр тогтооно.

2.2. Үйлдвэрлэх арга

2.2.1. Аргачлал

Шинж чанарыг нь баталгаажуулсан вакцины эх омгийн бэлдцэд тулгуурлан үйлдвэрлэл явуулна. Өндөг хэрэглэдэг бол эрүүл сүргээс гаралтай 9-11 хоногийн настай тахианы хөврөлтэй өндөгний аллатоисын хөндийд омог тус бүрийг тус тусад нь халдварлуулна. Өндгийг 2-3 өдөр зохих температурт байлгаад аллантоисын шингэнийг хурааж авна. Омог тус бүрийг тусад нь MDCK эсийн өсгөвөрт халдварлуулах өөр хувилбар бий. Омог тус бүрийн вирусийн цийдмэгийг тус тусад нь цуглуулж идэвхгүйжүүлнэ. Шаардлагатай бол цэвэршүүлнэ. Тохирох хүчлүүр, бичил биетний эсрэг хадгалааслагч бодис нэмнэ.

Өсгөврөөс хураан авч нийлүүлсэн нэг цэнт вирусийг бэлтгэснээсээ хойш удаалгүй, тухайн улсын хяналтын эрх бүхий байгууллагын зөвшөөрсөн аргаар идэвхгүйжүүлнэ. Формалин (37%-ийн формальдгид) эсхүл бетапролактин (2-оксетаноне) хэрэглэх бол эзлэхүүний төвшрүүлгийг 0.2%-иас хэтрүүлэхгүй. Хамгийн тохиромжтой нь нийлүүлсэн вируст материалыг 4°C-д байлгаж өсгөврөөс хурааж авснаасаа хойш 5 хоногийн дотор идэвхгүйжүүлнэ. Вакцины идэвхгүйжүүлсэн болохыг заавал нотлон харуулна. Тохиромжтой арга нь шингэлээгүй нэг цэнт цуглуулбараас болон 1/10 ба 1/100-аар шингэлсэн нэг цэнт цуглуулбараас 0.2 мл-ийг үр тогтсон бүлэг (бүлэг бүрд 10 өндөг) өндөгний аллантоисын хөндийд халдварлуулж өндгийг 33–37°C-д 3 хоног байлгана. Халдвар хийсэн тун бүрийн түвшинд 10 өндөгнөөс 8-аас доошгүй нь амьд үлдэх ёстой. Амьд үлдсэн өндөг тус бүрийн аллантоисын бүрхүүлээс 0.5 мл хурааж авна. Бүлэг бүрээс хурааж авсан шингэнийг нийлүүлээд гурван цуглуулбар бүрээс 0.2 мл-ийг авч үр тогтсон 10 өндөгтэй дараагийн бүлэгт шингэлэлгүйгээр халдвар хийнэ. Эдгээр шинэ бүлэг өндгөнд гемаглютининий идэвхийг тодорхойлохгүй. Өсгөвөрлөх явцад өндөгний 80%-нь амьд үлдэх шаардлагыг зарим улсад хангах боломжгүй байдаг ба ийм тохиолдолд тухайн улсын хяналтын эрх бүхий байгууллага шаардлагыг өөрчлөн хангаж болохуйцаар тогтоох хэрэгтэй. Идэвхгүйжүүлэхийн өмнө бактери болон мөөгөнцрийн бохирдолгүй болохыг тогтооход зориулж сорьц цуглуулна.

Нэг цэнт материалыг цэвэршүүлэхийн өмнө эсхүл хойно нь өндөр эргэлтийн хурилдуураар эсхүл тухайн улсын хяналтын эрх бүхий байгууллагын зөвшөөрсөн бусад тохирох аргаар өтгөрүүлж, цэвэршүүлж болно. Вирусийг хамгийн тохиромжтой нөхцөлд тухайлбал эсрэгтөрөгчийн шинж чанарыг хадгалах температурт өтгөрүүлэх, цэвэршүүлэх нь чухал ач холбогдолтой.

Тухайн улсын хяналтын эрх бүхий байгууллагын зөвшөөрсөн тахианы хөврөлтэй өндгөнд халдвар хийх аргаар нэг цэнт вирусийн материалыг шалгахад томуу өвчний амьд вирус агуулаагүй байх ёстой. MDCK дан үе эсэд халдвар хийх замаар идэвхгүйжүүлэлт хангалттай эсэхийг шалгах өөр хувилбар бий.

2.2.2. Субстрат, тэжээлт орчинд тавих шаардлага

Вакциныг тухайн улсын хяналтын эрх бүхий байгууллагын шаардлагыг хангасан өндөг эсхүл дамжмал эс ашиглан үйлдвэрлэнэ. Хэрэгжих боломжтой бол амьтны гаралтай бодисыг, тухайлбал ийлдэс, трипсинийг хамгийн бага хэмжээгээр хэрэглэнэ. Үйлдвэрлэлийн явцад хэрэглэх амьтны гаралтай бодисыг тохирох, баталгаатай ариутгал эсхүл идэвхгүйжүүлэлтэд оруулах эсхүл гадны элдэв зүйлгүйг шалгаж тогтооно.

2.2.3. Үйлдвэрлэлийн явцын шалгалт

Идэвхгүйжүүлэхийн өмнө болон хойно, өтгөрүүлэх, цэвэршүүлэхийн өмнө болон хойно тус тус үйлдвэрлэлийн явцын холбогдох шалгалтыг хийнэ.

Үйлдвэрлэлийн явцын шалгалтад: (а) вирусийн омгийг дүйн тогтоох (ЦНСУ-аар тогтооно); (б) ариун чанар, (в) вирусийн таньц, (г) гемаглютининий агууламж (тахианы улаан эсийн наалдуулах нэгж, дэгдээхэйн эсийн наалдалтаар), (д) дархлааны идэвх бүхий гемаглютинин (НБҮА) эсхүл иммун химийн тохирох бусад аргаар) орно.

2.2.4. Нэвчилтийн бүслүүр-цагариг үүсгэх арга (НБҮА)

НБҮА нь дархлаа төрүүлэх идэвхтэй ГА-ийг хэмжин мкг-аар илрүүлэх найдвартай арга бөгөөд хүний томуу өвчний вакцины дархлаа төрүүлэх идэвхийг шалгахад байнга хэрэглэж байна (Wood нар, 1983b).

Адууны томуу өвчний идэвхгүйжүүлсэн вакцины дархлаа төрүүлэх идэвх нь дархлаа төрүүлэх идэвхтэй гемаглютининээс хамаарна (Wood нар, 1983a).

ССА аргын мэдрэх чанар цусны улаан эстэй вирус наалдах чанарыг харуулдаг учраас вакцинд агуулагдах эсрэгтөрөгчийн агууламжийг энэ аргаар дангаар нь үнэлэх нь буруу байж болно. ССА аргаар тодорхойлсноос үзэхэд вирусийн задрал нь ГА агууламжийг илт ихэсгэж болзошгүй юм. ССА арга нь ГА-ны эсрэгтөрөгчийн

шинж чанарыг тодорхойлж чадахгүй. (ГА нь эсрэгбиеийг өдөөх боломжоо алдаж харин цусны улаан эсэд шаардах шинж чанараа хадгалж болно).

Адууны томуу өвчний ихэнх вакцин H3N8 дэд хэвшлийн хэд хэдэн хувилбарыг агуулж байдаг. Нэг ижил дэд хэвшлийн хоёр өөр өсгөвөр хооронд солбицох урвал явагдах учраас дээрх нөхцөлд эцсийн бүтээгдэхүүнээр вакцинжуулсан адуу эсхүл жижиг амьтнаас авсан цусанд ийлдсийн шинжилгээ хийгээд H3N8-ын нэг бүрэлдэхүүн хэсгийнх нь дархлаа төрүүлэх идэвхийг үнэлэх боломжгүй юм. Иймд вакцинд орох тус тусдаа бүрэлдэхүүн хэсгийн дархлаа төрүүлэх идэвхийг НБҮА зэрэг найдвартай арга хэрэглэн вакциныг идэвхгүйжүүлэхийн өмнө ба хойно болон хүчлүүрийг холих, найруулахын өмнө тогтоох нь чухал юм.

Вирусийн бэлдмэлийг ГА-ны агууламжийг нь тодорхой тохируулсан лавлагааны бэлдмэлтэй харьцуулж НБҮА аар шалгана. Тодорхой ГА-ны эсрэг өвөрмөц эсрэг ийлдэс агуулсан гель дундуур эсрэгтөрөгчийг нэвчүүлнэ. Гельд эсрэгбиетэй уулзаж тунадасжих хүртэл эсрэгтөрөгчийн нэвчсэн зай нь эсрэгтөрөгчийн бэлдмэл дэх гемаглютининий төвшрүүлэгтэй шууд хамааралтай байна.

НБҮА-д хэрэглэх стандарт урвалжуудыг ДЭМБ-ын Биологийн стандартын олон улсын лабораториос [3] авах боломжтой. Дараах H3N8 омогт хэрэглэх урвалж одоогоор бэлэн байна: A/eq/Miami/63, A/eq/Kentucky/81, A/eq/Newmarket/1/93 (Америк шугамын), A/eq/Newmarket/2/93 (Европ шугамын).

2.2.5. Эцсийн бүтээгдэхүүний цувралын шалгалт

i) Ариун чанар ба цэвэршилт

Мал эмнэлэгт хэрэглэх зориулалттай биологийн материалын ариун чанар ба бохирдолгүй болохыг тогтоох шалгалтыг 1.1.9. дүгээр бүлгээс үзэж болно.

ii) Аюулгүй чанар

а. Идэвхгүйжүүлсэн эсхүл дэд нэгжийн вакцины вирус халдварлах чанаргүй болохыг тахианы хөврөлтэй 10 өндгөнд хоёр удаа зорчуулалт хийж нотлон харуулна. Аллантойсын шингэн цус наалдуулах идэвхгүй байх ёстой.

б. Гурваас доошгүй адуу авч тус бүрийн булчинд вакциныг үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу тарих (хоёр өөр газар) ба түүнийг 2-4 долоо хоногийн дараа давтана. Эхний болон давтан тарьсан вакцины дараах 10 хоногт адуунд үзлэг ажиглалт хийнэ. Хэсэг газрын болон тогтолцооны хэвийн бус урвал илрэхгүй.

в. Хэрэв гүүнд хэрэглэх вакцин бол гүүнд вакцин хэрэглэхийг зөвлөдөг гурван сарын хугацааны дотор хоёроос доошгүй толгой хээлтэй гүүнд товлосон зайтайгаар хоёр тун вакцин олгож аюулгүй чанарыг шалгана. Загвар вакцины цувралын аюулгүй чанарыг нэгэнт нотлон харуулсан бол гүүн дээр хийх аюулгүй чанарын шалгалтыг эцсийн бүтээгдэхүүний дараа дараачийн цувралд хийхгүй байж болно.

iii) Цувралын идэвх

Вирусийн эсрэгтөрөгч, хүчлүүрийг хольсны дараа түүний идэвхийг адуу эсхүл усан гахайн *in vivo* нөхцөлд эсхүл иммунхимийн өөр тохирох аргаар шалгана. Хэдийгээр НБҮА нь эцсийн бүтээгдэхүүн дэх вакцины омог тус бүрд эсрэгтөрөгч байгааг нотлон харуулахад хэрэглэж болдог чанарын арга ч гэсэн ССА болон НБҮА зэрэг тооны үзүүлэлтээр *in-vitro* шалгах аргад хүчлүүр нөлөөлөх нь байдаг. Цувралд давтан хийх шалгалтыг тухайн улсын хяналтын эрх бүхий байгууллагатай тохиролцсоны үндсэн дээр зөвхөн усан гахай эсхүл иммунхимийн өөр тохирох аргаар хийнэ.

а. Адууны ийлдэсний хариу урвал

[3] National Institute for Biological Standards and Control, Blanche Lane, South Mimms, Potters Bar, Hertfordshire EN6 3QG, UK.

Дархлаа төрүүлэх идэвхийн үнэмшил бүхий *in-vivo* шалгалт хийхийн тулд өмнө нь вирусийн халдварт өртөөгүй, ийлдсийн сөрөг урвалтай адуу авч вакцинжуулна. Өсвөр адуу эсхүл одой адууг (нас нь 6 сараас хэтрээгүй) H7N7 болон H3N8 вирус, түүнчлэн тухайн адууг маллаж байж байгаа нутагт хамаарах саяхан ялган авсан вирус ашиглан эсрэгбие байгаа эсэхийг шалгана. хэрэв энэ илрүүлэх шинжилгээнд ЦНСУ-ыг ашиглаж байгаа бол шинжилгээний аргын мэдрэх чанарыг нэмэхийн тулд H3N8-ыг Твин 80/эфирээр боловсруулна. Тухайн амьтан ийлдэсний сөрөг урвалтай болохыг тогтооход ЦЗБҮ аргыг ашиглаж болно.

Өвчинд мэдрэмтгий, ийлдсийн сөрөг урвалтай таван адуу тус бүрд вакцины нэг тунтай тэнцэх эзлэхүүнийг тарьж вакцины үр нөлөөг шалгана. Вакцины шошго дээр зааснаар эхний болон хоёр дахь тунгийн хоорондын зөвлөсөн хугацаа өнгөрсний дараа вакцины хоёр дахь тунтай тэнцэх эзлэхүүнээр адуу бүрд вакцин тарина.

Адуу тус бүрээс цусны нийт 3 сорьцыг анхны вакцинжуулалтын үеэр эхний удаа, түүнээс хойш 1 долоо хоногийн дараа дархлааны хоёрдогч хариу урвалыг шалгах зорилгоор 2 дахь удаа, хоёр дахь вакцинжуулалтаас хойш 2 дахь долоо хоногийн дараа 3 дахь удаагаа авна.

Вакцинд агуулагдах вирусийн эсрэг үүссэн эсрэгбиеийг хэмжихэд хэрэглэдэг ийлдэс судлалын аргыг баталгаатай *in-vivo* аргаар стандартчилна. Европын фармакопейгоос[4] чанарын хяналтад хэрэглэх стандарт ийлдэс авч болох учраас ЦЗБҮ арга (Б.2.2 дугаар хэсэг) хэрэглэхийг чухалчилна. Шинжилгээг мэдрэх чанарын хувьд баталгаатай, үр дүнгийн хэлбэлзэл нь олон улсын хамтын ажиллагааны судалгаагаар тогтоосон ЦЗБҮ-ийн утгаас 20%-иас хэтрэхгүй байлгахын тулд эдгээр ийлдсийг шинжлэх ийлдэстэй зэрэгцүүлэн шинжилнэ (Daly нар, 2007; Mumford, 2000). Өөр өөр лаборатори хоорондын ЦНСУ-ын шинжилгээний үр дүнгийн таарц, тохирц муу байдаг учраас эдгээр ийлдсэнд ЦНСУ-ын таньцыг тогтоож чадаагүй байна.

Вакцинжуулалтын дараах эсрэгбиеийн утгыг ЦЗБҮ аргаар хэмжихэд 150 мм^2 -аас дээш байх ёстой. Энэ хэмжээ нь Европын фармакопейд адууны томууны идэвхгүйжүүлсэн вакцинд тавигддаг шаардлага (85 мм^2) буюу хамгаалж чадахгүй гэж тооцдог утгаас өндөр байна. Анхны вакцинжуулалтын дараа аль ч адуунд илэрсэн утга нь дархлааны хоёрдогч хариу урвал болох нь тодорхой байвал үр дүнг тооцохгүй. Дархлааны хоёрдогч хариу урвал үзүүлсэн адууг адил тооны шинэ адуугаар сольж дээр тодорхойлсны дагуу нэмэлт шинжилгээ хийнэ.

Хэрэв ЦНСУ-ыг хэрэглэдэг бол хоёр дахь вакцинжуулалтын дараа авсан ийлдэс тус бүрийн эсрэгбиеийн таньц нь шинжилгээ тус бүрд 1/64-өөс доош байх ёсгүй (үндсэн эх ийлдсэнд тооцох ба ингэхдээ 1/8-аар урьдчилан шингэлснийг харгалзана). Өөрөөр хэлбэл, шинжилж байгаа вакцинаар өдөөгдсөн эсрэгбиеийн түвшин нь зэрэгцүүлэн шинжилж байгаа, адуунд зориудын халдвар хийж туршиж үзэхэд хамгаалж байгааг нь нэгэнт тогтоогдсон стандарт вакцинаар өдөөгдсөн эсрэгбиеийн түвшинтэй наад зах нь тэнцүү байна.

б. Адуунд халдвар хийж турших

Вакцинжуулсан адуу/одой моринд вакцины хоёр дахь тунг тарьснаас хойш 2 долоо хоногоос доошгүй, боломж бүрдүүлбэл 3 сарын дараа мананцаржуулах аргаар томуу өвчний хоруу чанартай вирусийг зориуд халдааж туршина. Вакцинжуулаагүй хяналтын бүлгийн адуунд дээрхтэй ижил хугацаанд халдвар хийж эмнэл зүйн шинж тэмдэг, вирусийн гадагшлал, ийлдсийн хариу урвалыг харьцуулна. Зориудын халдвар хийх туршилтын хугацаа нь вакцинаар үүсгэх дархлааны үргэлжлэх хугацааны баримтад тулгуурлах хүсэлтэд үндэслэнэ. Вакцинжуулсны дараах 2

[4] A/eq/Newmarket/1/77 (Кат. дугаар: E0850010), A/eq/Newmarket/1/93 (E0850021) ба A/eq/Newmarket/2/93 (E0850022)-ийн ийлдэс.

долоо хоногт эсрэгбие хамгийн өндөр түвшинд хүрэх үеийн дархлааны хамгаалалт цаашид бодит үйлдвэрлэлийн нөхцөлд энэ чигээрээ үргэлжлээд байна гэсэн үг биш юм.

Эмнэлзүйн шинж тэмдэг, вирусийн ялгаралт, ийлдэс судлалын хариу урвалын харьцуулалтыг вакцинд хамрагдаагүй хяналтын бүлэг амьтдыг нэгэн зэрэг сорилтод хамруулдаг. Сорилтын үйл явцын хувааръ нь дархлааны хугацааны талаарх бүртгэлийн мэдээлэлд үндэслэсэн байх ёстой.

Хэрэглэх вакциныг төлөөлөх багцын идэвхийг адуунд шалгасан дүн хангалттай гарсан тохиолдолд эдгээр шалгалтыг нэг ижил эх омгийн бэлдэц ашиглан үйлдвэрлэсэн вакцины бусад цувралд хийх төлөвлөгөөт хяналтад тухайн улсын хяналтын эрх бүхий байгууллагын зөвшөөрснөөр оруулахгүй байж болно.

в. Усан гахайн ийлдэсний хариу урвал

Өвөрмөц эсрэгбие агуулаагүй таваас доошгүй усан гахай тус бүрд вакцины нэг тунг тарина. Хорин нэг хоногийн дараа цус авч ийлдсийг ЦЗБҮ эсхүл ЦНСУ-аар (Б.2.1 ба Б.2.2 хэсэг) шинжилнэ. Ийлдэс тус бүрийг вакцин үйлдвэрлэхэд ашигладаг омог/омгуудаас бэлтгэсэн эсрэгтөрөгч/эсрэгтөрөгчүүд тус тус хэрэглэн шинжилнэ. Хийсэн шинжилгээ бүрд ийлдэс тус бүрийн эсрэгбиеийн таньц нь адуунд хамгаалах төвшний эсрэгбие үүсгэдэг нь тогтоогдсон стандарт вакцины үүсгэдэг таньцаас бага байж болохгүй.

2.3. Вакцинд зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага

2.3.1. Аюулгүй чанарын шаардлага

Тухайн улсын хяналтын эрх бүхий байгууллага аюулгүй чанарын шаардлагыг янз бүрээр тогтоодог ба ихэнхдээ энэ шаардлагад өсвөр адуунд, хэрэв хээлтэй гүүнд хэрэглэх зориулалттай бол тэдгээрт тун хэтрүүлэн олгох, нэг тунг дахин давтан олгох аргын үнэлгээг оруулдаг. Амьд вакцины тухайд вакцины омог вакцинжуулсан адуугаар тархах, вакцинжуулсан адуунаас вакцин тариагүй адуунд дамжин тарах, тэдгээрийн үр дагаврыг судална. Амьд вакциныг холбогдох орчинд дараалан зорчуулах замаар вакцины омог эргэж хоруу чанартай болсон эсэхийг шалгана.

2.3.2. Үр нөлөөнд тавих шаардлага

Тухайн улсын хяналтын эрх бүхий байгууллага аюулгүй чанарын шаардлагыг янз бүрээр тогтоодог ба ихэнхдээ энэ шаардлагад адууны ийлдсийн хариу урвал, мэдрэмтгий адуунд зориудын халдвар хийх туршилтыг оруулдаг (В.2.2.5.iii.б хэсэг).

Вакцины тодорхойлолтод заасан дархлааны үргэлжлэх хугацааг төлөвлөсөн бүдүүвчийн дагуу вакцинжуулсан адууны халдвараас эсрэгбиеийн хамгаалах түвшинд хадгалагдах хугацааг баримтаар баталгаажуулна. Хамгаална гэж үзэх эсрэгбиеийн төвшнийг зориудын халдвар хийж эсхүл нийтлэгдсэн мэдээлэлтэй харьцуулах замаар баталгаажуулна.

2.3.3. Тогтвортой чанар

Вакцинаас тасалж авсан жижиг хэсгийг ашиглан идэвхийн шалгалтыг усан гахайд хийх замаар вакцины тодорхойлолтод заасан хүчинтэй хугацааг үе үе нотлон харуулж байх шаардлагатай (В.2.2.5.iii.в хэсэг).

2.4. Вакцины шинэ омогт зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага

ДМАЭМБ-ын зөвлөмжийн дагуу шинэчлээд байгаа вакцин нь эцсийн бүтээгдэхүүний цувралын шалгалтаар (В.2.2.5 хэсэг) шаардлага хангасан тохиолдолд түүнд зөвшөөрөл олгож вакцин үйлдвэрлэгчдэд тандах судалгааны экспертийн бүлгийн зөвлөмжийг шуурхай биелүүлэх боломж олгох хэрэгтэй.

Мал эмнэлгийн бүтээгдэхүүнийг үнэлэх Европын агентлагийн Мал эмнэлгийн бүтээгдэхүүний зөвлөл адууны томууны зөвшөөрөл бүхий вакциныг ДМАЭМБ-ын зөвлөмжид нийцүүлэх зааварчилга боловсруулаад байна. ДМАЭМБ-ын зөвлөмжийн дагуу АНУ-д адууны томуу өвчний вакцины вирусийн омогт өөрчлөлт оруулах асуудлыг АНУ, ХААД-ын Мал эмнэлгийн төв лаборатори, албаны 800.111-р санамж бичигт тусгажээ.

3. Биотехнологид суурилсан вакцин

3.1. Бэлэн байгаа вакцин, тэдгээрийн давуу тал

Зарим улсад канарын шувууны цэцэг өвчний рекомбинант вакцин гарсан бөгөөд түүнийг Австралид адууны томуу өвчинтэй тэмцэх, устгах хөтөлбөрт 2007 оноос ашиглаж байна. Рекомбинант вакцин тарьсан адууг байгалийн халдвар авсан адуунаас ялгаварлахад нуклеопротеиний ЕЛИЗА урвал ашиглаж байв. Канарын шувууны цэцэг өвчний рекомбинант вакцин адууны томууны вирусийн зөвхөн гемаглютининий генийг экспреслэдэг учраас халдвар авсан, вакцинжуулсан адууг ялгаварлах боломж олгоно. Эхээс дамжсан эсрэгбиетэй амьтны дархлааны тогтолцоог идэвхжүүлэхэд энэ вакциныг хэрэглэж болох зарим нотолгоо гарчээ (Minke нар, 2008).

3.2. Тусгай шаардлага

Улс орнуудын эрх бүхий байгууллага байгаль орчинд үзүүлэх эрсдэлийн үнэлгээ хийхийг байнга шаарддаг. Үүнд хүн ба мал, амьтны эрүүл мэнд, хүрээлэн буй орчинд генетикийн өөрчлөлттэй вакцины үзүүлэх шууд, шууд бус, түргэн эсхүл алсдаа үзүүлэх боломжтой харш нөлөөний үнэлгээ орно. Вакцины гадаад шинж болон генетикийн хувьд тогтвортой байх чанар, амьд бие махбодтой харилцан үйлчлэлд орох бусад боломжийг үнэлэх шаардлага гарч болно.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

ABDEL-MONEIM A.S., ABDEL-GHANY A.E. & SHANY S.A. (2010). Isolation and characterisation of highly pathogenic avian influenza subtype H5N1 from donkeys. *J. Biomed. Sci.,* **17**, 25. 10.1186/1423-0127-17-25.

ALEXANDER D.J. & BROWN I.H. (2000). Recent zoonoses caused by influenza A viruses. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.,* **19**, 197–225.

BRYANT N.A., RASH A.S., RUSSELL C.A., ROSS J., COOKE A., BOWMAN S., MACRAE S., LEWIS N.S., PAILLOT R., ZANONI R., MEIER H., GRIFFITHS L.A., DALY J.M., TIWARI A., CHAMBERS T.M., NEWTON J.R. & ELTON D.M. (2009). Antigenic and genetic variations in European and North American equine influenza virus strains (H3N8) isolated from 2006 to 2007. *Vet. Microbiol*., **138**, 41–52.

CHAMBERS T.M., SHORTRIDGE K.F., LI P.H., POWELL D.G. & WATKINS K.L. (1994). Rapid diagnosis of equine influenza by the Directigen FLU-A enzyme immunoassay. *Vet. Rec*., **135**, 275–279.

CRAWFORD P.C., DUBOVI E.J., CASTLEMAN W.L., STEPHENSON I., GIBBS E.P., CHEN L., SMITH C., HILL R.C., FERRO P., POMPEY J., BRIGHT R.A., MEDINA M.J., JOHNSON C.M., OLSEN C.W., COX N.J., KLIMOV A.I., KATZ J.M. & DONIS R.O. (2005). Transmission of equine influenza virus to dogs. *Science,* **310**, 482–485.

DALY J., DAAS A. & BEHR-GROSS M.E. (2007). Collaborative study for the establishment of a candidate equine influenza subtype 2 American-like strain A/EQ/South Africa/4/03 – horse antiserum biological reference preparation. *Pharmeuropa Bio,* **1**, 7–14.

DALY J.M., WHITWELL K.E., MILLER J., DOWD G., CARDWELL J.M. & SMITH K.C. (2006). Investigation of equine influenza cases exhibiting neurological disease: coincidence or association? *J. Comp. Pathol.,* **134**, 231–135. [PMID: 16527298]

EDLUND TOULEMONDE C., DALY J., SINDLE T., GUIGAL P.M., AUDONNET J.C. & MINKE J.M. (2005). Efficacy of a recombinant equine influenza vaccine against challenge with an American lineage H3N8 influenza virus responsible for the 20003 outbreak in the United Kingdom. (2005). *Vet. Rec.,* **156**, 367–3771.

EUROPEAN AGENCY FOR THE EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS (EMEA), COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS (CVMP) (1998). Note for Guidance: Harmonisation of Requirements for Equine Influenza Vaccines Specific Requirements for Substitution or Addition of a Strain or Strains. Document EMEA/CVMP/112/98-FINAL, EMEA, London, UK.

FAVARO P.F., FERNANDES W.R., RISCHARK D., BRANDAO P.E., DE SOUZA SILVA S.O. & RICHTZENHAIN L.J (2018). Evolution of equine influenza viruses (H3N8) during a Brazilian outbreak, 2015. *Brazilian J. Microbiol*., **49**, 336– 346.

FOORD A.J., SELLECK P., COLLING A., KLIPPEL J., MIDDLETON D. & HEINE H.G. (2009). Real-time RT-PCR for detection of equine influenza and evaluation using samples from horses infected with A/equine/Sydney/2007 (H3N8). *Vet. Microbiol.,* **137**, 1–9.

GALVIN P., ARKINS S., GILDEA S. & CULLINANE A. (2013). The evaluation of a nucleoprotein ELISA for the detection of equine influenza antibodies and the differentiation of infected from vaccinated horses (DIVA). *Influenza and Other Respiratory Viruses*, **7** (Suppl. 4), 73–80.

GERBER H. (1970). Clinical features, sequelae and epidemiology of equine influenza. *In:* Equine Infectious Diseases II, Bryans J.T. & Gerber H., eds. S. Karger, Basel, Switzerland, 63–80.

GILDEA S., FITZPATRICK D.A. & CULLINANE A. (2013a) Epidemiological and virological investigations of equine influenza outbreaks in Ireland (2010 – 2012). *Influenza and Other Respiratory Viruses*, **7** (Suppl 4), 61–72.

GILDEA S., QUINLIVAN M., MURPHY B. & CULLINANE A. (2013b) Humoral response and antiviral cytokine expression following vaccination of thoroughbred weanlings – a blinded comparison of commercially available vaccines. *Vaccine*, **31**, 5216–5222.

GUO Y., WANG M., KAWAOKA Y., GORMAN O., ITO T., SAITO T. & WEBSTER R.G. (1992). Characterisation of a new avian-like influenza A virus from horses in China. *Virology,* **188**, 245–255.

HEINE H.G., TRINIDAD L., SELLECK P. & LOWTHER S. (2007). Rapid detection of highly pathogenic avian influenza H5N1 virus by TaqMan reverse transcriptase–polymerase chain reaction. *Avian Dis*., **51** (Suppl. 1), 370–372.

ILOBI C.P., HENFREY R., ROBERTSON J.S., MUMFORD J.A., ERASMUS B.J. & WOOD J.M. (1994). Antigenic and molecular characterisation of host-cell mediated variants of equine H3N8 influenza viruses. *J. Gen. Virol*., **75**, 669–673.

JOHN T.J. & FULGINITI V.A. (1966). Parainfluenza 2 virus: increase in haemagglutinin titre on treatment with Tween- 80 and ether. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med*., **121**, 109–111.

KITTELBERGER R, MCFADDEN A.M, HANNAH M.J, JENNER J, BUENO R, WAIT J, KIRKLAND P.D, DELBRIDGE G, HEINE H.G, SELLECK P.W, PEARCE T.W, PIGOTT C.J, O'KEEFE J.S. (2011) Comparative evaluation of four competitive/blocking ELISAs for the detection of influenza A antibodies in horses. *Vet Microbiol.,* **148**, 377–383.

LIVESAY G.J., O'NEILL T., HANNANT D, YADAV M.P. & MUMFORD J.A. (1993). The outbreak of equine influenza (H3N8) in the United Kingdom in 1989; diagnostic use of an antigen capture ELISA. *Vet. Rec*., **133**, 515–519.

LU Z., CHAMBERS T.M., BOLIAR S., BRANSCUM A.J., STURGILL T.L., TIMONEY P.J., REEDY S.E., TUDOR L.R., DUBOVI E.J., VICKERS M.L., SELLS S. & BALASURIYA U.B. (2009). Development and evaluation of one-step Taqman real-time reverse transcription-PCR assays targeting nucleoprotein, matrix and hemagglutinin genes of equine influenza virus. *J. Clin. Microbiol.,* **47**, 3907–3913.

MINKE J.M., TOULEMONDE C.E., DINIC S., COZETTE V, CULLINANE A., AUDONNET J.C. (2007). Effective priming of foals born to immune dams against influenza by a canarypox-vectored recombinant influenza H3N8 vaccine. *J. Comp. Pathol.,* **137**, S76–S80.

MORLEY P.S., BOGDAN J.R., TOWNSEND H.G.G. & HAINES D.M. (1995). The effect of changing single radial haemolysis assay method when quantifying influenza A antibodies in serum. *Vet. Microbiol.*, **44**, 101–110.

MUMFORD J.A. (1992). Progress in the control of equine influenza. *In:* Equine Infectious Disease VI: Proceedings of the Sixth International Conference, Plowright W., Rossdale P.D. & Wade J.F., eds. Newmarket, R & W Publications, UK, 207–217.

MUMFORD J. (2000). Collaborative study for the establishment of three European Pharmacopoeia biological reference preparations for equine influenza horse antiserum. *PHARMEUROPA Special Issue, Bio 2000-1,* 5–21.

MUMFORD J.A., JESSETT D., DUNLEAVY U., WOOD J., HANNANT D., SUNDQUIST B. & COOK R.F. (1994). Antigenicity and immunogenicity of experimental equine influenza ISCOM vaccines. *Vaccine,* **12**, 857–863.

MUMFORD J., WOOD J.M., SCOTT A.M., FOLKERS C. & SCHILD G.C. (1983). Studies with inactivated equine influenza vaccine 2. Protection against experimental infection with influenza virus A/equine/Newmarket/79 (H3N8). *J. Hyg.* (*Camb.),* **90**, 385–395.

OXBURGH L. & KLINGBORN B. (1999). Cocirculation of two distinct lineages of equine influenza virus subtype H3N8. *J. Clin. Microbiol*., **37**, 3005–3009.

QUINLIVAN M., DEMPSEY E., RYAN F., ARKINS S. & CULLINANE A. (2005). Real-time reverse transcription PCR for detection and quantitative analysis of equine influenza virus. *J. Clin. Microbiol.,* **43**, 5055–5057.

RASH A., WOODWARD A., BRYANT N., MCCAULEY J. & ELTON D. (2014). An efficient genome sequencing method for equine influenza (H3N8) virus reveals a new polymorphism in the PA-X protein. *Virol. J.,* **11**, 159.

SERGEANT E.S, COWLED B.D, BINGHAM P. (2011) Diagnostic specificity of an equine influenza blocking ELISA estimated from New South Wales field data from the Australian epidemic in 2007. *Aust. Vet. J. Suppl. 1*, **89**, 43– 45.

TU J., ZHOU H., JIANG T., LI C., ZHANG A., GUO X., ZOU W., CHEN H. & JIN M. (2009). Isolation and molecular characterization of equine H3N8 influenza virus from pigs in China. *Arch. Virol.,* **154**, 887–890.

WEBSTER R.G. (1993). Are equine 1 influenza viruses still present in horses? *Equine Vet. J.,* **25**, 537–538.

WOOD J.M., MUMFORD J., FOLKERS C., SCOTT A.M. & SCHILD G.C. (1983b). Studies with inactivated equine influenza vaccine 1.

*

* *

ЖИЧ: Адууны томуу өвчний ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори бий
(ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас мэдээлэл авна уу:
https://www.oie.int/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

Адуу томууг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудтай холбогдож авна уу.

ЖИЧ: 1990 ОНД АНХ, 2019 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

БҮЛЭГ 36 (3.6.7)

АДУУНЫ ХАЧГИЙН ХАЛУУН ӨВЧИН (АДУУНЫ ПИРОПЛАЗМОЗ)

А. УДИРТГАЛ

Адууны пироплазмоз буюу хачгийн халуун өвчин нь эгэл биетэн бэлчээрийн хачгаар дамжин адуу, луус, илжиг, судалт тахид шимэгчилснээс үүсдэг өвчин юм. Адууны хачгийн халуун өвчний үүсгэгчид *Theileria equi* ба *Babesia caballi* орно. *Dermacentor, Rhipicephalus, Hyalomma* төрлийн арван дөрөв орчим зүйлийн иксоид хачиг нь *B. caballi* болон *T. equi* үүсгэгчийг хөгжлийнхөө нэг үеэс нөгөө үед дамжуулан тээдэг халдвар дамжуулагч, харин найман зүйл хачиг нь *B. caballi* халдварыг өндгөвчөөр дамжуулдаг байж болохыг тогтоожээ (De Waal, 1992). *Ambloyomma* зэрэг бусад төрлийн хачиг мөн халдвар дамжуулах боломжтой нь тогтоогдсон байна (Scoles нар, 2011). Халдвар авсан амьтад цусны дээрх шимэгчдийг удаан хугацаагаар тээж өвчин үүсгэгч дамжуулах бэлчээрийн хачиг халдвар авах эх уурхай болох боломжтой. Түүнчлэн эдгээр зарим шимэгчийн ДНХ энэ өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдэг илрээгүй тэмээ болон нохойд илэрсэн байна (Onyicheet нар, 2019). Энэ өвчний тархвар зүйд адууны төрлөөс бусад зүйлийн амьтдын оролцоо тодорхойгүй байна.

Өвчин үүсгэгч шимэгчид Евро, Азийн өмнөд хэсэг, Тусгаар улсуудын хамтын нийгэмлэгийн улсууд, Африк, Куба, өмнөд болон төв Америк, АНУ-ын өмнөд бүсийн зарим хэсэгт тохиолдоно. Мөн *Theileria equi* талаар Австралиас мэдээлсэн (гэвч энэ бүсэд өвчлөл огт тогтоогдоогүй) ба ерөнхий тархалтын хувьд *B.caballi*-аас илүү гэж үзэх болжээ.

Babesia шимэгчийн амьдралын мөчлөгийн хугацаанд спорозоитууд нь эхлээд цусны улаан эсэд шимэгчилж трофозоит хэлбэрийг олно. Ийм нөхцөлд трофозоит өсөж томрон зууван дугуй болон лийр шиг мерозоит гэсэн хоёр хэлбэрт хуваагдана. Мерозоит бие гүйцэхээрээ шинэ улаан эсэд халдварлах чадвартай болж дараа нь хуваагдлын шат давтагдана.

Улаан эс доторх *Babesia caballi* мерозоит нь лийр хэлбэртэй, 2–5 мкм урт, 1.3–3.0 мкм голчтой (Levine, 1985). Хос мерозоит сүүл хэсгээрээ нийлсэн байдаг нь *B. caballi*-ын халдварыг оношлох онцлог шинж юм.

Theileria equi-н хувьд мерозоит нь харьцангуй жижигхэн, уртаараа 2–3 мкм хүрэхгүй (Levine, 1985), лийр шиг, дугуй эсхүл өндөг шиг хэлбэртэй байдаг. Уртаараа 2 мкм орчим лийр хэлбэрийн дөрвөн мерозоит нийлж “Малтийн загалмай” гэгдэх дөрвөл бүтэц үүсгэх нь *T. equi*-н өвөрмөц хэв шинж юм (Holbrook нар, 1968).

Хачиг адууны цус сорох үеэр *T. equi*-н спорозоит лимфоцит эсэд халдварладаг нь тогтоогджээ (Schein нар, 1981). Спорозоит нь тэдгээр лимфоцитийн цитоплазмд өсөж үржин сүүлдээ *Theileria*-төст шизонт болж хөгжинө. Эдгээр шизонтоос мерозоит гарч цусны улаан эсэд орно. Гүүнээс унаганд *T. equi* халдвар хөндлөн чиглэлээр дамждагийг бас мэдээлжээ (Allsopp нар, 2007). Туршилтаар халдварлуулахад *T. equi* зөвхөн цусанд төдийгүй элэг, дэлүү, уушги, ясны чөмөгт илэрч байжээ (Alhassan нар, 2007).

T. equi биологийн ангилал байрлалын хувьд маргаантай байсаар ирсэн ба харьцангуй саяхнаас л түүнийг *Theileria* гэж дахин тодорхойлсон байна (Mehlhorn & Schein, 1998). *Theileria* spp-тэй ойр хамааралтай болохыг харуулсан өөр нэг баримт нь *T. equi*-н гадаргуугийн 30 ба 34 kDa уураг болон янз бүрийн *Theileria* spp-ийн адил хэмжээтэй уургийн хооронд гомолог болохыг тогтоосон явдал юм (Knowles, 1997). Гэвч рибосомын РНХ-ийн жижиг дэд нэгжийн генийн дараалалд суурилсан удам зүйн мод дээрх *T. equi*-ийн байрлал нь хувьсамхай, ихэнхдээ Тейлерийнхнийтэй (Theilerids) хамгийн ойр хамааралтай бүлэг (эгч дүүс клад) байдлаар харагддаг (Criado-Fornelio нар, 2003) нь зарим судлаачдыг *T. equi*-г Тейлерийнхний угсааных (Criado-Fornelio нар, 2003) эсхүл бүхэлдээ өөр бүлэг (Allsopp нар, 1994) гэж үзэхэд хүргэсэн байна. *T. equi*-н геномыг бүрэн тайлж дууссан нь түүнийг удам зүйн байрлалын хувьд *Theileria* spp-ийнхний хамгийн ойр хамааралтай бүлэг болохыг бататгаж өгчээ (Kappmeyer нар, 2012). *B. caballi* болон *T. equi*-ийн аль алинд нь нуклеотидын дарааллын хувьд ижил бус ялгаатай байдал буюу гетероген чанар оршдог. Ялангуяа *T. equi*-н рибосомын ДНХ 18S генийн

дарааллын этгээд олон янз байдал болон *T. equi*-д ойр хамааралтай *Theileria haneyi* гэх *Theileria*-ийн шинэ зүйлийг саяхан нээсэн нь олон төрлийн нууцлаг зүйлийг хамтатган *T. equi* гэж нэрлэх болсныг тод харуулж байна (Knowles нар, 2018). Нуклеотидүүдийн дарааллын эдгээр ялгаатай байдал, сайтар судлагдаагүй нууцлаг төрөл зүйлүүд нь молекул шинжилгээний үр дүнг үнэлж дүгнэхэд сөргөөр нөлөөлөх магадлалтай.

Хачгийн халуун өвчний илрэх эмнэл зүйн шинж тэмдэг ихэвчлэн өвөрмөц бус байдгаас бусад өвчний шинж тэмдэгтэй амархан андуурагдана. Хачгийн халуун өвчин хурц, цочмог, архаг хэлбэрээр тохиолдоно. Зонхилон тохиолдох цочмог хэлбэрийн үед голдуу 40°C-аас дээш халуурах, тэжээлийн дуршил буурах, номойрох, амьсгалын болон зүрхний агшилтын тоо аажмаар олшрох, салст бүрхэвчид цус ихдэх, жирийн үетэй харьцуулахад жижиг, хатуувтар хомоолоор баах хэв шинж тэмдэг илэрнэ.

Цочмогдуу хэлбэрийн үеийн шинж тэмдэг цочмог үеийнхтэй төстэй. Үүнээс гадна амьдын жин буурах, заримдаа сэлгэн халуурах нь бий. Салст бүрхэвчүүд цайвар ягаанаас ягаан эсхүл цайвар шаргалаас тод шаргал өнгөтэй болно. Салст бүрхэвч дээр цэг маягийн цус харвалт болон/эсхүл цус хуралт үүсэж болзошгүй. Гэдэсний гүрвэлзэх хөдөлгөөн бага зэрэг буурч адуунд дэлүүтэх өвчний хөнгөвтөр хэлбэрийн шинж тэмдэг илэрч болзошгүй. Зарим үед мөчдийн доод хэсгээр бага зэрэг хавагнана.

Архаг хэлбэрийн үед ихэвчлэн тэжээлийн дуршил бага зэрэг буурах, ажлын чадвар муудах, биеийн жин буурахаас өөр өвчний эмнэл зүйн өвөрмөц шинж тэмдэг илрэхгүй. Шулуун гэдсээр суйлахад дэлүү ихэвчлэн томорсон байх нь мэдрэгдэнэ. Ховор тохиолдох хурц хэлбэрийн үед адуу үхсэн эсхүл үхлүүт байдалтай олдоно.

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Адууны хачгийн халуун өвчнийг оношлох шинжилгээний арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	**Зорилго**					
	Популяци халдваргүйг тогтоох	Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах	Халдварын тархалт тогтоох – тандалт	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгч илрүүлэх[(a)]						
Дурандах шинжилгээ	–	+	–	++	+	–
ПГУ	+++	+++	+++	+++	+++	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ФЭБШБУ	++	++	++	–	++	–
Өрсөлдөөнт ЕЛИЗА	+++	++	+++	–	+++	–

Түлхүүр үг:
+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
++ = энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй;
ПГУ = полимеразагийн гинжин урвал;
ФЭБШБУ = флюоресцент эсрэгбиеийн шууд бус урвал;
ЕЛИЗА = энзим холбоост дархлааны урвал;
[(a)]Үүсгэгчийг ялган таних төрөл бүрийн шинжилгээг эмнэл зүйн нэг ижил сорьцод хийнэ.

Үүсгэгчийг ялган таних шинжилгээгээр эсхүл ийлдсийн шинжилгээгээр сөрөг дүн үзүүлснээр тухайн амьтныг уг өвчний халдваргүй гэж үзэж болохгүй. Шимэгч халдвар тээгч амьтны дэлүү, ясны чөмөг гэх мэт эрхтэнд орогнон байсаар байх хэдий ч шимэгч болон түүний генетик материал цусанд илэрдэггүй байна (Pitel нар, 2010; Ribeiro нар, 2013). Үүний адилаар халдварын эхний шатад ПГУ-аар эерэг дүн үзүүлсэн адууны биед ийлдсийн шинжилгээний аргад мэдрэгдэх хэмжээний эсрэгбие үүсэх хүртэл ийлдсийн шинжилгээ сөрөг дүн үзүүлж болно (Abedi нар, 2014; Posada-Guzman нар, 2015). Ийм учраас ПГУ болон ийлдсийн шинжилгээ бодгаль амьтныг халдваргүй болохыг тогтооход чухал ач холбогдолтой юм. Нөгөө талаар микроскопоор харах болон ПГУ-ыг хослуулан хэрэглэх нь идэвхтэй

халдварын эмнэл зүйн тохиолдлын оношийг баталгаажуулах ач холбогдолтой. Шимэгчийн эсрэг эмээр эмчлэхэд халдвар халхлагдаж шинжилгээгээр хуурамч сөрөг дүн гарах нь ихэсдэг.

1. Үүсгэгч илрүүлэх

1.1. Дурандах шинжилгээний арга

Халдвар авсан адууг арьсны өнгөц хялгасан судаснаас авсан цусны будсан түрхэц эсхүл өвчний цочмог явцтай үед бэлтгэсэн эрхтний түрхцэд үүсгэгч шимэгчийг илрүүлэх замаар ялган тогтооно. Гимзийн арга гэх мэт Романовскийн төрлийн будалтын арга ерөнхийдөө хамгийн сайнд тооцогдоно. Гэвч *B. caballi*-ийн халдварын эмнэл зүйн цочмог хэлбэрийн үед ч шимэгч цусаар тарах нь маш бага бөгөөд илрүүлэхэд хэцүү байдаг. Цусаар тархсан шимэгч маш бага байх үед туршлагатай шинжлэгчид заримдаа цусны зузаан түрхэц ашигладаг. Цэвэрхэн тавиур шил дээр жижигхэн дусал цуснаас (ойролцоогоор 50 мкл) зузаан түрхэц бэлтгэн дараа нь агаарт хатаан 80°C-д 5 минут дбэхжүүлж Гимзийн 5% будагт 20-30 минут байлгаж будна.

T. Equi болон *B. caballi*-ийн холимог халдвар элбэг тохиолддог учраас зарим үед шимэгчийг зүйлээр нь нарийн ялган тогтоохыг эрмэлзэх нь зүйтэй.

Хачгийн халуун өвчний халдварыг тээгч адууны цусны түрхцийг шинжлэх замаар уг өвчнийг ялган оношлох нь маш хэцүү, төдийлөн нарийн арга биш тул ийлдэс судлалын арга хэрэглэхийг чухалчилдаг (дор үзнэ үү). Гэхдээ ийлдэс судлалын арга ч хуурамч сөрөг ба хуурамч эерэг дүн үзүүлж болзошгүй (Tenter & Freidhoff, 1986).

1.2. In-vitro нөхцөлд өсгөвөрлөх арга

Өвчин үүсгэгч тээгч амьтныг ялган тогтоох үүднээс *T. equi* болон *B. caballi* үүсгэгчийн *in-vitro* өсгөвөр бий болгож чадвал дээр дурдсан аргыг орлох бас нэг хувилбар болох юм. Хавсарга холбох урвалаар (ХХУ) шинжлэхэд сөрөг дүн үзүүлсэн хоёр адууны цуснаас *Babesia caballi* үүсгэгчийг амжилттай өсгөвөрлөсөн нь бий (Holman нар, 1993). Үүний нэгэн адил, өсгөвөрлөх ажил эхлэх гэж байх үед цусанд нь шимэгч тархсан ямар ч шинж тэмдэггүй байсан адуунаас ч *T. equi* өсгөвөрлөж болно (Zweygarth нар, 1997). Энэ аргыг үндсэндээ молекулын шинжилгээний аргаар орлуулах болов.

1.3. Молекул шинжилгээний арга

T. equi болон *B. caballi* илрүүлэх молекул шинжилгээний аргыг боловсруулжээ. Эдгээр арга нь үндсэндээ рибосомын РНХ-ийн 18S генийг онилдог зүйл-өвөрмөц полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ) болно. ПГУ нь *T. equi*-г өвөрмөцөөр илрүүлэх (хөтлөх праймер: CAT-CGT-TGC-GGC-TTG-GTT-GG; буцаах праймер: CCA-AGT-CTC-ACA-CCC-TAT-TT) болон *B. caballi*-г өвөрмөцөөр илрүүлэхэд (хөтлөх праймер: TTC-GCT-TCG-CTT-TTT-GTT-TTT-ACT; буцаах праймер: GTC-CCT-CTA-AGA-AGC-AAA-CCC-AA) зориулагдсан ба праймер нь өмнө тайлбарласан рибосомын РНХ-ийн 18S генд суурилсан болно (Bashiruddin нар, 1999). Рибосомын РНХ-ийн 18S генд суурилан боловсруулсан нэг мултиплекс ПГУ-ын гурван праймерийн нэг нь *T. equi* болон *B. caballi* хоёулд тохирох хөтлөх праймер (TCG-AAG-ACG-ATC-AGA-TAC-CGT-CG), нөгөө нэг нь *T. equi*-д өвөрмөц буцаах праймер (TGC-CTT-AAA-CTT-CCT-TGC-GAT), үлдсэн нэг нь *B. caballi*-д өвөрмөц буцаах праймер (CTC-GTT-CAT-GAT-TTA-GAA-TTG-CT) бөгөөд түүнийг *T. equi* болон *B. caballi*-г нэгэн зэрэг илрүүлэн ялган тогтоох зорилгоор хэрэглэж байна (Alhassan нар 2005). ПГУ-аас гадна өндөр мэдрэмжит гогцоон-холбоост изотермийн олшруулалт (LAMP) зэрэг молекул оношилгооны бусад аргын талаар мэдээлжээ (Alhassan нар, 2007). *T. equi* үүсгэгчийн геномын мэдээллийг тайлснаар энэ зүйлийн шимэгчийг оношлох аргыг сайжруулах, өргөжүүлэх боломж нэмэгдэнэ (Kappmeyer нар 2012). Дээр дурдсанчлан, *T. equi* болон *B. caballi* үүсгэгчийн аль алиных нь дотор өөр угсаа гарвалын нуклеотидийн дараалал нэлээд илэрсэн байна. Үүнээс үзвэл, хачгийн халуун өвчний үүсгэгчийн зарим өсгөврийг илрүүлэхэд зориулсан молекулын шинжилгээний арга өөр гарвалын үүсгэгчийг илрүүлэхэд мэдрэх чанарын хувьд дутагдалтай байж болох юм.

2. Ийлдэс судлалын арга

Тээгч амьтны цусны түрхцийг микроскопоор харж шалгаад өвчний үүсгэгчийг илрүүлж оношилно гэдэг маш хэцүү. Үүнээс гадна энэ аргаар өргөн хүрээнд шинжилгээ хийх боломжгүй юм. Ийм учраас ялангуяа энэ өвчин гардаггүй ч өвчин үүсгэгчийг дамжуулагч үе хөлтөн байдаг улс оронд импортлох адуунд ийлдэс судлалын оношлох шинжилгээ хийхийг зөвлөдөг.

Ийлдсийн сорьцыг оношилгооны лабораторийн тусгайлсан шаардлагын дагуу авч бэлтгэж илгээнэ. Ийлдсийн шинжилгээгээр халдваргүй нь тогтоогдсон экспортлох адууг болзошгүй халдвараас хамгаалж бэлчээрийн хачиггүй газар байлгана.

Хачгийн халуун өвчнийг оношлоход хавсарга холбох урвал (ХХУ), флюоресцент эсрэгбиеийн шууд бус урвал (ФЭБШБУ), энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА) зэрэг ийлдсийн шинжилгээний цөөнгүй арга хэрэглэж байна.

2.1. Флюоресцент эсрэгбиеийн шууд бус урвал (ФЭБШБУ)

ФЭБШБУ-ыг *T. equi* болон *B. caballi* халдварыг ялгаварлан оношлоход амжилттай хэрэглэж ирэв (Madden & Holbrook, 1968). Илт эерэг урвалыг үнэлэх харьцангуй амархан, харин аливаа сул эерэг урвалыг сөрөг урвалаас ялгаварлахад нэлээд туршлага шаардана. ФЭБШБУ-ын дэлгэрэнгүй арга зүйг боловсруулжээ (Madden & Holbrook, 1968). ФЭБШБУ тавихад гардаг нэг асуудал бол улаан эс дотор орших шимэгчийг илрүүлэхэд саад болдог өвөрмөц бус-холбогдолт, үүнээс үүдэх суурь дэвсгэр өнгийг багасгахын тулд ийлдсийг шингэлэх шаардлага гардаг явдал юм. Ийлдсийг шингэлэхэд ФЭБШБУ-ын өвөрмөц чанар дээшилдэг ч мэдрэх чанар нь буурна. ФЭБШБУ-ын арга зүйн жишээг дор оруулав

2.1.1. Эсрэгтөрөгч үйлдвэрлэх-бэлтгэх

Адууны цусан дахь шимэгч үржин тохиромжтой түвшинд буюу 2-5 % болох үед эсрэгтөрөгч бэлтгэх цус авна. Эсрэгтөрөгч бэлтгэхэд эсрэгбие нэгэнт үүсчихсэн тээгч амьтан тохирохгүй. Халдвар авсан улаан эсийг эсрэгбиеэр бохирдуулахгүй байх, ялангуяа *B. cabalii* халдвартай улаан эс хэрэглэхэд байнга бэлэн байлгах үүднээс *in vitro* нөхцөлд өсгөвөрлөсөн шимэгчийг тавиур шилний эсрэгтөрөгч бэлтгэхэд хэрэглэж болох хувилбар бий. Цусыг (15 мл орчим) 235 мл, pH 7.2 бүхий фосфатын давсны буфержүүлсэн уусмалд тосож авна, Улаан эсийг хүйтэн ФБУ-д (1000 г-аар 4°C-д 10 минут) гурван удаа угаана. Угаалт бүрийн дараа дээд талын шингэн хэсэг, цагаан эсийн хөвмөл үеийг зайлуулна. Сүүлийн угаалтын дараа бөөгнөрсөн улаан эсийг ФБУ-д уусгасан үхрийн ийлдэсний альбумины V фракцийн 4%-ийн уусмалаар анхны эзлэхүүн хүртэл сэргээн уусгана, өөрөөр хэлбэл анхны улаан эсийн эзлэхүүн = 30% байсан бол гуравны нэг нь улаан эсээс бүрдэнэ. Хэрэв улаан эсийн анхны эзлэхүүн 15 мл байсан бол эсрэгтөрөгч нь: 5 мл бөөгнөрсөн улаан эс + ФБУ-д уусгасан үхрийн альбумины 4%-ийн уусмал 10 мл-ээс бүрдэнэ. Сайтар хольсны дараа эсрэгтөрөгчийг тавиур шилэн дээр бэлтгэсэн үүрэнд үлгэрчилсэн загвар эсхүл тариур ашиглан хийнэ. Эсийг микроскопын тавиур шил дээр түүний гадаргууг бүхэлд нь хамруулан нэгэн жигд, зузаавтар тарааж бэлтгэх өөр нэг хувилбар бий. Эдгээр бэлдцийг хатсаны дараа зөөлөн цаасаар ороож гялгар уут, эсхүл хөнгөн цагаан цаасанд хулдан битүүмжлээд –20°C-д 1 жил хүртэл хадгална.

2.1.2. Шинжлэх аргачлал

i) Ийлдэсний дээж тус бүрд *B. caballi* болон *T. equi*. Эсрэгтөрөгч илрүүлэх шинжилгээ хийнэ.

ii) –20°C-д хадгалж байгаа хөлдөөсөн эсрэгтөрөгч бүхий тавиур шилийг хэрэглэхийн өмнө гарган 37°C-д 10 минут байлгана.

iii) Эсрэгтөрөгчийн түрхцийг хамгаалалтын бүрхүүлээс салган авч усгүй, хүйтэн (–20°C) ацетонд 1 минут бэхжүүлнэ. Урьдчилж бэхжүүлчихсэн тавиур шил худалдаанд бэлэн бий.

iv) Түрхцийг тавиур шилний гадаргууд бүхэлд нь бэлтгэсэн бол эсрэгтөрөгчийн түрхэц дээр хумсны лак эсхүл хурдан хатдаг барьцалдуулагч тэжээлт орчин ашиглан дөрвөлжин үүр (14-21 үүр бүхий, ө.х. 7 багана тус бүр 2-3 эгнээ) үүсгэнэ.

v) Шинжлэх болон эерэг, сөрөг хяналтын ийлдсийг ФБУ-аар 1/80-аас 1/1280 хүртэл шингэлнэ. Шинжилгээ хийх бүрдээ эерэг ба сөрөг хяналтын ийлдэс хамт шинжилнэ.

vi) Тохирох шингэлэлт бүхий ийлдсийг (тус бүр 10 мкл) янз бүрийн үүрэнд эсхүл эсрэгтөрөгчийн түрхцэд гаргасан дөрвөлжин үүрэнд хийгээд 37°C-д 30 минут байлгаж дараа нь ФБУ-аар хэд хэдэн удаа, усаар нэг удаа угаана.

vii) Туулайд бэлтгэж флюоресцеин изотиоцианаттай коньюгатласан (ийм коньюгат худалдаанд гарсан) адуу-эсрэг иммунглобулиныг ФБУ-аар шингэлэн түрхцэд хэрэглээд дараа нь өмнөхийн адилаар тогтмол температурт байлгах б ба угаана.

viii) Сүүлийн угаалтын дараа глицерин, ФБУ адил хэмжээгээр агуулсан уусмалаас хоёр дуслыг түрхэц нэг бүр дээр дусаагаад бүрхүүл шилээр бэхэлнэ.

ix) Түрхцийг микроскопоор харж гэрэлтэлт бүхий шимэгч байгаа эсэхийг шалгана. Хэдийгээр эерэг болон сөрөг хяналтын гэрэлтэлтийн хэв маягийг харгалзан үздэг ч 1/80 ба түүнээс ахиу шингэлсэн ийлдэс хүчтэй гэрэлтэлт өгч байвал түүнийг ихэвчлэн эерэгт тооцно.

2.2. Энзим холбоост дархлааны өрсөлдөөнт урвал

ЕЛИЗА урвалд хэрэглэх рекомбинант цөөнгүй эсрэгтөрөгчийг тодорхойлжээ. *T. equi* (EMA-1; EMA-2) болон *B. caballi* рекомбинант уургийг (RAP-1; Bc48) *Escherichia coli*-оос (Huang нар, 2003; Kappmeyer нар, 1999; Knowles нар, 1992) эсхүл мөн бакуловирус ашиглан шавжийн эсээс (Xuan нар, 2001) гарган авчээ. *E. coli* эсхүл бакуловирус ашиглан рекомбинант эсрэгтөрөгч гарган авах нь эсрэгтөрөгч үйлдвэрлэх зорилгоор адуунд халдвар хийх шаардлагагүй, нөгөө талаар өмнө нь ЕЛИЗА цомогт цэвэршүүлээгүй эсрэгтөрөгч хэрэглэснээс шалтгаалан гардаг байсан солбицох урвал гарахгүй байх үлэмж давуу талтай. Мөн тэдгээр нь олон улсын хэмжээнд хэрэглэх, стандартчилахад зориулсан эсрэгтөрөгчийн байнгын эх үүсвэр болно.

EMA-2 болон BC48 уураг ашиглах шууд бус ЕЛИЗА нь халдвар авсан адуунд эсрэгбие илрүүлэхэд өвөрмөц болон мэдрэх чанараар өндөр болох нь харагджээ (Huang нар, 2003; Ikadai нар, 1999; Kumar нар, 2013). Үр дүн нь найдвар төрүүлж байгаа шинжилгээний эдгээр аргыг баталгаажуулах ажил хийгдэж байна.

EMA-1 уураг болон мерозоитын гадаргуугийн уургийн эпитопыг тодорхойлогч ижил гарлын эсрэгбие (ИГЭБ) ашигладаг өрсөлдөн саатуулах ЕЛИЗА урвалыг (ө-ЕЛИЗА) *T. equi*-д зориулсан ө-ЕЛИЗА урвалаар хэрэглэж байна (Knowles нар, 1992). Энэхүү ө-ЕЛИЗА урвалын өвөрмөц чанар нь зөвхөн *T. equi*-н уургийн эпитопын ИГЭБ-ын өвөрмөц чанараас хамаардаг тул уг шинжилгээнд эсрэгтөрөгчийн цэвэршилт нөлөөлдөггүй байна. *T. equi*-н эсрэгбие илрүүлэлтээрээ ө-ЕЛИЗА болон ХХУ-ын үр дүн 94% нийцэж байжээ. Хоорондоо зөрөөтэй үр дүн өгсөн ийлдсний дархлааны тунадасжуулах урвалд орох чадварыг *T. equi*-н мерозоитын мРНХ-ийн 35S-метионин-тэмдэглэгээтэй *in vitro* трансляцийн бүтээгдэхүүнд үнэлгээ хийсэн байна. ө-ЕЛИЗА-аар эерэг, харин ХХУ-аар сөрөг байсан сорьц *T. equi* хэд хэдэн уургийг илт тунадасжуулсан өгсөн байна.

Гэхдээ ө-ЕЛИЗА урвалаар сөрөг, ХХУ-аар эерэг урвалтай ийлдэсний дээж дархлааны тунадасжуулах урвалаар тодорхойгүй үр дүн үзүүлсэн байна (Knowles нар, 1991). *T.equi*-д зориулсан энэхүү ө-ЕЛИЗА-г Марокко, Израил улсад баталгаажуулахад ФЭБШБУ-ын үр дүнтэй 91% болон 95.7%-иар тус тус тохирч байжээ (Rhalem нар, 2001; Shkap нар, 1998). Үүнтэй адилхан ө-ЕЛИЗА *B. caballi* –ийн сүүлийн хэсэгтэй холбоотой рекомбинант уураг 1 (RAP-1) болон *B. caballi* эсрэгтөрөгчийн 60 kDa пептидийн эпитоптой урвалд орох ИГЭБ ашиглан боловсруулжээ (Kappmeyer нар, 1999). Энэ ө-ЕЛИЗА болон ХХУ-аар ийлдсийн 302 дээж шинжлэхэд үр дүнгийн 73% хоорондоо тохирч байжээ. ХХУ-аар сөрөг боловч ө-ЕЛИЗА -аар эерэг 72 дээжийн 48 (67%) нь ФЭБШБУ-аар эерэг байсан бол ХХУ-аар эерэг боловч ө-ЕЛИЗА-аар сөрөг таван дээжийн дөрөв нь ФЭБШБУ-аар эерэг байсан байна (Kappmeyer нар, 1999).

Адууны хачгийн халууны шинжилгээ хийх ө-ЕЛИЗА арга зүйг боловсруулж нэмэлт баталгаажуулалт хийж байна (АНУ-ын ХАА департамент [USDA], 2005). Хачгийн халуун

өвчингүй гэж үзсэн 1000 адууны цусны ийлдсийг *T. equi* болон *B. caballi*-д зориулсан ө-ЕЛИЗА шинжилгээний өвөрмөц чанар тус тус 99.2% ба 99.5% буюу илт өндөр байв. Гадаад улсын гарал үүсэлтэй, халдвартай эсэх нь тодорхойгүй нэг мянган адууг ө-ЕЛИЗА болон ХХУ-аар шинжлэхэд ө-ЕЛИЗА шинжилгээний мэдрэх чанар илт илүү байжээ. ө-ЕЛИЗА-аар эерэг урвал үзүүлсэн амьтны тоо ХХУ-ын үр дүнгээс 1.1% (*T. equi*) болон 1.3% (*B. caballi*)-иар тус тус илүү байсны дээр энэ эерэг үзүүлэлт ФЭБШБУ-аар батлагдсан байна. Импортлох үеийн болон импортлохын өмнөх шинжилгээнд гадаад улсаас ирүүлсэн 645 адууны ийлдсэнд дулааны боловсруулалт (58°C-д 30 минут) хийгээд дээрхтэй адил шинжилгээ хийхэд ө-ЕЛИЗА-аар эерэг урвал үзүүлсэн амьтны тоо ХХУ-ын үр дүнгээс 3.6% (*T. equi*) болон 2.1% (*B. caballi*)-иар тус тус илүү байв.

Аль ч ө-ЕЛИЗА шинжилгээний үр дүнгийн тохирц хавтангаас хавтанд, түүний үүрнээс үүрэнд, өдрөөс өдөрт өндөр буюу нийт хэлбэлзэл нь *T. equi* шинжлэхэд ±1.2%, *B. caballi* шинжлэхэд ±1.6% байжээ. ө-ЕЛИЗА шинжилгээний арга зүйг дор оруулав.

Эсрэгтөрөгчийн үйлдвэрлэл, шинжилгээний арга зүйн дэлгэрэнгүй мэдээллийг АНУ-ын ХАА-н департаментийн Үндэсний мал эмнэлгийн албаны лаборатори (2005) бэлтгээд байна. Энд дурдагдсан эсрэгтөрөгч, ижил гарлын эсрэгбиед суурилсан цомог худалдаанд гарсан байна.

2.2.1. Уусмал

i) Эсрэгтөрөгч бүрэх буфер
Нэг литр тутамд дараах хэмжээний бодис ашиглан эсрэгтөрөгч бүрэх буфер шаардагдах хэмжээгээр бэлтгэнэ: 2.93 г натрийн биокарбонат; 1.59 г нарийн карбонат; тэдгээрийг уусгахад хангалттай хэмжээний үлэмж цэвэр ус, уусмалыг үлэмж цэвэр усаар нэг литр болтол дүүргэнэ. pH 9.6 -д тохиргуулна.

ii) ө-ЕЛИЗА угаах уусмал (давс ихтэй уусгагч)
Нэг литр тутамд дараах хэмжээний бодис ашиглан ө-ЕЛИЗА -ын угаах уусмал шаардагдах хэмжээгээр бэлтгэнэ: 29.5 г натрийн хлорид; 0.22 г нарийн нэг суурьт фосфат; 1.19 г нарийн хоёр суурьт фосфат; 2.0 мл Твин 20; тэдгээрийг уусгахад хангалттай хэмжээний үлэмж цэвэр ус, уусмалыг үлэмж цэвэр усаар нэг литр болтол дүүргэнэ. Сайтар холино. pH 7.46 -д тохируулна.

iii) Хромоген субстрат
Диметил сульфидэд 1 мг/мл-ээр 3,3',5,5'- тетраметилбензидин (ТМВ) уусгаж ө-ЕЛИЗА субстратын 0.1% (ж/э)-ийн нөөц уусмал бэлтгэнэ. ТМВ-ий нөөц уусмалыг pH 5.0 бүхий фосфат-цитратын буферээр шингэлэн 10% (э/э) ажлын уусмал бэлтгэнэ. Хэрэглэхийн яг өмнө ТМВ-ий нөөц уусмалд 0.02% (э/э)-иар шинэхэн 30% устөрөгчийн хэт исэл нэмнэ.

2.2.2. Эсрэгтөрөгч бэлтгэх

Гаднын ДНХ суулгаж хувиргаад хөлдөөсөн *E. coli* өсгөврийг 1/10,000 шингэлээд карбенициллин (100 мкг/мл), изопропил-тиоцгалактоцид (ИПТГ, 1 mM) агуулсан бактери өсгөвөрлөх сонгомол бус стандарт шөлөнд (жишээ нь Лаурын шөл) тарина. Өсгөврийг 200 эргэлт минутаар эргэлдүүлэн зайлагч дээр тавьж 37°C-д хонуут өсгөвөрлөнө. Хонуут өсгөвөрлөгдсөн эсийг хурилдуурдах (5000 *g* 10 минут) аргаар хураан авч in 50 mM Трис/HCl болон 5 mM этилен диамин тетра цууны хүчлийн pH 8.0 бүхий буферт (ЭДТА) угаагаад өмнөх аргаар дахин хураалт хийнэ[28].

Эсийг анхны эзлэхүүний 10%-иар Трис/ЭДТА буферт (лизоцим 1 мг/мл-ээр нэмсэн) уусган сэргээгээд мөсөн дээр тавьж 20 минут байлгана. Улмаар угаалгын нонидет P- 40 (NP-40) бодисыг 1% эцсийн төвшрүүлэгтэй (э/э) болтол нэмж вортексээр холиод түүнийг мөсөнд суулган 10 минут байлгана. Шинжлэх материалыг дараа нь мөсөн дээр тавьж 100 ватт хэт авиагаар тус бүр 30 секундээр дөрвөн удаа боловсруулах ба ингэхдээ материалыг байнга хүйтэн байлгах үүднээс хоорондоо 2 минутын завсарлагатайгаар боловсруулна. Боловсруулсан материалыг 10,000 *g* -д 20 минут хурилдуурдана. Тунашийн дээрх шингэнийг хурилдуурын бичил цодонд 0.5 мл-ээр хувааж хийгээд –70°C-д хэдэн жил хадгалж болно. Урвалын орчинд эзэн

[28] АНУ-ын Айова мужийн Амес хотод байрлах Үндэсний мал эмнэлгийн албаны лаборатори (NVSL)-аас авах боломжтой.

амьтны гетеролог бактерийн эсрэгтөрөгч байлаа ч тэр нь адууны хачгийн халуун өвчний үүсгэгчийн эсрэг өвөрмөц эсрэгбиеийн холбогдолтод эсхүл экспреслэгдсэн рекомбинант эсрэгтөрөгчийн зохих эпитоптой хос ИГЭБ холбогдоход нөлөөлөхгүй бөгөөд үүнийг дараах аргаар баталгаажуулна. Тунашийн дээрх шингэнийг түүнд агуулагдах эсрэгтөрөгчийн эсрэг хос ИГЭБ болон адууны хачгийн халуун өвчний үүсгэгчийн дан зүйлийн эсрэг өвөрмөц ийлдсээр таньцлан түүнд агуулагдах эсрэгтөрөгч хангалттай үүссэн эсэх, хачгийн халуун өвчний нэг угсааны үүсгэгчид бүрэн өвөрмөц эсэхийг шалгаж чанарыг баталгаажуулна. Хяналтын хэвийн ийлдэс сөрөг ийлдэс ИГЭБ-ийн эсхүл адууны лавлагааны эерэг ийлдэс экспреслэгдсэн эсрэгтөрөгчийн бэлдмэлтэй холбогдоход нөлөөлөхгүй байх ёстой.

2.2.3. Шинжилгээний аргачлал

i) Бичил таньцын хавтангийн үүрний ханыг эсрэгтөрөгч бүрэх буферт шингэлсэн *T. equi* эсхүл *B. caballi* аль нэг эсрэгтөрөгчөөс 50 мкл авч бүрж бэлтгэнэ. Хийх шингэлэлтийг ийлдэс судлалын таньцлалтын стандарт аргаар тогтооно. хавтанг битүүмжлэлтэй уутанд хийж битүүмжлээд 4°C-д хонуут, эсхүл хөлдөөгөөд –70°C-д хадгална. Хавтанг –70°C-д 6 сар хадгална.

ii) *T.equi* эсхүл *B.caballi* эсрэг анхдагч ИГЭБ, хоёрдох эсрэгбие пероксидазагийн коньюгатыг үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу яг ө-ЕЛИЗА-д хэрэглэх үедээ эсрэгбие шингэлэгч буферээр (шинжилгээний цомогтой хамт нийлүүлэгдэнэ) шингэлнэ.

iii) Хавтанг тасалгааны хэмтэй болтол гэсгээгээд үүрний ханыг бүрсэн уусмалыг зайлуулаад хавтанг ө-ЕЛИЗА угаах уусмалаар хоёр удаа угаана.

iv) Хяналтын ийлдэс болон шинжлэх ийлдэсний дээж ийлдэс шингэлэх буферээр ½ шингэлээд үүр бүрд 50 мкл ийлдэс нэмнэ. Шинжлэх ийлдсийг дан эсхүл хос үүрэнд шинжилнэ. Хяналтын эерэг ийлдэс, хоосон дээжийг хосоор, харин сөрөг ийлдсийг хавтангийн өөр өөр хэсэгт гурван үүрэнд хийж шинжилнэ. Хавтанг таглаад чийгээ барьдаг хайрцагт тасалгааны температурт (21–25°C) 30 минут байлгаад дараа нь ө-ЕЛИЗА угаах уусмалаар гурван удаа угаана.

v) Бүх үүрэнд *T.equi* эсхүл *B.caballi* эсрэг анхдагч, шингэлсэн ИГЭБ (ИГЭБ -ийг эс өсгөвөрлөх зориулалтын төхөөрөмжид үйлдвэрлэсэн ба АНУ, Айова муж, Амес хотод байрлах Үндэсний мал эмнэлгийн албаны лаборатори (NVSL)-аас авах боломжтой) 50 мкл/үүр хэмжээгээр хийнэ. Хавтанг таглаад чийгээ барьдаг хайрцагт тасалгааны температурт (21–25°C) 30 минут байлгаад дараа нь ө-ЕЛИЗА угаах уусмалаар гурван удаа угаана.

vi) Үүр бүрд (50 мкл/үүр) шингэлсэн хулгана-эсрэг IgG пероксидазагийн хоёрдогч коньюгатыг нэмнэ. Хавтанг таглаад чийгээ барьдаг хайрцагт тасалгааны температурт (21–25°C) 30 минут байлгаад дараа нь ө-ЕЛИЗА угаах уусмалаар гурван удаа угаана.

vii) Бүх үүрэнд хромогент энзимийн субстрат (50 µл/үүр) нэмээд өнгө тодрох хугацаанд хавтанг тасалгааны температурт (21–25°C) 15 минут байлгана.

viii) Бүх үүрэнд зогсоох уусмал 50 мкл нэмж өнгөний тодролыг зогсоох ба тэр даруйд хавтан уншигчаар үр дүнг гаргана.

ix) Хавтанг 620, 630, 650 нм долгионы уртад уншина. Хяналтын бүх хос ийлдэсний болон хос хоосон үүрний гэрлийн нягт (OD)-ын дунджийг тооцно. Шинжилгээ баталгаатай бол: сөрөг хяналтын хос дээжийн дундаж OD >0.300 болон <2.000 байх ёстой. Эерэг хяналтын дундаж ≥40% саатал өгнө.

x) Дараах аргаар урвалын саатлын хувийг [%I] тооцно: саатлын % = 100 – [(дээж OD × 100) ÷ (сөрөг хяналтын дундаж OD)].

xi) Хэрэв шинжилсэн дээжийн урвалын сааталт ≥40% байвал эерэг гэж үзнэ. Хэрэв шинжилсэн дээжийн урвалын сааталт <40% байвал сөрөг гэж үзнэ.

2.3. Хавсарга холбох урвал

Зарим улсад олон жил хэрэглэсээр ирсэн ХХУ-ыг зарим бүс нутагт одоо ч өргөн хэрэглэж байгаа боловч түүнийг цаашид импортлох адуунд гэрчилгээ олгох шинжилгээнд хэрэглэхгүй байх зөвлөмж гарчээ. ХХУ зөвхөн халдварыг эрт илрүүлэхэд хэрэглэхэд мэдрэх болон өвөрмөц чанар сайн болох нь харагдсан боловч халдвар авсан бүх амьтныг, тэр дундаа эмээр эмчилсэн эсхүл хавсаргын эсрэг урвал үзүүлдэг эсхүл IgG(T) (адууны овгийн амьтанд байдаг гол иммунглобулины хэвшил) усан-гахайн хавсаргад бэхлэгдэх боломжгүй адууг ялган танихгүй байх магадлалтай. ХХУ-ын эсрэгтөрөгчийг тавлаг байдлыг нь үл алдагдуулах нөхцөлд маллах адуунд зориудын халдвар хийх аргаар бэлтгэнэ. Иймд ХХУ-ыг цаашид хэрэглэхгүй байх магадлалтай болж байгаа ба түүний оронд мал, амьтны шилжилт хөдөлгөөний өмнө, тэр дундаа олон улсын худалдааны өмнө бодгаль амьтны эрүүл мэндийн гэрчилгээ олгох шинжилгээнд хамгийн тохиромжтой ФЭБШБУ, ө-ЕЛИЗА-г хэрэглэх болов.

B. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

Худалдаанд гарсан вакцин одоогоор байхгүй.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

ABEDI V., RAZMI G., SEIFI H. & NAGHIBI A. (2014). Molecular and serological detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infection in horses and ixodid ticks in Iran. *Ticks Tick Borne Dis*., **5**, 239–244.

ALHASSAN A., GOVIND Y., TAM N., THEKISOE O., YOKOYAMA N., INOUE N. & IGARASHI I. (2007). Comparative evaluation of the sensitivity of LAMP, PCR and *in vitro* culture methods for the diagnosis of equine piroplasmosis. *Parasitol. Res.,* **100**, 1165–1168.

ALHASSAN A., PUMIDOHMING W., OKAMURA M., HIRATA H., BATTSETSEG B., FUJISAKI K., YOKOYAMA N. & IGARASHI I. (2005). Development of a single-round and multiplex PCR method for the simultaneous detection of *Babesia caballi* and *Babesia equi* in horse blood. *Vet. Parasitol*., **129**, 43–49.

ALLSOPP M.T., CAVALIER-SMITH T., DE WAAL D.T. & ALLSOPP B.A. (1994). Phylogeny and evolution of the piroplasms. *Parasitol.*, **108**, 147–152.

ALLSOPP M.T., LEWIS B.D. & PENZHORN B.L. (2007). Molecular evidence for transplacental transmission of *Theileria equi* from carrier mares to their apparently healthy foals. *Vet Parasitol*., **148**, 130–136.

BASHIRUDDIN J.B., CAMMÀ C. & REBÊLO E. (1999). Molecular detection of *Babesia equi* and *Babesia caballi* in horse blood by PCR amplification of part of the 16S rRNA gene. *Vet. Parasitol*., **84**, 75–83.

CRIADO-FORNELIO A., MARTINEZ-MARCOS A., BULING-SARANA A. & BARBA-CARRETERO J.C. (2003). Molecular studies on *Babesia, Theileria* and *Hepatozoon* in southern Europe: Part II. Phylogenetic analysis and evolutionary history. *Vet. Parasitol.,* **114**, 173–194.

DE WAAL D.T. (1992). Equine piroplasmosis: a review. *Br. Vet. J.*, **148**, 6–14.

HERR S., HUCHZERMEYER H.F.K.A., TE BRUGGE L.A., WILLIAMSON C.C., ROOS J.A. & SCHIELE G.J. (1985). The use of a single complement fixation test technique in bovine brucellosis, Johne's disease, dourine, equine piroplasmosis and Q fever serology. *Onderstepoort J. Vet. Res*., **52**, 279–282.

HOLBROOK A.A., JOHNSON A.J. & MADDEN B.S. (1968). Equine piroplasmosis: Intraerythrocytic development of *Babesia caballi* (Nuttall) and *Babesia equi* (Laveran). *Am. J. Vet. Res*., **29**, 297–303.

HOLMAN P.J., FRERICHS W.M., CHIEVES L. & WAGNER G.G. (1993). Culture confirmation of the carrier status of *Babesia caballi*-infected horses. *J. Clin. Microbiol.*, **31**, 698–701.

HUANG X., XUAN X., YOKOYAMA N., XU L., SUZUKI H., SUGIMOTO C., NAGASAWA H., FUJISAKI K. & IGARASHI I. (2003). High-level expression and purification of a truncated merozoite antigen-2 of *Babesia equi* in *Escherichia coli* and its potential for immunodiagnosis. *J. Clin. Microbiol.,* **41**, 1147–1151.

IKADAI H., XUAN X., IGARASHI I., TANAKA S., KANEMARU T., NAGASAWA H., FUJISAKI K., SUZUKI N. & MIKAMI T. (1999). Cloning and expression of a 48-kilodalton *Babesia caballi* merozoite rhoptry protein and potential use of the recombinant antigen in an enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.,* **37**, 3475–3480.

KAPPMEYER L.S., PERRYMAN L.E., HINES S.A., BASZLER T.V., KATZ J.B., HENNAGER S.G. & KNOWLES D.P. (1999). Detection of equine antibodies to *Babesia caballi* recombinant *B. caballi* rhoptry-associated protein 1 in a competitive-inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.,* **37**, 2285–2290.

KAPPMEYER L.S., THIAGARAJAN M., HERNDON D.R., RAMSAY J.D., CALER E., DJIKENG A., GILLESPIE J.J., LAU A.O., ROALSON E.H., SILVA J.C., SILVA M.G., SUAREZ C.E., UETI M.W., NENE V.M., MEALEY R.H., KNOWLES D.P. & BRAYTON K.A. (2012). Comparative genomic analysis and phylogenetic position of *Theileria equi. BMC Genomics*, **13**, 603.

KNOWLES D.P., KAPPMEYER L.S., HANEY D., HERNDON D.R., FRY L.M., MUNRO J.B., SEARS K., UETI M.W., WISE L.N., SILVA M., SCHNEIDER D.A., GRAUSE J., WHITE S.N., TRETINA K., BISHOP R.P., ODONGO D.O., PELZEL-MCCLUSKEY A.M., SCOLES G.A.,MEALEY R.H. & SILVA J.C. (2018). Discovery of a novel species, *Theileria haneyi* n. sp., infective to equids, highlights exceptional genomic diversity within the genus *Theileria:* implications for apicomplexan parasite surveillance. *Int. J. Parasitol*., **48**, 679–690.

KNOWLES D.P. KAPPMEYER, L.S. & PERRYMAN L.E. (1997). Genetic and biochemical analysis of erythrocyte-stage surface antigens belonging to a family of highly conserved proteins of *Babesia equi* and *Theileria* species. *Mol. Biochem. Parasitol*., **90**, 69–79.

KNOWLES D.P., KAPPMEYER, L.S., STILLER D., HENNAGER S.G. & PERRYMAN L.E. (1992). Antibody to a recombinant merozoite protein epitope identifies horses infected with *Babesia equi*. *J. Clin. Microbiol.*, **30**, 3122–3126.

KNOWLES D.P., PERRYMAN L.E. & KAPPMEYER L.S. (1991). Detection of equine antibody to *Babesia equi* merozoite proteins by a monoclonal antibody-based competitive inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.*, **29**, 2056–2058.
KUMAR S., KUMAR R., GUPTA A.K., YADAV S.C., GOYAL S.K., KHURANA S.K. & SINGH R.K. (2013). Development of EMA-2 recombinant antigen-based enzyme-linked immunosorbent assay for seroprevalence studies of *Theileria equi* infection in Indian equine population. *Vet. Parasitol,,* **198**, 10–17.

LEVINE N.D. (1985). Veterinary protozoology. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA.

MADDEN P.A. & HOLBROOK A.A. (1968). Equine piroplasmosis: Indirect fluorescent antibody test for *Babesia caballi. Am. J. Vet. Res*., **29**, 117–123.

MEHLHORN H. & SCHEIN E. (1998). Redescription of *Babesia equi* Laveran, 1901 as *Theileria equi* Mehlhorn, Schein 1998. *Parasitol Res*., **84**, 467-475.

ONYICHE T.E., SUGANUMA K., IGARASHI I., YOKOYAMA N., XUAN X. & THEKISOE O. (2019). A Review on Equine Piroplasmosis: Epidemiology, Vector Ecology, Risk Factors, Host Immunity, Diagnosis and Control. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **16**, 1736.

PITEL P.H., PRONOST S., SCRIVE T., LÉON A., RICHARD E. & FORTIER G. (2010). Molecular detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in the bone marrow of asymptomatic horses. *Vet. Parasitol*., **170**, 182–184.

POSADA-GUZMAN M.F., DOLZ G., ROMERO-ZÚÑIGA J.J. & JIMÉNEZ-ROCHA A.E. (2015). Detection of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in blood from equines from four indigenous communities in Costa Rica. *Vet. Med. Int*., **2015**, 236278.

RAMPERSAD J., CESAR E., CAMPBELL M.D., SAMЛAL M. & AMMONS D. (2003). A field evaluation of PCR for the routine detection of *Babesia equi* in horses. *Vet. Parasitol.,* **114**, 81–87.

RHALEM A., SAHIBI H., LASRI S., JOHNSON W.C., KAPPMEYER L.S., HAMIDOUCH A., KNOWLES D.P. & GOFF W.L. (2001). Validation of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosing *Babesia equi* infections of Moroccan origin and its use in determining the seroprevalence of *B. equi* in Morocco. *J. Vet. Diagn. Invest*., **13**, 249–251.

RIBEIRO I.B., CÂMARA A.C., BITTENCOURT M.V., MARÇOLA T.G., PALUDO G.R. & SOTO-BLANCO B. (2013). Detection of *Theileria equi* in spleen and blood of asymptomatic piroplasm carrier horses. *Acta Parasitol*., **58**, 218–222.

SCHEIN E., REHBEIN G., VOIGT W.P. & ZWEYGARTH E. (1981). *Babesia equi* (Leveran, 1901). Development in horses and in lymphocyte culture. *Троенмед Parasitol.*, **32**, 223–227.

SCOLES G.A., HUTCHESON H.J., SCHLATER J.L., HENNAGER S.G., PELZEL A.M. & KNOWLES D.P. (2011). Equine piroplasmosis associated with *Amblyomma cajennense* Ticks, Texas, USA. *Emerg. Infect. Dis*., **17**, 1903–1905. doi: 10.3201/eid1710.101182.

SHKAP V., COHEN I., LEIBOVITZ B., SAVITSKY, PIPANO E., AVNI G., SHOFER S., GIGER U., KAPPMEYER L.& KNOWLES D. (1998). Seroprevalence of *Babesia equi* among horses in Israel using competitive inhibition ELISA and IFA assays. *Vet. Parasitol*., **76**, 251–259.

TENTER A.M. & FREIDHOFF K.T. (1986). Serodiagnosis of experimental and natural *Babesia equi* and *B. caballi* infections. *Vet. Parasitol*., **20**, 49–61.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA) (2005). Competitive ELISA for Serodiagnosis of Equine Piroplasmosis (*Babesia equi* and *Babesia caballi)*, USDA, Animal and Plant Health Inspection Service, Veterinary Services, National Veterinary Services Laboratories, Ames, Iowa, USA.

XUAN X., LARSEN A., IDADAI H., TNANKA T., IGARASHI I., NAGASAWA H., FUJISAKI K., TOYODA Y., SUZUKI N. & MIKAMI T. (2001). Expression of *Babesia equi* merozoite antigen 1 in insect cells by recombinant baculovirus and evaluation of its diagnostic potential in an enzyme-linked immunosorbant assay. *J. Clin. Microbiol*., **39**, 705–709.

ZWEYGARTH E., JUST M.C. & DE WAAL D.T. (1997). *In vitro* cultivation of *Babesia equi:* detection of carrier animals and isolation of parasites. *Onderstepoort J. Vet Res.*, **64**, 51–56.

*

* *

ЖИЧ: Адууны пироплазмоз өвчнийг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори бий.
(ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас мэдээлэл авна уу:
https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

Адууны пироплазмоз өвчнийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудтай холбогдож авна уу.

ЖИЧ: 1989 ОНД АНХ, 2021 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

БҮЛЭГ 37 (3.6.8)

АДУУНЫ РИНОПНЕВМОНИ (ВАРИЦЕЛЛОВИРУС ЭКВИДАЛЬФА-1 -ийн ХАЛДВАР)

А. УДИРТГАЛ

Адууны ринопневмони (АРП) гэж амьсгалын замын өвчин, хээл хаялт, нялх унаганы уушгины үрэвсэл, нугас тархины үрэвсэл гэсэн адууны хэд хэдэн өвчнийг хамруулан нэрлэж ирсэн уламжлалт нэршил (Allen нар, 1999) юм. Энэ өвчин нь олон улсын адууны аж ахуйн салбарт ихээхэн аюул хохирол учруулдаг болохыг хүлээн зөвшөөрсөн бөгөөд хуучнаар адууны овгийн амьтны альфахерпесвирус 1 болон 4 (АХВ-1 болон АХВ-4) гэж нэрлэгдэж байсан *Herpesviridae* овгийн хоёр төрлийн вирусийн аль нэгээр үүсгэгдэнэ. Эдгээр вирусийг эдүгэ Варицелловирус эквидальфа-1 болон Варицелловирус эквидальфа-4 хэмээн ангиллах болсон ба энэ бүлгийн хүрээнд АХВ-1 болон АХВ-4 гэсэн хуучин нэршлийг хэрэглэв. АХВ-1 болон АХВ-4 нь нэг төрлийн гомолог генийн доторх нуклеотид 55%-аас 84% хүртэл ижилхэн, амин хүчил 55%-аас 96% хүртэл ижилхэн, хоорондоо ойр хамааралтай адууны альфахерпесвирусүүд юм (Telford нар, 1998). АХВ-1 огт илэрч байгаагүй Исландыг эс тооцвол (Thorsteinsdóttir нар, 2021) энэ хоёр херпесвирус уламжлалт соёл, амьжиргааны эх үүсвэрийн нэгээхэн хэсэг нь болж ирсэн адуун сүргийн томоохон популяцийг адгуулан маллаж байдаг бүх улс оронд эндемик тархалттай гэж үздэг. Эдгээр үүсгэгчтэй харьцан ажилладаг хүмүүст адууны ринопневмонийн херпесвирус эрүүл мэндийн аливаа эрсдэл үүсгэсэн нотолгоо бүртгэгдээгүй. АХВ-1 халдвар ДМАЭМБ-ын тусгай ангиллын өвчинд багтдаг тул энэ бүлэгт энэ вирусийн халдварыг голчлон авч үзнэ.

Хамт маллагдаж байгаа ижил ангиллын бүлэг амьтанд вирус агуулсан амьсгалын замын шүүрлээр агаар дуслаар дамжин вирус халдварлана. Амьсгалах орчин давчуу нөхцөлд хамт маллагдаж байгаа өсвөр адуу өвчлөх нь хамгийн их байна. Халдвартай гүүний зулбадас, ихсийн шингэн амьд вирус маш ихээр агуулах ба халдварын гол эх үүсвэр болно. Өргөн хүрээнд вакцин хэрэглээд АХВ-1-ийг арилгаж чадаагүй ба адууны энэ эмгэг төрүүлэгчээс дэлхий нийтэд учрах эдийн засгийн хохирол анхаарал татахуйц юм.

Гурваас доош насны бага адуунд ринопневмони өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдэг ихэвчлэн халуурал, амьсгалын эрхтний цочмог эмгэгшлээр эхэлж тухайн сүрэгтээ түргэн тархана. Энэ вирус амьсгалын замын салст бүрхэвчийн хучуур эсэд халдварлаж тэнд үржин олширно. Вирусийн халдвар авснаас хойш 2-8 хоногт халууран, идэш тэжээлдээ дургүй болж хамраас шингэн гоожиж халдвар авсны шинж тэмдэг тод илэрнэ. Амьсгалын эрхтнүүд хэр хүндээр эмгэгших нь адууны нас, өмнөх вакцинжуулалт эсхүл байгалийн халдварын улмаас тогтсон дархлааны хамгаалалтын түвшнээс хамаарна. АХВ-1 халдварын үед ижил зайтай хоёр удаа халуурах, вирус цусанд үжих, хүндрэх нь АХВ-4 халдварынхаас илүү тохиолдох магадлалтай. АХВ-1-ийн халдварын шинж тэмдэг бага адуунд ч гэсэн илрэхгүй байх нь элбэг. Хүндрээгүй тохиолдолд АРП өвчнөөр хорогдох нь ховор ба 1-2 долоо хоногийн дараа бүрэн сэргэж хэвийн байдалдаа ордог хэдий ч амьсгалын замын халдвар олон удаа дэгдвэл дасгал сургуулилт, уралдаан тэмцээн, адуутай холбоотой бусад нийтийн арга хэмжээнд оролцох адуунд зориулан төлөвлөсөн арга хэмжээ тасрах томоохон шалтгаан болдог. Байгалийн халдвар авсны дараа тогтох дархлааны бүрэн хамгаалалт түр зуурынх, өвчилж өнгөрсөн адуу хэдхэн сарын дараа АХВ-1 дахих халдварт мэдрэмтгий хэвээр байна. Хэдийгээр дахин халдварлахад амьсгалын эрхтний өвчин хөнгөвтөр эсхүл эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлэхгүй байх боловч дараа нь хээл хаях, мэдрэлийн өвчин тохиолдох эрсдэл хэвээр байна. Бусад херпесвирусийн адилаар АХВ-1-ийн далд халдвар удаан үргэлжлэх ба энэ үедээ бусад адуунд халдвар тараах магадлалтай. Стрессийн үр дүнд вирус дахин идэвхжиж болно. Амьсгалын замын эрхтний АХВ-1 халдварын улмаас хээл хаях, мэдрэлийн үйл ажиллагаа хямардаг учраас АРП эмнэл зүйн хэлбэрээр тохиолдвол адуу үржүүлэх, түүнийг уралдаан тэмцээн, аялал зугаалгад ашиглах үйл ажиллагаанд бодит бэрхшээл учруулна. Дэлхий дахинаа жил бүр АРП-ийн улмаас адууны популяцид хээл хаях нь алаг цоог эсхүл олноор тохиолдоно. Халдвар авсан хээл амьд төрөх боловч, төрснөөсөө хойш хэдхэн хоногийн дотор үхэж болзошгүй. Хэдийгээр хээл хаях хэлбэрээр үүсдэг өвчлөлийг бодвол бага тохиолддог ч EHV-1-ээр үүсэх мэдрэлийн өвчний тохиолдол болон түүнтэй холбоотой хорогдол дэлхий даяар бүртгэгдээд байна. Энэ өвчин дэгдэхэд

шилжилт хөдөлгөөнийг хязгаарлах, зарим тохиолдолд морины уралдаан, тэмцээнийг цуцлахад хүрдэг (Couroucé нар, 2023; FEI, 2021).

Омгийн хэвшил тогтоох нь АХВ-1 халдварын эмнэл зүйн үр дагаврыг урьдчилан таамаглахад найдвартүй арга болох нь тогтоогдсон ч эпидемиологийн судалгаанд ач холбогдолтой байж боломжтой (Garvey нар, 2019; Nugent нар, 2006; Sutton нар, 2019).

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

АХВ-1 амьсгалын замаар дамжин халдварлах бөгөөд ялангуяа амьсгалах агаар нэгтэй орон зайд олон тооны адууг байрлуулан маллаж байгаа тохиолдолд халдвар тархах өндөр боломжтой. АХВ-1 хээл хаялт, мэдрэлийн өвчний гэнэтийн дэгдэлт үүсгэнэ. Ийм учраас өвчний эсрэг хариу арга хэмжээ авахад оношилгоог шуурхай хийх зайлшгүй шаардлагатай. Түргэн бөгөөд мэдрэмтгий учраас дэлхий даяар оношилгооны лабораториуд бодит цагийн полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ) тогтмол хэрэглэж байна. АХВ-1 болон халдварласан вирусийн ачааллыг тоон утгаар илрүүлэх зориулалттай бодит цагийн ПГУ-ыг боловсруулсан бөгөөд энэ арга нь дийлэнх лабораторид вирус ялгах аргыг оронд оношлох шинжилгээний үндсэн арга болжээ. АХВ-1-ээр үүссэн хээл хаялт болон нялх унаганы хорогдолын тохиолдлын үед вирус үржин эдэд өндөр түвшинд хүрч ихэвчлэн 1-3 хоногийн дотор эс эмгэгшүүлэх нөлөө үзүүлдэг учир эдгээр тохиолдлын үед вирус ялган авах нь одоо ч мөн чухал юм. АХВ-ээр үүсгэгдэх хээл хаялтыг шинэ эдийн эсхүл зүсмэг хийхэд зориулан цутгасан эдийн дээжид иммунгистохимийн эсхүл иммунфлюресценцийн аргаар түргэн оношлох зорилгоор зарим лабораторид хэрэглэж байна. Ийлдэс судлалын шинжилгээнд вирус саармагжуулах урвал (ВСУ) болон хавсарга холбох урвал (ХХУ)-ыг хамгийн өргөн хэрэглэдэг бөгөөд нэг адуунаас хоёр өөр хугацаанд авч бэлтгэсэн ийлдсийн хоёр дээжид эсрэгбиеийн урвал илрэх нь байгалийн халдвараар эсхүл вакцинжуулалтаар вирус халдварласныг илтгэнэ.

Хүснэгт 1. АХВ-1-ийн халдварыг оношлоход ашиглаж буй арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	**Зорилго**					
	Популяци халдваргүйг тогтоох[а]	Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох[б]	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх[в]	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах[г]	Халдварын тархалт тогтоох тандалт[д]	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох[е]
Үүсгэгчийг ялган тогтоох [ё]						
Вирус ялгах	–	++	–	++	–	–
ПГУ	–	+++	–	+++	–	–
Шууд иммун флюресценц	–	–	–	++	–	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ВСУ	++	++	–	++	+++	+++
ЕЛИЗА	+	+с	–	++	++	++
ХХУ	–	–	–	++	–	+++

Түлхүүр үг:
+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
++ энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй;
ПГУ = полимеразагийн гинжин урвал
ВСУ = вирус саармагжуулах урвал
ЕЛИЗА= энзим холбоост дархлааны урвал;
ХХУ = хавсарга холбох урвал;

[а] Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээнд өгсөн онооны үндэслэлийн хүснэгтийг энэ бүлгийн 1-р хавсралтаас үзнэ үү.
[б] Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээнд өгсөн онооны үндэслэлийн хүснэгтийг энэ бүлгийн 2-р Хавсралтаас үзнэ үү.
[в] Адууны ринопневмони өвчнийг устгах бодлого байхгүй.

(г) Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээнд өгсөн онооны үндэслэлийн хүснэгтийг энэ бүлгийн 4-р хавсралтаас үзнэ үү.
(д)Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээнд өгсөн онооны үндэслэлийн хүснэгтийг энэ бүлгийн 5-р хавсралтаас үзнэ үү.
(е) Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээнд өгсөн онооны үндэслэлийн хүснэгтийг энэ бүлгийн 6-р хавсралтаас үзнэ үү.
(ё) Үүсгэгчийг ялган тогтоох төрөл бүрийн шинжилгээг эмнэл зүйн нэг ижил сорьцод хийнэ.

1. Үүсгэгч илрүүлэх

1.1. Сорьц цуглуулах, бэлтгэх

Хамар/хамар залгиурын арчдас: нийтлэгдсэн янз бүрийн аргын аль нэгээр эсхүл худалдаанд гарсан бэлэн цомог (дор үзэх) ашиглан арчдасны ханднаас ДНХ ялгах, улмаар ПГУ-аар вирус илрүүлнэ. Арчдасны ханднаас вирус бас ялган авч болно. Амьд вирус ялган авах боломжийг нэмэх үүднээс арчдасыг өвчний цочмог үед адууны хамрын нүхээр тухайн адуунд таарах хэмжээ, урттай бойтуур оруулан арчдас авах нь хамгийн сайн арга юм. Авсны дараа арчдасыг хүйтэн (хөлдөөж болохгүй) 3 мл зөөвөрлөх орчинд (ө.х. ФБУ [фосфатын буфержүүлсэн давсны уусмал] эсхүл ийлдэсгүй, антибиотиктой МЕМ [minimal essential medium]) хийгээд вирус судлалын лабораторид яаралтай илгээнэ. Үхрийн ийлдэсний альбумин, тугалын хээлийн ийлдэс эсхүл желатин 0.1% (ж/э)-иар нэмбэл вирусийн халдварлах чанар уртасна.

Эдийн дээж: худалдаанд гарсан хэд хэдэн цомгийг ашиглан нийт ДНХ ялган авах ба вирусийн ДНХ илрүүлэх (доорх Б.1.2 хэсэгт тодорхойлов) ПГУ-д ашиглана. АХВ-1 халдварын улмаас хээл хаясан гэж сэжиглэсэн тохиолдлоос ихэс, хээлийн элэг, уушги, сэрээ булчирхай, бөөрний дээд булчирхай, дэлүүний сорьцыг үжилгүй цэвэр нөхцөлд авсан тохиолдолд вирусийг ялгаж авах хамгийн боломжтой байдаг. АХВ-1-ээр үүссэн мэдрэлийн өвчтэй адууны задлан шинжилгээнээс авсан тархи, нугасны дээжээс хийсэн өсгөврөөс вирус ялган авч болох ч ийм оролдлого ихэнхдээ амжилтад хүрдэггүй. Гэхдээ эдгээр дээж нь ПГУ-ын шинжилгээ болон эмгэг бие бүтцийн шинжилгээнд хэрэгтэй материал болно. Эдийн дээжийг лабораторид илгээж эсийн өсгөвөрт халдварлуулах хүртэл 4°С-д байлгана. Сорьцыг хэдэн цагт багтаан боловсруулж чадахааргүй бол –70°С-д хадгална.

Цус: цусны цагаан эсээс вирусийг ПГУ-аар илрүүлэх эсхүл вирус ялгахын тулд цус үл бүлэгнүүлэгч гепарин аль эсхүл ЭДТА [этилен диамин тетра-цууны хүчил] ашиглан үжилгүй аргаар цусны 10-20 мл сорьц авна. Гепарин ДНХ-ийн полимеразаг саатуулж болзошгүй тул зарим лаборатори ПГУ-ын шинжилгээнд цус үл бүлэгнүүлэгчээр ЭДТА ашиглахыг чухалчилдаг. Сорьцыг хөлдөөхгүйгээр мөсөөр хамгаалж лабораторид цаг алдалгүй хүргэнэ.

Тархи нугасны шингэн: Мэдрэлийн өвчний тохиолдлын үед тархи нугасны шингэнд АХВ-1-ийн ДНХ-ийг илрүүлсэн тухай мэдээлсэн нь бий.

1.2. Полимеразагийн гинжин урвалаар вирус илрүүлэх

ПГУ нь эмнэл зүйн дээжид халдвартай вирус байх эсэхээс үл хамааран оношлох түргэн, мэдрэмтгий арга юм.

ПГУ-ын аргуудыг хамар залгиурын арчдас, эдийн дээжид АХВ-1-ийн ДНХ илрүүлэхэд тогтмол хэрэглэх болжээ. Эдгээр нь ялангуяа хээл хаялт, амьсгалын болон мэдрэлийн өвчний гэнэтийн дэгдэлтийн үед шилжилт хөдөлгөөнийг хязгаарлахаас эхлээд уг өвчинтэй хэрхэн тэмцэх стратегийг удирдан хэрэгжүүлэхэд чухал ач холбогдолтой байдаг вирусийн тархалтыг богино хугацаанд тогтоож хяналт-шинжилгээ хийхэд нэн хэрэгтэй арга юм. Мэдрэлийн хямралын шинж тэмдэг үзүүлж өвчилсөн адуунд оношт тогтооход нурууны нугас, тархины эд, түүнчлэн захын цусны дан бөөмт эс (ЗЦДБЭ)-ийг ПГУ-аар шинжлэх нь ач холбогдолтой юм (Pronost нар, 2012).

Бодит цагийн (эсхүл тоон) ПГУ дийлэнх лабораторийн сонгон хэрэглэдэг арга болсон ба вирусийн ДНХ-ийг түргэн, өндөр түвшинд мэдэрч илрүүлнэ. Шинжилгээнд үхсэн унага, бие гүйцсэн адууны болон гүүний хаясан хээлийн задлан шинжилгээнээс авсан эдийн (уушги, элэг, дэлүү, сэрээ булчирхай, бөөрний дээд булчирхай, ихэс) сорьц ашиглана. Амьсгалын замаас авах сорьцод: адууны хамар залгиурын арчдас, хамрын угийн арчдас (вирус зөөвөрлөлтийн тохирох орчинд хийж илгээнэ), цагаан эсийн хөвмөл (бафи коат), мөгөөрсөн хоолойн зайлаадас, уушгины гуурсан хоолой, цулцангийн зайлаадас тус тус тохиромжтой. Эдгээр дээжээс ДНХ-ийг тохирох цомог эсхүл автомат машинд оруулж ялган авна.

АХВ-1-ийг илрүүлэх бодит цагийн ПГУ-ын олон улсад стандартчилагдсан арга байхгүй ч хамгийн өргөн хэрэглэгддэг зарим шинжилгээний праймер болон пробын дарааллыг 2-р

хүснэгтэд нэгтгэн харуулав. АХВ-1 болон АХВ-4-ийг хооронд нь ялгаварлах зорилгоор төрөл-өвөрмөц ПГУ-ын праймеруудыг зохиосон байна. Дулаан сэлгэх оновчтой хугацаа, температурыг эш татсан нийтлэлүүдэд дурдсан болно.

Хүснэгт 2. Бодит цагийн ПГУ-аар АХВ-1 илрүүлэх праймер, пробын дараалал

Праймер	Праймерийн дараалал (5’ to 3’)	Онилсон ген	Лавлагаа
Хөтлөх	CAT-ACG-TCC-CTG-TCC-GAC-AGA-T	EHV-1 gB	Hussey нар, 2006
Буцаах	GGTACTCGGCCTTTGACGAA		
Проб	FAM-TGA-GAC-CGA-AGA-TCT-CCT-CCA-CCG-A-BHQ1		
Хөтлөх	TAT-ACT-CGC-TGA-GGA-TGG-AGA-CTT-T	EHV-1 gB	Pusterla нар, 2009
Буцаах	TTG-GGG-CAA-GTT-CTA-GGT-GGT-T		
Проб	6FAM-ACA-CCT-GCC-CAC-CGC-CTA-CCG		
Хөтлөх	GCG-GGC-TCT-GAC-AAC-ACA-A	EHV-1 gC	ДМАЭМБ-ын Лавлах лабораторид АХВ-1 илрүүлэхээр ISO 17025 магадлан итгэмжлэгдсэн
Буцаах	TTG-TGG-TTT-CAT-GGG-AGT-GTG-TA		
Проб	FAM-TAA-CGC-AAA-CGG-TAC-AGA-A-BHQ1		

* Бодит цагийн ПГУ-д зориулсан лавлагаа материал болон дээжийн багцыг ДМАЭМБ-ын Лавлах лабораториос авах боломжтой.

- **Мал эмнэлгийн үйлчилгээний цэг дээр хийх молекул шинжилгээ**

АХВ-1-ийг илрүүлэх зориулалттай изотермийн орчинд ДНХ олшруулах (LAMP) шинжилгээний аргыг тодорхойлсон байна (Nemoto нар, 2011). Бодит цагийн ПГУ-тай харьцуулахад АХВ-1-ийг илрүүлэх эрлийзжүүлсэн пробд суурилсан тусгаарласан изотермийн ПГУ-ын (iiPCR) шинжилгээ мэдрэх болон өвөрмөц чанараараа өндөр болох нь харагджээ (Balasuriya нар, 2017). Гэвч энэ төрлийн молекул шинжилгээг цааш баталгаажуулах шаардлагатай.

- **Молекул шинж чанарыг тодорхойлох**

Мэдрэлийн болон мэдрэлийн бус эмгэг төрүүлэгч АХВ-1-ийн омгуудыг хооронд нь ялгаварлахаар анхлан санал болгож байсан дан ганц нуклеотидын полиморфизмыг тогтоодог, аллель ялгаварлах бодит цагийн ПГУ-ын шинжилгээний аргыг боловсруулсан байна (Smith нар, 2012). Гэсэн хэдий ч дэлхийн олон оронд хийсэн судалгаа шинжилгээгээр нэг нуклеотид нөгөөгөөр солигдох нь мэдрэлийн эмгэг төрүүлэх чанар нэмэгдсэн эсэхийг найдвартай илтгэж чаддаггүй болохыг харуулжээ. Мултилокусын дараалал тогтоох, геномын дараалал тогтоох нь молекул эпидемиологийн судалгаанд ач холбогдолтой (Garvey нар, 2019; Nugent нар, 2006; Sutton нар, 2019).

1.3. Вирус ялган авах

Дийлэнх оношилгооны лабораториуд вирус ялгах аргыг АХВ-1 илрүүлэх тогтмолжсон шинжилгээ болгон ашиглахаа больсон хэдий ч ихэвчлэн тандалт, судалгааны зорилгоор түлхүү хэрэглэж байна. АХВ-1-ийг ялгахад хэд хэдэн төрлийн эсийг ашиглаж болно (ж.нь: туулайн бөөрний эс [RK-13 (AATC–CCL37)], үхэр зусгийн гөлчгийний бөөрний эс [BHK-21], үхрийн бөөрний Мадин-Дарби эс [MDBK], гахайн бөөрний эс [PK-15] гэх мэт). Мөн энэ зорилгоор RK13 эсийг нийтлэг ашигладаг.

Эсийн өсгөврийн колбо эсхүл хавтанд шинээр бэлтгэсэн дан үе эсэд хамар залгиурын арчдасны хандаар эсхүл жижиглэн жигдрүүлсэн эд: элэг, уушги, сэрээ булчирхай, бөөрний дээд булчирхай, дэлүү (зулбадас/үхсэн нярай унаганаас авсан)-ний эд эсхүл тархи, нурууны нугасны (мэдрэлийн өвчний тохиолдлоос) сорьцоос ойролцоогоор тус бүр 10%-иар (ж/э) орохоор нийлүүлж жижиглэн жигдрүүлсэн эдээр халдвар хийнэ. Ийнхүү өсгөвөрлөснөөр халдвар хийсэн дан үе эсэд бэхлэгдэх ба үүний дараагаар халдварлуулсан зүйлийг аваад дан үе эсийг ФБУ эсхүл тогтворжуулагч тэжээлт орчноор хоёр удаа зайлна. Вирус халдварлуулаагүй хяналтын дан үе эсийг зэрэгцүүлэн өсгөвөрлөнө. Эсийн өсгөвөрт шаардагдах нэмэлт бодис бүхий тэжээлт орчныг (2% үхрийн хээлийн ийлдэс [ҮХИ] болон антибиотик/мөөгөнцрийн эсрэг бодис [пенициллин, стрептомицин, гентамицийн, амфотерицин Б]) стандарт тунг 2 удаа нэмсний дараа колбыг 37°C-д байлгана.

Ялган авах аргачлалыг баталгаажуулах зорилгоор харьцангуй бага таньцтай эерэг хяналт хэрэглэж болох ба ингэхдээ оношилгооны дээжийг бохирдуулахаас сэргийлж тусад нь хэрэглэнэ. Халдвар хийсэн колбыг өдөр бүр микроскопоор харж херпесвирусийн үзүүлдэг эс эмгэгшүүлэх онцлог нөлөө (ЭЭН)-ний (толбо үүсэх, гэрэл хугалах чанар ихсэх, эс ховхрох) илрэлийг шалгана. Долоо хоног өсгөвөрлөсний дараа эс эмгэгшүүлэх вирусийн нөлөө илрэхгүй байгаа өсгөврийн тухайд өсгөврийн тэжээлт орчин, эсээс жижиг хэмжээгээр авч хамтад нь шинэхэн бэлтгэсэн дан үе эсэд халдварлуулан таамгаар зорчуулна. Дахин цааш таамгаар зорчуулах нь ихэвчлэн үр дүнгүй байдаг.

Цусны сорьц: ЗЦДБЭ-ээс АХВ-1-ийг ялгана. Бүлэгнээгүй (гепаринжүүлсэн) цусыг 525 *g* хурдаар 5 минут хурилдуурдана. Сийвэнг болгоомжтой зайлуулсны дараа цагаан эсийн хөвмөлийг авч 2% ҮХИ бүхий 3 мл МЕМ орчноор гурван удаа угаана (525 *g* хурдаар 5 минут). Гурав дахь угаалтын дараа цагаан эсийн хөвмөлийг хураан авч 2% ҮХИ бүхий 2.5 мл МЕМ орчинд цийдмэгжүүлнэ. Зайлагдсан эсийн цийдмэгээс жижиг хэсгийг ДНХ ялган хандлахад хэрэглэж болно. Харин вирус ялгахад эсийн цийдмэгийг (1мл) 25 см^2 колбод шинэхэн бэлтгэсэн адууны уушгины анхдагч эсийн эсхүл RK-13 эсийн цийдмэгт (5 мл) хамтад нь ургуулна. Битүү ургалттай эсийн дан үеийг хэрэглэхгүй. Колботой зүйлийг 5% CO_2 бүхий орчинд 37°С-д 3 хоног эсхүл эс 90% зайгүй үргэлжилсэн ургалттай болтол өсгөвөрлөнө. Дараагаар нь дан үе эсийг 1× БФУ-аар гурван удаа зайлж, 2% ҮХИ бүхий 5 мл МЕМ нэмнэ. Тэдгээрийг үргэлжлүүлэн 4 хоног өсгөвөрлөх ба вирусийн ЭЭН-г өдөр бүр шалгана. Дээжийг нэг долоо хоног өсгөвөрлөхөд вирусийн ЭЭН илрэхгүй байсан ч түүнийг сөрөг гэж хаяхаасаа өмнө хоёрдох удаагаа зорчуулна.

Ялган тогтоосон вирусийг ПГУ эсхүл өвөрмөц эрэг ийлдэс ашиглан иммунфлюресценцийн аргаар баталгаажуулж болно. Эерэг өсгөврөөс ялган авсан вирусийн омгийн шинж чанарыг судлуулах болон гарал үүслийн олон янз байдлын архивд хадгалуулахаар ДМАЭМБ-ын лавлах лабораторид илгээх хэрэгтэй.

1.4. Шууд иммунфлюресценцийн аргаар вирус илрүүлэх

Зулбадас, ихсийг задлан шинжилж цуглуулсан дээжид шууд иммунфлюресценцийн аргаар АХВ-1-ийн эсрэгтөрөгч илрүүлснээр херпесвирусээс шалтгаалсан хээл хаялтын анхны оношийг түргэн тогтооно (Gunn, 1992). Нэг ижил дээж шинжилсэн тохиолдолд оношилгооны найдваршлын хувьд энэ арга вирус ялгах аргынхтай дүйцнэ.

Америкийн Нэгдсэн Улсад (АНУ) АХВ-1-ийн гахайд бэлтгэж ФИТЦ-тэй коньгатласан олон гарлын эсрэг ийлдсийг мал эмнэлгийн оношлох лабораториудад дээрх зорилгоор АНУ-ын Хөдөө аж ахуйн департамент (АНУ-ын ХААД)-ын Мал эмнэлгийн үйлчилгээний үндэсний лабораториос авах боломжтой. Энэ ийлдэс АХВ-4-тэй солбицох урвалд орох учир ийлдсэн хэвшил тогтооход хэрэглэгдэхгүй боловч вирусээр эерэг аливаа дээжийг ПГУ-аар шинжилж вирусийн хэвшлийг тогтоож болно.

Хээлийн эдийг (уушги, элэг, сэрээ булчирхай, дэлүү) шинээр жижиглэн (5 × 5 мм) хөлдөөсний дараа –20°С-д криостатаар зүсмэг хийж тавиур шил дээр бэхлэн 100% ацетоноор бэхжүүлнэ. Агаарт хатаасны дараа зүсмэгийг АХВ-1-ийн гахайд бэлтгэж коньюгатлаж тохируулан шингэлсэн эсрэгбиеийн хамт чийглэг агаартай нөхцөлд 37°С-д 30 минут байлгана. ФБУ-д хоёр удаа угааж урвалд оролгүй үлдсэн эсрэгбиеийг зайлуулаад эдийн зүсмэгийг тавиур шил дээр усан тэжээлт орчноор бэхлэн бүрхүүл шилээр бүрхэж АХВ-ийн эсрэгтөрөгч байгааг илтгэх флюресцент эсрэгбие байгаа эсэхийг шалгана. Шинжилгээ хийх бүрдээ АХВ-1-ийн халдвартай болон халдваргүй нь тогтоогдсон хээлийн эдээс бэлтгэсэн эерэг болон сөрөг хяналтын зүсмэгийг хамт шинжилнэ.

1.5. Иммунпероксидазагаар будах аргаар вирус илрүүлэх

Иммунпероксидаза зэрэг иммунгистохимийн будах аргыг зулбадас, ихсийн эсхүл мэдрэлийн өвчтэй адууны бэхжүүлсэн эдийн дээжид АХВ-1-ийн эсрэгтөрөгчийг илрүүлэхэд зориулан боловсруулсан байна (Schultheiss нар, 1993; Whitwell нар, 1992). Ийм аргыг дээр дурдсан иммунфлюресценцийн аргын хувилбар болгон ашиглаж болох ба архивд хадгалагдаж байгаа хөлдөөсөн эсхүл бэхжүүлсэн эдийн дээжийг энэ аргаар шинжлэхэд хялбархан байдаг. АХВ-1-д зориулсан иммунгистохимийн будах арга нь ялангуяа вирусийг ялган тогтоохоос гадна гэмтсэн эдийн хэлбэр зүй аль алиныг тогтооход ач холбогдолтой. АХВ-1-ийг иммунпероксидазагаар будах аргыг халдвар хийсэн дан үе эсэд бас хэрэглэж болно. Уг аргын мэдрэх болон эсрэгбиеийн өвөрмөц аль аль чанарыг үнэлэхийн тулд иммунпероксидазагаар будах аргаар шинжилгээ хийх бүрдээ шаардлага хангасан

хяналтуудыг хэрэглэх ёстой. Будах аргад өвөрмөц бус олон гарлын ийлдэс ашиглаж байгаа бол АХВ-1 болон АХВ-4-ийг хооронд нь ялгаварлахад вирус ялгах арга эсхүл ПГУ-ыг хослуулан хэрэглэх хэрэгтэй.

1.6. Эмгэг бичил бүтцийн шинжилгээ

Зулбадаснаас авч бэхжүүлсэн ихэс, уушги, элэг, дэлүү, бөөрний дээд булчирхай, сэрээ булчирхай, мэдрэлийн үйл ажиллагааны хямралтай адуунаас авсан тархи, нугасны зүсмэгт эмгэг бичил бүтцийн шинжилгээ хийнэ. Зулбадасны гуурсан хоолойн хучуур эд эсхүл элэгт үүссэн үхжилийн захын эсийн бөөм дотор эозинофилийн биенцэр орших нь херпесвирусийн халдвар гэж оношилж болох өөрчлөлт юм. АХВ-1-ээс шалтгаалсан мэдрэлийн эмгэгийн үеийн хэв шинжит бичил хувиралт нь тархи, нугасны жижиг судаснуудын сөнөрөлт бөглөрөл (тархины судасны гадна талаар үрэвслийн эс хуримтлагдах, нэвчих, судасны дотор ханын эс үржин олшрох, үхжих, бүлэн тогтох) юм.

2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ

Дэлхийн ихэнх хэсэгт АХВ-1 болон АХВ-4 эндемик бөгөөд ийлдсийн эерэг урвалын тархалт өндөр учраас нэг адуунаас хоёр өөр хугацаанд авч бэлтгэсэн ийлдсийн дээжийг ийлдэс судлалын аргаар шинжилж харьцуулах нь АРП өвчнийг оношлоход ач холбогдолтой. Өвчний цочмог болон эдгэрсний дараах үед авсан ийлдэсний хоёр дээжийн эсрэгбиеийн таньц ихээхэн нэмэгдсэн (дөрөв дахин эсхүл түүнээс дээш) нотолгоог үндэслэн өвчтэй гэж оношилно. Зөвхөн нэг удаа авсан дээжийг шинжлээд гарсан үр дүнг боловсруулахад ихэнх тохиолдолд үнэмшилгүй болдог. Ийлдэсний анхны сорьц өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрсний (цочмог үе) дараа аль болохоор удалгүй авах ба хоёрдох (эдгэрэх үе) ийлдэсний сорьцыг 2-4 долоо хоногийн дараа авна.

Хээл хаясан гүүнээс эсхүл АХВ-1-ээс шалгаалсан мэдрэлийн өвчтэй адуунаас авсан “цочмог үе”-ийн ийлдсэнд АХВ-1-ийн эсрэгбие аль хэдийнээ хамгийн өндөр таньцтайгаар агуулагдаж болох ба хоёрдох удаа авсан ийлдсэнд илрэх таньц өсөөгүй байна. Ийм тохиолдолд тухайн сүрэг дэх эмнэл зүйн шинж тэмдэг адилхан үзүүлээгүй бүлгийн адуунаас хоёр өөр хугацаанд авч бэлтгэсэн ийлдсийн хоёр дээжийг ийлдэс судлалын аргаар шинжлэх нь сүргийн дотор өмнө нь АРП өвчин байсан эсэхийг эргэж сурвалжлан судалж онош тогтоох ач холбогдолтой.

Ийлдэс дэх АХВ-1/4-ийн эсрэгбиеийн түвшинг вирус саармагжуулах урвал (ВСУ) (Thomson нар, 1976), хавсарга холбох урвал (ХХУ) (Thomson нар, 1976) эсхүл энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА) (Crabb & Studdert, 1995)-аар тодорхойлж болно. ХХУ болон ВСУ нь АХВ-1 болон АХВ-4-ийн хооронд солбицох урвалд ордог эсрэгбиеийг илрүүлнэ. Хэдий тийм ч эмнэл зүйн шинжээр адуу өвчлөх хугацаанд АХВ-1 эсхүл АХВ-4-ийн эсрэгбие дөрөв дахин эсхүл түүнээс дээш өссөн болохыг нотлон харуулбал энэ хоёр вирусийн аль нэгээр саяхан халдвар авсны ийлдэс судлалын баталгаа болж өгнө. АХВ-1 болон АХВ-4-ийн эсрэгбиеийг хооронд нь ялгаварлах худалдаанд гарсан ЕЛИЗА цомгууд байдаг боловч ХХУ болон ВСУ-ыг бодвол арай бага хүрээнд хэрэглэгддэг. Гликопротеин Е-ийн нийлэг пептидийг эсрэгтөрөгчөөр ашигласан ЕЛИЗА аргыг (Andoh нар, 2013) Япон улсад лиценз авсан, АХВ-1-ийн гликопротеин Е генийг үгүй болгон өөрчилсөн амьд вакцинаар вакцинжуулсан адуунд байгалийн халдвар илрүүлэхэд (DIVA[1]) хэрэглэж байна.

ВСУ болон ХХУ нь АХВ-1/4 эсрэгбиеийг илрүүлэх мэдрэмтгий бөгөөд өргөн хэрэглэгддэг ийлдэс судлалын аргууд учраас энд тодорхойлон оруулав.

2.1. Вирус саармагжуулах урвал

Энэ шинжилгээг хавтгай ёроолтой 96 үүр бүхий хавтанд (эсийн өсгөврийн зэрэглэлийн) вирусийн нэг тогтмол тун, адууны шинжлэх ийлдсийн хоёр дахин шингэлэлт ашиглан явуулна. Ийлдэсний шингэлэлт бүрд наад зах нь 3 үүр хуваарилна. 2% төвшрүүлэгтэй ҮХИ бүхий халааж идэвхгүйжүүлсэн тогтворжуулах тэжээлт орчныг (ИТТО)-ийг шинжилгээний туршид шингэлэгчээр ашиглана. Таньц нь тогтоогдсон вирусийн нөөцөөс яг хэрэглэхийнхээ өмнө авч 25 мкл-д 100 $TCID_{50}$ (50% эдийн өсгөврийг халдварлуулах тун) байхаар шингэлнэ.

RK-13-ын дан үе эс бэлтгэнэ. Эсийн амьдрах чадвар, вирусийн халдварлах чанар, шинжилж байгаа ийлдэсний эс хордуулах чанарыг шинжлэх бүрдээ адууны эсрэгбиетэй болон эсрэгбиегүй ийлдэс, бас хяналтыг хамт оруулан шинжилнэ. Эсрэгбиеийн вирус саармагжуулах эцсийн таньцыг дээж бүрд хуваарилсан хоёр үүрэнд байгаа дан үе эсийг

[1] DIVA: Вакцинжуулсан мал, амьтанд халдвар илрүүлэх

вирусийн нөлөөнөөс ≥75% хамгаалж байгаа ийлдсийн хамгийн өндөр шингэлэлтийн урвуу утгыг тодорхойлох замаар тооцоолно.

RK-13 эсэд АХВ-1 вирусийг өсгөвөрлөж бэлтгэсэн худалдааны вакцинаар олон дахин вакцинжуулсан адууны дээжид ийлдэсний хорон чанар илэрч болзошгүй. Энэ нь ийлдсийн бага шингэлэлтэд хийсэн шинжилгээний үр дүнг боловсруулахад илүү бэрхшээлтэй болгоно. E-Derm эсхүл туулайнаас өөр амьтны бөөрний дамжмал эс хэрэглэвэл дээрх асуудал гарахгүй.

2.1.1. Шинжилгээний аргачлал

Шинжилгээний тохиромжтой аргачлал нь:.

i) Эдийн өсгөврийн бичил таньцын хавтанд зайгүй үргэлжилсэн хагас ургалттай дан үе эс бэлтгэнэ.

ii) Шинжилгээний болон хяналтын ийлдсийг усан халаагуурт 56°C-д 30 минут идэвхгүйжүүлнэ.

iii) Шинжилгээний бичил таньцын хавтангийн бүх үүрэнд 40 мкл ИТТО нэмнэ.

iv) Шинжлэх дээжийг таньцлахад шинжлэх ийлдэс тус бүрээс хавтангийн 3 үүр тус бүрд 40 мкл-ийг сорууруар хэмжиж хийнэ. Эхний хоёр мөр нь шинжлэх ийлдсийн шингэлэлтийн, гурав дахь мөрийг ийлдэсний хорон чанарын хяналтаар ашиглана. Ийлдэс тус бүрийг 2 дахин шингэлээд сорууруар дараалан холилт хийгээд 40 мкл-ийг авч дараагийн мөрний үүрнүүдэд шилжүүлэн хийнэ. Ийлдэсний хяналтын мөрөнд 40 мкл ИТТО нэмнэ.

v) АХВ-1 вирусийн нөөц уусмалд шаардлагатай шингэлэлт хийгээд 40 мкл-ийг (100 $TCID_{50}$/үүр) авч ийлдэсний хяналтынхаас бусад шинжилгээний хавтангийн үүр тус бүрд нэмнэ. Вирус нэмсний дараа вирусийн эцсийн шингэлэлт ийлдэсний 1/4 эхлэлийн шингэлэлтээс эхлэн хийгдэхийг анхаарах хэрэгтэй. Хяналтын тусдаа хавтанд таньц нь тогтоогдсон адууны сөрөг болон эерэг (хүчтэй болон сул) ийлдэс аль алины таньцлалт, эсийн хяналт (вирусгүй), вирусийн хяналт (ийлдэсгүй) болон нэг log шингэлтэд (100 $TCID_{50}$ - 0.01 $TCID_{50}$/үүр) зориулж 6 үүр ашиглан хийх вирусийн урвуу таньцлалтыг оруулна.

vi) Хавтанг 37°C-д 5% CO_2 бүхий агаартай орчинд 1 цаг байлгана.

vii) Шинжилгээний болон хяналтын хавтангийн үүр тус бүрээс 50 мкл-ийг авч эдийн өсгөврийн бичил таньцын хавтанд шилжүүлэн хийнэ.

viii) Хавтанг 37°C-д 5% CO_2 бүхий агаартай орчинд 2-5 хоног байлгана.

ix) Хавтанг микроскопоор харж ЭЭН-г шалгаад үр дүнг ажлын дэвтэрт бүртгэнэ. Нөөц вирусийн ажлын шингэлэлт нь 100 $TCID_{50}$/үүр байгааг, эерэг хяналтын (хүчтэй болон сул) ийлдсүүд нь урьдчилсан тогтоосон таньцлалтынхаа нэг үүрний дотор байгааг, сөрөг хяналтын ийлдэс нь 1/4 шингэлэлтэд сөрөг байгааг тогтоох замаар шинжилгээ хүчинтэй болохыг баталгаажуулна. Энэ нь ойролцоогоор 72 цаг болно. Хэрэв энэ үе шатанд эсрэгтөрөгч хэт сул байвал дулаан тогтоогуурт байлгах хугацааг 5 хүртэл хоногоор сунгах замаар вирусийн төвшрүүлгийг ихэсгэж болно. Хэрэв эсрэгтөрөгч хэт хүчтэй байвал шинжилгээг давтан хийх шаардлагатай.

Үүрэн дэх дан үе эсийн ≥ 75% нь бүтэн хэвээр үлдвэл вирус саармагжуулах боломжтой байна гэж үнэлнэ. Хос үүрэнд вирусийг ≥ 75%-иар саармагжуулж (<25% ЭЭН) байгаа ийлдэсний хамгийн өндөр шингэлэлт нь тухайн ийлдсийн эцсийн цэгийн таньц байна. Хавтанг микроскопоор харж ЭЭН-г шалгаад үр дүнг ажлын дэвтэрт тэмдэглэнэ.

x) Хувилбар болгон дараах аргаар дан үе эсийг бэхжүүлж будаад оноо өгнө. Үүнд: эсийн өсгөврийн шингэнийг зайлуулаад хавтанг 2 мг/мл кристал ягаан, 10% формалин, 45% метанол, 45% ус агуулсан уусмалд 15 минут далд ортол дүрнэ. Хавтанг гоожуурын урсгал усаар маш сайн зайлна. Дан үе эс бүтнээрээ байгаа үүр хөх өнгөтэй болох ба дан үе эсийг вирус эмгэгшүүлчихсэн бол будагдахгүй.

xi) Амьтан бүрээс өвчний цочмог болон эдгэрэх үед авсан цусны ийлдэсний таньц нь дөрөв дахин эсхүл түүнээс илүү хэмжээгээр нэмэгдсэн эсэхийг харьцуулж үзээд шинжилсэн ийлдэс бүрийн саармагжуулах таньцыг тооцно.

2.2. Хавсарга холбох урвал

АХВ-1-ийн эсрэгбиеийг илрүүлэх, тоон утгаар илэрхийлэхэд хавсарга холбох урвал (ХХУ)-ыг хэрэглэж болно. Хам нэгдэл үүсгэх чадах эсрэгтөрөгч болон эсрэгбие байгаа эсэхийг энэ шинжилгээгээр тодорхойлно. Дархлааны хам нэгдэл үүсэхэд түүнийг усан гахайн хавсарга, туулайн цус задлах ийлдэс (гемолизин)-ээр бүрсэн мэдрэгжүүлсэн хонины цусны улаан эс (МХЦУЭ)-ээс бүрдэх илрүүлэгч системээр илрүүлнэ. Адууны херпесвирусийн эсрэгбие байхгүй бол эсрэгбие/эсрэгтөрөгчийн хам нэгдэл үүсэхгүй учраас уусмалд хавсарга чөлөөтэй үлдэж МХЦУЭ-ийг задална. Адууны херпесвирусийн эсрэгбие байгаа нөхцөлд бие/эсрэгтөрөгчийн хам нэгдэл үүсэж хавсарга бэхлэгдэх тул МХЦУЭ-ийг задлах боломжгүй болно. Улмаар тэдгээр нь шинжилгээний үүрний ёроолд тунана.

Усан гахайн хавсарга, туулайн цус задлах ийлдэс, хавсарга холбох урвалын шингэлэгч (ХХУШ), үхрийн ийлдэсний альбумин (ҮИА)-ыг худалдан авч болно. МХЦУЭ байгаа нөхцөлд 3 Ц3Т (цус задлах тун) идэвхтэй усан гахайн хавсаргыг хамгийн оновчтой байхаар шингэлнэ. Туулайн цус задлах ийлдсийг хэрхэн шингэлэхийг заримдаа үйлдвэрлэгч зөвлөсөн байдаг. Гэвч шинжилгээг тогтвортой, тууштай хийдэг байлгахын тулд цус задлуурын оновчтой шингэлэлтийг урвалж бодис (хавсарга) хэрэглэн тогтоох нь зүйтэй. Шинжилгээнд хэрэглэх эсрэгтөрөгчийн оновчтой төвшрүүлгийг тодорхойлохдоо эсрэгтөрөгчийн эсрэг шатрын хөлгөн аргаар эсрэгбиеийг хэмжих болон эерэг нь тодорхой багц ийлдэс ашиглана.

Шинжилгээг үүр нь U ёроолтой бичил таньцын хавтанд хийнэ. Шинжлэх ийлдсээс хос дээж бэлтгэн нэг хавтанд хамт шинжилнэ. Хавтан бүрд эсрэгбие бүхий эерэг ийлдсийг хяналт болгон оруулж хамт шинжилнэ. Хавсаргын эсрэг идэвхийг шалгахад зориулсан вирусээс бусад бусад бүх бүрэлдэхүүн хэсгийг агуулсан хоёрдох хавтанд бүх ийлдсийг шинжилнэ. Хавсаргын хяналтын хавтангийн хоёр үүрэнд (нийт 8 үүрэнд) хавсаргын ажлын (3 Ц3Т) шингэлэлтийг 2 Ц3Т, 1 Ц3Т, 0.5 Ц3Т болгох урвуу таньцлалт хийнэ. МХЦУЭ-ийн хяналтыг найман үүрэнд хийнэ.

2.2.1. Дээж бэлтгэх

i) Дээж болон хяналтыг бэлтгэхдээ 4 эзлэхүүн (600 мкл) ХХУШ-ийг 1 эзлэхүүн шинжлэх ийлдэс (150 мкл) дээр нэмж 1/5 шингэлэлттэй болгоно.

ii) Шингэлсэн ийлдсийг 60°C-д 30 минут халааж хэвийн үед илэрдэг хавсаргыг арилгана.

2.2.2. Шинжилгээний аргачлал

i) Шинжилгээний болон хавсаргын эсрэг идэвхийн хавтангууд бэлтгээд эхний (Н) баганаас бусад бүх үүрэнд ҮИА/МХЦУЭ-ийн 0.05% уусмалаас 25 мкл-ийг хийнэ.

ii) ҮИА/МХЦУЭ-ийн 0.05% уусмалаас 50 мкл-ийг хавсаргын хяналтын (урвуу таньцлалт) найман үүрэнд нэмнэ.

iii) ҮИА/МХЦУЭ-ийн 0.05% уусмалаас 75 мкл-ийг эсийн хяналтын найман үүрэнд нэмнэ.

iv) Шингэлж идэвхгүйжүүлсэн 50 мкл шинжлэх ийлдэс болон хяналтыг шинжилгээний болон хавсаргын идэвхийн шалгалтын аль аль хавтангийн мөр бүрийн эхний үүрэнд нэмнэ. Улмаар дараалсан давхар шингэлэлтийг хавтангийн үүр дуустал нэг үүрээс 25 мкл авч дараагийн үүрт шилжүүлэх замаар хийж сүүлийн үүрнээс 25 мкл-ийг авч асгана.

v) Эсрэгтөрөгч болон хавсаргыг нэмэх зорилгоор бичил таньцын хавтанг мөсөн дээр байрлуулна.

vi) 25 мкл эсрэгтрөрөгчийг (ажлын төвшрүүлэгт хүргэн 0.05% ҮИА/ХХУШ-д шингэлсэн) шинжилж байгаа ийлдсэнд нэмнэ.

vii) Хавсаргын идэвхийн шалгалтын хавтангийн бүх үүрэнд дутуу эсрэгтөрөгчийг нөхөн ҮИА/МХЦУЭ-ийн 0.05% уусмалаас 25 мкл-ийг нэмнэ.

viii) 0.05%-ийн ҮИА/МХЦУЭ-д 3 Ц3Т хүртэл шингэлсэн усан гахайн 25 мкл хавсаргыг хавсаргын хяналт болон ХЦУЭ хяналтынхаас бусад бүх үүрэнд нэмнэ.

ix) 3 Ц3Т ажлын шингэлэлт бүхий хавсаргыг 200 мкл эзлэхүүнд 2 Ц3Т, 1 Ц3Т, 0.5 Ц3Т хүртэл урвуу таньцлалт хийнэ. Шингэлэлт тус бүрээс тогтоосон үүрнүүдэд 25 мкл нэмнэ.

x) Бүх хавтанг 4°C-д хонуут байлгана.

2.2.3. Хонины цус бэлтгэж нэмэх

i) Алсеверийн шингэнд авсан ХЦУЭ-ийг 0.05%-ийн ҮИА/ФБУ уусмалд хоёр удаа угаана.

ii) ХЦУЭ-ийг 0.05%-ийн ҮИА/МХЦУЭ-ийн 5–10 мл уусмалтай болгоомжтой хольж сэргээгээд ҮИА/МХЦУЭ уусмалд 2% ХЦУЭ (э/э тунамал эс) байхаар шингэлнэ.

iii) 2% ХЦУЭ-ийг мэдрэгжүүлэх чанар нь хамгийн тохиромжтой түвшрүүлэгтэй байгаа цус задлуур агуулсан, ижил хэмжээний ҮИА/МХЦУЭ-тэй хольж 1% ХЦУЭ уусмал болгоно. Бичил таньцын хавтан тус бүрд 3 мл ноогдохоор тооцож энэ уусмалыг шаардлагатай хэмжээгээр бэлтгэнэ.

iv) 37°C-д 10 минут байлгана. 1% мэдрэгжүүлсэн ХЦУЭ-ийг 4°C-д хонуут байлгана.

v) Дараагийн өдөр нь 1% мэдрэгжүүлсэн ХЦУЭ-ийг 37°C-д 30 минут байлгана. Дулаан тогтоогуурт байлгах сүүлийн 20 минутад шинжилгээний хавтанг 4°C-ээс 37°C-д шилжүүлнэ.

vi) Дулаан тогтоогуурт байлгах 30 минутын төгсгөлд бүх хавтанд 25 мкл 1%-ийн мэдрэгжүүлсэн ХЦУЭ нэмнэ.

vii) Хавтанг 37°C-д 10 минут байлгана. Хавтанг 15 минутын дараа болон энэ хугацааны төгсгөлд (нийт 3 удаа) зайлна.

viii) Хавтанг 4°C-д 2 цаг байлгаж эсийг суулгана.

ix) Шинжилгээний үр дүнг 2 цагийн дараа уншиж тэмдэглэнэ.

2.2.4. Үр дүнг унших

i) Хавсаргын ажлын 3 ЦЗТ шингэлэлтээр 3 ЦЗТ болон 2 ЦЗТ -д 100% задрал, 1 ЦЗТ-д 50% задрал өгвөл уг шинжилгээг баталгаатай гэж үзнэ. ХЦУЭ хяналтын найман үүрэн дэх эсийн янз бүрийн buttons туналт-задрал ялгагдан харагдах ёстой.

ii) 1/5 шингэлэлтэд сөрөг хяналт (<5) 100% задрал ажиглагдах ёстой. Эерэг хяналтын ийлдэсний эсрэгбиеийн таньц түүний урьдчилан тодорхойлсон таньцтай нэг үүрний хязгаарт багтах ёстой

iii) Хавсаргын эсрэг идэвхийн хавтангийн үүрэнд харагдах ямар нэг тунаш үүсээгүй болохыг баталгаажуулна. Хэрэв үүссэн бол энэ нь дээжид байдаг ердийн хавсарга эсхүл хавсаргыг өвөрмөц бусаар холбодог үл мэдэгдэх нөлөөний аль нэг нь байсныг илтгэнэ. Хавсаргын эсрэг идэвхтэй нь тогтоогдсон ийлдсийг дахин шинжлэх ба дорх аргаар боловсруулна.

iv) Шинжилгээний үүрэнд тунаш үүсэх нь ийлдсэнд эсрэгбие байгааг заана. Эсрэгбиеийн таньц нь 50%-ийн туналт, 50%-ийн задрал үүсгэсэн шингэлэлт юм.

2.2.5. Хавсаргын эсрэг идэвхтэй нь тогтоогдсон ийлдсийн боловсруулалт:

i) Хавсаргын эсрэг идэвхтэй нь тогтоогдсон 150 мкл ийлдэс дээр 50 мкл усан гахайн хавсарга нэмнэ.

ii) Дээжийг 37°C-д 30 минут байлгана.

iii) 550 мкл ХХУШ нэмнэ (1:5 шингэлсэн).

iv) 60°C-д 30 минут халааж идэвхгүйжүүлнэ.

B. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

1. Оршил

АХВ-1/4-ийн халдварын улмаас адуунд үүсдэг өвчний уршгийг багасгахад хэрэглэх худалдаанд гарсан, лиценз бүхий сулруулсан амьд болон идэвхгүйжүүлсэн вакцин аль аль нь бий. Эдгээр бүтээгдэхүүнд өөр дотроо янз бүрээр өөрчлөгдсөн АХВ-1 болон АХВ-4-ийг агуулах ба заримд нь адууны томууны вирус ч орно.

Вакцинжуулах нь эмнэл зүйн хэлбэрээр илрэх амьсгалын өвчний болон хээл хаях тохиолдлыг бууруулах болов ч аль ч вакцин мэдрэлийн өвчнөөс хамгаалдаггүйг эмнэл зүйн туршилтаар харуулжээ. Эдүгээ зах зээлд нийлүүлэгдэж байгаа АРП өвчний вакциныг үйлдвэрлэгчдийн зүгээс жил бүр давтан олон тун олгохыг зөвлөдөг. Вакцин бүрийг өөр өөр бүдүүвчээр вакцинжуулна.

Вакцины шошго дээр заасан заалтаар бол АРП-ийн хэд хэдэн вакцины тухайд херпес вирусээр үүсэх амьсгалын замын эрхтний өвчнөөс хамгаалах аль эсхүл хээл хаяхаас эсхүл аль алинаас хамгаалахад тусална. Хээлтэй гүүг зохих ёсоор вакцинжуулсны дараа зориудын халдвар хийж туршихад херпес вирусээр үүсэх халдвараас хамгаалах үр нөлөөтэй байсныг уг вакциныг албан ёсоор бүртгүүлэхдээ нотлон харуулах шаардлагыг цөөн хэдэн вакцин л хангасан байна. Нэг ч вакцин АХВ-1-ийн халдвартай холбоотойгоор заримдаа үүсдэг мэдрэлийн өвчний тохиолдлоос хамгаалж чаддаггүй нь харагджээ.

Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зарчмын талаарх 1.1.8 дугаар бүлэгт мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зааварчилгааг оруулав. Энэ хэсэгт болон 1.1.8 дугаар бүлэгт оруулсан зааварчилгаа нь ерөнхий агуулгатай учир тухайн улсын болон бүс нутгийн шаардлагыг нэмж оруулж болно.

2. Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны тодорхойлолт, вакцинд тавих наад захын шаардлага

2.1. Эх омгийн шинж чанар

АРП өвчний вакцины үндсэн эх вирусийг (ҮЭВ) мөн болохыг нь хөдөлшгүй ялган тогтоосон АХВ-1 болон/эсхүл АХВ-4 омгоос бэлтгэх ёстой. Эх вирусийг холбогдох эрх бүхий агентлагаас адууны вакцины үйлдвэрлэлд зөвшөөрсөн дамжмал эсэд өсгөвөрлөнө. Үндсэн эх үүсвэр (тэр дундаа ялган авсан зүйлийн дугаар, ялган авсані байршил, он), зорчуулсан түүх, өсгөвөрлөхөд ашигласан тэжээлт орчин зэргийн иж бүрэн бүртгэл тэмдэглэлийг вакцины үйлдвэрлэлд хэрэглэх вирус (вирусүүд) болон нөөц эс (эсүүд) аль алины үндсэн эх бэлдмэлд зориулан хадгална.

2.1.1. Үндсэн эх омгийн биологийн шинж чанар

Вакцины үйлдвэрлэлд хэрэгдэх байнга хадгалж байдаг ҮЭВ болон үндсэн эсийн нөөц (ҮЭН) цэвэр, аюулгүй, ҮЭВ-ийн тухайд дархлаа төрүүлэх идэвхтэй болохыг нотлон харуулах ёстой.

Ерөнхийдөө вакцины үйлдвэрлэлд хамгийн дээд тал нь ҮЭВ-ээс тав, ҮЭН-өөс хорин удаагийн зорчуулалт хийхийг зөвшөөрдөг. Үндсэн эх вирусийн бүх чанарын хяналтын шинжилгээний үр дүнг бүртгэн тэмдэглэж лиценз эзэмшигчийн байнга хөтлөх бүртгэлийн нэг болгоно.

2.1.2. Чанарын шалгуур

Үндсэн эх вирусийн цэвэршилтийн шалгалтыг вирус болон эх эсийн нөөц нь бактери, мөөгөнцөр, микоплазм, гаднын вирус агуулаагүй болохыг нотлон харуулж чадах урьдчилж бэлтгэсэн аргачлалаар хийнэ. Мөн адууны хураагуур судасны үрэвсэл, адууны цус багасах халдварт өвчний вирус, адууны томуу өвчний вирус, адууны херпесвирус -2, -3, -5, адууны хамрын хөндийн үрэвслийн А болон Б вирус, адууны тархи нугасны альфавирус, үхрийн диарей өвчний вирус (ҮДӨВ - үхрийн ийлдсийн байнгын бохирдуулагч), гахайн парвовирус (ГРВ - гахайн трипсиний болзошгүй бохирдуулагч) байхгүй болохыг баталгаажуулах өвөрмөц шинжилгээ хийсэн байх ёстой. Цэвэршилтийн шалгалтаар EHV-4-ийн үндсэн эх вирус нь АХВ-1 агуулаагүй болохыг бас тогтооно.

2.1.3. Вакцины омог болгон баталгаажуулах

АХВ-1/4-ийг үндсэн эх вирусийн нөөцийн дархлаа төрүүлэх идэвхийн шалгалтыг ҮЭВ-ийн жирийн вакцины үйлдвэрлэлд хэрэглэж болох хамгийн олон зорчуулалтаас бэлтгэсэн туршилт шалгалтын вакцин ашиглан адуунд хийнэ. ҮЭВ-ийн дархлаа төрүүлэх идэвхийн шалгалтад адууг АХВ-1/4-д эсрэгбиеийн нам таньц (< 1:24 ВСУ-аар) өгөх вакцинаар эцсийн хэрэглээнд гаргах вакцины шошгод заасан тунгаар вакцинжуулна (Goodman нар, 2006; Van de Walle нар, 2010). Ийлдсийн хоёрдох сорьцыг вакцины эцсийн тун олгосноос хойш 21 хоногт авч вирусийн эсрэг саармагжуулах эсрэгбие их хэмжээгээр өссөн эсэхийг шалгана.

АРП өвчний сулруулсан амьд вакцин бэлтгэхэд хэрэглэх ҮЭВ-ийн цуврал бүрийн сорьцын аюулгүй чанарыг хоруу чанартай зэрлэг вируст мэдрэмтгий адуунд, үүний дотор сүүлийн 4 сардаа орсон хээлтэй гүүг оруулан тодорхойлно. Вакцины аюулгүй чанарыг гурван өөр нутгаас янз бүрийн насны адуу цуглуулан “аюулгүй чанарын хээрийн туршилт”-аар нотлон харуулна. Аюулгүй чанарын шалгалтыг лиценз авахын өмнөх үйлдвэрлэлийн цувралын вакцин ашиглан хараат бус малын эмч гүйцэтгэнэ. Хээл хаялттай тэмцэхэд үр нөлөөтэй болохыг нотлон харуулах гэж байгаа вакцины аюулгүй чанарыг хээл тээлтийн сүүлийн шатандаа орсон цөөнгүй толгой хээлтэй гүүнд эцсийн хэрэглээний вакцины хэрэглээнд үйлдвэрлэгчийн зөвлөсөн вакцинжуулалтын бүдүүвчийн дагуу шалгах хэрэгтэй.

2.2. Үйлдвэрлэх арга

2.2.1. Аргачлал

АРП өвчний вакцин бэлтгэхэд дагаж мөрдөх үйлдвэрлэлийн аргын дэлгэрэнгүй зааврыг үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны тодорхойлолт болгон лиценз олгох албан ёсны агентлагаар хянуулж, баталгаажуулж, албажуулсан байх ёстой. Вакцины төрөл (амьд эсхүл идэвхгүйжүүлсэн), бүтээгдэхүүн бүрийн найрлага (зөвхөн АХВ-1, АХВ-1 болон АХВ-4, АХВ-4 болон адууны томуу өвчний вирус гэх мэт), үйлдвэрлэгчээс хамаарч АРП өвчний вакцин үйлдвэрлэх аргын тус бүрдээ онцлогтой байна.

2.2.2. Найрлагад орох хольцод тавих шаардлага

Вакцины үйлдвэрлэлийн цуврал бэлтгэхэд хэрэглэдэг эс, вирус, эсийн өсгөвөр, амьтны гаралтай тэжээлт орчны нэмэлтийг бактери, мөөгөнцөр, микоплазмгүй, хавдар үл үүсгэх, гаднын вирусийн биетгүй болох нь урьдчилан боловсруулсан шинжилгээгээр тогтоогдсон бөөний эх үүсвэрээс гаралтай байх ёстой.

2.2.3. Эцсийн бүтээгдэхүүний цувралын шалгалт

i) Ариун чанар

Бэлэн болсон вакцины цуврал бүрээс авсан сорьцод бактери, мөөгөнцөр, микоплазмын бохирдолтой эсэхийг шалгана. Вакцин нь хөндлөнгийн вирус агуулаагүй болохыг нотлох аргууд тэр дундаа адуунд элбэг тохиолддог вирусүүдийг илрүүлэх арга болсон эсийн өсгөвөрт халдвар хийх арга, түүнчлэн вакцины цуврал бүрийн үйлдвэрлэлд ашиглах амьтны гаралтай орц найрлагад үхрийн вирусийн диарей өвчний вирус, гахайн парвовирус илрүүлэх аргыг хэрэглэх аргачлал шаардлагатай байна.

ii) Ялгагдах чанар

Олон цэнт вакцины үйлдвэрлэлд хэрэглэхээр лабораторид үржүүлж байгаа омгуудын дотор вакцины бусад омог агуулагдаагүй болохыг ялгагдах чанарын шинжилгээгээр нотлон харуулна.

iii) Аюулгүй чанарын шалгалт

Аюулгүй чанарын шалгалт нь вакциныг бүх замаар олгоход түүнд эзэн амьтнаас үзүүлэх хэсэг газрын болон тогтолцооны аливаа хэвийн бус гаж урвалыг илрүүлэхэд оршино. АРП өвчний вакцины үйлдвэрлэлийн цуврал бүрийн аюулгүй чанарын шалгалтаар вирусийг бүрэн идэвхгүйжүүлсэн (идэвхгүйжүүлсэн вакцинд), түүнчлэн вирус үхүүлсэн бодисын үлдэц зөвшөөрөгдөх хязгаараас хэтрээгүй (ж.нь. формальдгид 0.2%) болохыг нотлог харуулна.

iv) Цувралын идэвх

Эцсийн байдлаар найруулж бэлтгэсэн бүтээгдэхүүний тухайн цувралын дархлаа төрүүлэх идэвхийг шалгана. Хэдийгээр АРП өвчний вакцины үйлдвэрлэлийн цувралын дархлаа төрүүлэх идэвхийг мэдрэмтгий адууг вакцинжуулсны дараа ийлдсэн дэх эсрэгбиеийн эерэгжилтээр шалгаж болох ч эсрэгтөрөгчийн дархлаа төрүүлэх идэвхийг *in-vitro* нөхцөлд хийх хурдан дархлааны урвал нэвтэрчээ. АРП өвчний вакцины идэвхийг *in-vitro* нөхцөлд

тодорхойлох ийм аргын үндэс нь өвөрмөц ИГЭБ ашиглан цуврал бүрд байгаа вирусийн эсрэгтөрөгчийн хамгийн бага, амьтанд дархлаа төрүүлэх идэвхийг стандарт аргаар шалгахад хамгаалалтын шаардлагатай (эсхүл ийлдэс эерэгжих түвшин) түвшинтэй шүтэлцэх хэмжээг тодорхойлоход оршино.

2.3. Бүртгүүлэх/албан ёсны зөвшөөрөл/лиценз авахад тавих шаардлага

2.3.1. Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаа

Вакциныг бүртгүүлэхийн тулд үйлдвэрлэх, түүний чанарыг шалгах (B.2.1 ба B.2.2 хэсгийг үзэх) шинжилгээнд холбогдох бүх дэлгэрэнгүй мэдээллийг эрх бүхий байгууллагад илгээнэ. Энэхүү мэдээллийг үйлдвэрлэлийн ердийн цувралын 1/3-аас багагүй хэмжээтэй вакцины дараалсан гурван цуврал шалгаж бэлтгэнэ.

2.3.2. Аюулгүй чанарын шаардлага

Вакцины аюулгүй чанарыг вакцинжуулсан амьтанд янз бүрийн аргаар тогтооно (хэсэг 2.2.3.iii үзэх).

2.3.3. Үр нөлөөнд тавих шаардлага

Вакцинжуулсан амьтныг өвчний амьд үүсгэгчээр халдварлуулахад түүнийг хэрхэн тэсвэрлэж байгаагаар нь вакцины үр нөлөөг (хамгаалалтыг) шууд тогтооно.

2.3.4. Дархлааны үргэлжлэх хугацаа

Зориудын халдвар хийх эсхүл өөр бусад шинжилгээгээр тухайн вакцины дархлааны үргэлжлэх хугацааг вакцины хамгаалалтын тогтоосон хугацааны төгсгөл үеэр нотлон харуулахыг вакцинд зөвшөөрөл олгох эсхүл зах зээлд борлуулах зөвшөөрөл олгох ажлын нэг хэсэг болгон үйлдвэрлэгчээс шаардаж болно.

АХВ-1-ийн үүсгэх дархлааны үргэлжлэх хугацааг тогтооход вакцины цуврал бүрээр дархлаажуулалт хийж шалгах шаардлагагүй. АХВ-1-ийн эсрэг дархлаа тогтоох вакцинжуулалтын үр дүнд хэдхэн сараас үл хэтрэх дархлаа тогтдог нь олон судалгааны үр дүнгээс харагдсан бөгөөд үүнээс хамааруулан АРП вакцины шошгод давтан вакцинжуулах давтамжийг зааж өгсөн байдаг.

2.3.5. Тогтвортой чанар

Тухайн вакцины бүх шинж чанар тогтвортой байгаа эсэхийг вакцины хүчинтэй хугацааны төгсгөл үеэр нотлон харуулахыг вакцинд зөвшөөрөл олгох ажлын нэг хэсэг болгон үйлдвэрлэгчээс шаардана. Хадгалах температурыг зааж өгөх бөгөөд хөлдөөх эсхүл ажлын орчны хэмд байлгахад гэмтэж мууддаг бол зохих анхааруулга өгсөн байх хэрэгтэй.

Вакцины тогтвортой чанарын талаар дүгнэлт гаргахын өмнө вакцины үйлдвэрлэлийн гурваас доошгүй цувралын идэвхээ хадгалах хугацааг шалгана. 4°C-д хадгалахад идэвхгүйжүүлсэн вакцин эсрэгтөрөгчийн анхны идэвхээ үндсэндээ 1 жилээс доошгүй хугацаагаар хадгална. Хөлдөөн хатаасан амьд вируст вакцин 4°C-д хадгалахад мөн адил 1 жил тогтвортой байна. Уусган сэргээсний дараа амьд вируст вакцин тогтворгүй байх ба идэвхийг алдагдуулахгүйгээр хадгалах боломжгүй.

Жич: Одоогоор амьсгалын замын өвчнөөс хамгаалах эсхүл хээл хаялтаас хамгаалах нэмэлт болох вакциныг хэрэглэж байна. Мэдрэлийн өвчнөөс хамгаалах вакцины чанарыг судлан шинжилж байгаагаас бусад тохиолдолд мэдрэлийн өвчин үүсгэсэн түүхтэй омгийг зориудын халдвар хийх туршилтад ашиглаж болохгүй.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

ANDOH K., TAKASUGI M., MAHMOUD H.Y., HATTORI S., TERADA Y., NOGUCHI K., SHIMODA H., BANNAI H., TSUJIMURA K., MATSUMURA T., KONDO T. & MAEDA K. (2013). Identification of a major immunogenic region of equine herpesvirus-1 glycoprotein E and its application to enzyme-linked immunosorbent assay. Vet. Microbiol., 164, 18–26.

ALLEN G.P., KYDD J.H., SLATER J.D. & SMITH K.C. (1999). Recent advances in understanding the pathogenesis, epidemiology, and immunological control of equid herpesvirus-1 (EHV-1) abortion. Equine Infect. Dis., 8, 129–146.

ALLKOFER A., GARVEY M., RYAN E., LYONS R., RYAN M., LUKASEVICIUTE G., WALSH C., VENNER M. & CULLINANE A. (2021). Primary vaccination in foals: a comparison of the serological response to equine influenza and equine herpesvirus vaccines administered concurrently or 2 weeks apart. Arch. Virol., 166, 571–579.

ATASEVEN V.S., DAĞALP S.B., GÜZEL M., BAŞARAN Z., TAN M.T. & GERAGHTY B. (2009). Prevalence of equine herpesvirus-1 and equine herpesvirus-4 infections in equidae species in Turkey as determined by ELISA and multiplex nested PCR. Res. Vet. Sci., 86, 339–344.

BALASURIYA U.B.R., LEE P.-Y.A., TSAI Y.-L., TSAI C.-F., SHEN Y.-H., CHANG H.-F. G., SKILLMAN A., WANG H.-T.T., PRONOST S. & ZHANG Y. (2017). Translation of a laboratory-validated equine herpesvirus-1 specific real-time PCR assay into an insulated isothermal polymerase chain reaction (iiPCR) assay for point-of-need diagnosis using POCKIT™ nucleic acid analyzer. J. Virol. Methods, 241, 58–63.

BANNAI H., MAE N., ODE H., NEMOTO M., TSUJIMURA K., YAMANAKA T., KONDO T. & MATSUMURA T. (2014). Successful control of winter pyrexias caused by equine herpesvirus type 1 in Japanese training centers by achieving high vaccination coverage. Clin. Vaccine Immunol., 21, 1070–1076.

BANNAI H., TSUJIMURA K., NEMOTO M., OHTA M., YAMANAKA T., KOKADO H. & MATSUMURA T. (2019). Epizootiological investigation of equine herpesvirus type 1 infection among Japanese racehorses before and after the replacement of an inactivated vaccine with a modified live vaccine. BMC Vet. Res., 15, 280.

BARBIC L., LOJKIC I., STEVANOVIC V., BEDEKOVIC T., STARESINA V., LEMO N., LOJKIC M. & MADIC J. (2012). Two outbreaks of neuropathogenic equine herpesvirus type 1 with breed-dependent clinical signs. Vet. Rec., 170, 227.

BRESGEN C., LÄMMER M., WAGNER B., OSTERRIEDER N. & DAMIANI A.M. (2012). Serological responses and clinical outcome after vaccination of mares and foals with equine herpesvirus type 1 and 4 (EHV-1 and EHV-4) vaccines. Vet. Microbiol., 160, 9–16.

COUROUCÉ A., NORMAND C., TESSIER C., POMARES R., THÉVENOT J., MARCILLAUD-PITEL C., LEGRAND L., PITEL P.H., PRONOST S. & LUPO C. (2023). Equine Herpesvirus-1 Outbreak During a Show-Jumping Competition: A Clinical and Epidemiological Study. J. Equine Vet. Sci., 128, 104869.

CRABB B.S. & STUDDERT M.J. (1995). Equine herpesviruses 4 (equine rhinopneumonitis virus) and 1 (equine abortion virus). Adv. Virus Res., 45, 153–190.

EL BRINI Z., FASSI FIHRI O. & PAILLOT R. (2021). Seroprevalence of Equine Herpesvirus 1 (EHV-1) and Equine Herpesvirus 4 (EHV-4) in the Northern Moroccan Horse Populations. Animals (Basel), 11, 2851.

FÉDÉRATION EQUESTRE INTERNATIONALE (FEI) (2021), Management of an EHV-1 outbreak at FEI events and its international impact. Vet. Rec., 189, e905. https://doi.org/10.1002/vetr.905

FOOTE C.E., GILKERSON J.R., WHALLEY J.M. & LOVE D.N. (2003). Seroprevalence of equine herpesvirus 1 in mares and foals on a large Hunter Valley stud farm in years pre- and postvaccination. Aust. Vet. J., 81, 283–288.

GARVEY M., LYONS R. & HECTOR R.D. (2019). Molecular Characterisation of Equine Herpesvirus 1 Isolates from Cases of Abortion, Respiratory and Neurological Disease in Ireland between 1990 and 2017. Pathogens, 8, 7.

GILDEA S., SANCHEZ HIGGINS M.J., JOHNSON G., WALSH C. & CULLINANE A. (2016). Concurrent vaccination against equine influenza and equine herpesvirus – a practical approach. Influenza Other Respir. Viruses, 10, 433–437.

GILKERSON J. R., WHALLEY J. M., DRUMMER H. E., STUDDERT M.J. & LOVE D.N. (1999). Epidemiology of EHV-1 and EHV-4 in the mare and foal populations on a Hunter Valley stud farm: are mares the source of EHV-1 for unweaned foals. Vet. Microbiol., 68, 27–34.

GOODMAN L.B., WAGNER B., FLAMINIO M.J., SUSSMAN K.H., METZGER S.M., HOLLAND R. & OSTERRIEDER N. (2006). Comparison of the efficacy of inactivated combination and modified-live virus vaccines against challenge infection with neuropathogenic equine herpesvirus type 1 (EHV-1). Vaccine, 24, 3636–3645.

GRYSPEERDT A., VANDERKERCKHOVE A., VAN DOORSSELAERE J., VAN DE WALLE G., & NAUWYNCK H. (2011). Description of an unusually large outbreak of nervous system disorders caused by equine herpesvirus 1 (EHV1) in 2009 in Belgium. Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrif, 80, 147–153.

GUNN H.M. (1992). A direct fluorescent antibody technique to diagnose abortion caused by equine herpesvirus. Irish Vet. J., 44, 37–40.

HELDENS J.G., HANNANT D., CULLINANE A.A., PRENDERGAST M.J., MUMFORD J.A., NELLY M., KYDD J.H., WESTSTRATE M.W. & VAN DEN HOVEN R.(2001). Clinical and virological evaluation of the efficacy of an inactivated EHV1 and EHV4 whole virus vaccine (Duvaxyn EHV1,4). Vaccination/challenge experiments in foals and pregnant mares. Vaccine, 19, 4307–4317.

HENNINGER R.W., REED S.M., SAVILLE W.J., ALLEN G.P., HASS G.F., KOHN C.W. & SOFALY C. (2007). Outbreak of neurologic disease caused by equine herpesvirus-1 at a university equestrian center. J. Vet. Intern. Med., 21, 157–165.

HUSSEY S.B., CLARK R., LUNN K.F., BREATHNACH C., SOBOLL G., WHALLEY J.M. & LUNN D.P. (2006). Detection and quantification of equine herpesvirus-1 viremia and nasal shedding by real-time polymerase chain reaction. J. Vet. Diagn. Invest., 18, 335–342.

KYDD J. H., WATTRANG E. & HANNANT D. (2003). Pre-infection frequencies of equine herpesvirus-1 specific, cytotoxic T lymphocytes correlate with protection against abortion following experimental infection of pregnant mares. Vet. Immunol. Immunopathol., 96, 207–217.

LAWRENCE G.L., GILKERSON J., LOVE D.N., SABINE M. & WHALLEY J.M. (1994). Rapid, single-step differentiation of equid herpesvirus 1 and 4 from clinical material using the polymerase chain reaction and virus-specific primers. J. Virol. Methods, 47, 59–72.

MCCARTAN C.G., RUSSELL M.M., WOOD J.L. & MUMFORD J.A. (1995). Clinical, serological and virological characteristics of an outbreak of paresis and neonatal foal disease due to equine herpesvirus-1 on a stud farm. Vet. Rec., 136, 7–12.

MOORE, S.E., Strang, C.L., Marr, C.M., Newton, R. and Cameron, I.J. (2019), Management of an outbreak of multiple equine herpesvirus type 1 abortions among vaccinated mares on a large UK Thoroughbred stud farm. Vet Rec Case Rep, 7: e000799.

NEMOTO M., OHTA M., TSUJIMURA K., BANNAI H., YAMANAKA T., KONDO T. & MATSUMURA T. (2011). Direct detection of equine herpesvirus type 1 DNA in nasal swabs by loop-mediated isothermal amplification (LAMP). J. Vet. Med. Sci., 73, 1225–1227.

NUGENT J., BIRCH-MACHIN I., SMITH K.C., MUMFORD J.A., SWANN Z., NEWTON J.R., BOWDEN R.J., ALLEN G.P. & DAVIS-POYNTER N. (2006). Analysis of equid herpesvirus 1 strain variation reveals a point mutation of the DNA polymerase strongly associated with neuropathogenic versus nonneuropathogenic disease outbreaks. J. Virol., 80, 4047–4060.

PRONOST S., LEGRAND L., PITEL P.H., WEGGE B., LISSENS J., FREYMUTH F., RICHARD E. & FORTIER G. (2012). Outbreak of equine herpesvirus myeloencephalopathy in France: a clinical and molecular investigation. Transbound. Emerg. Dis., 59, 256–263.

PUSTERLA N., KALSCHEUR M., PETERS D., BIDWELL L., HOLTZ S., BARNUM S. & LAWTON K. (2023). Investigation of the Frequency of Detection of Common Respiratory Pathogens in Nasal Secretions and Environment of Healthy Sport Horses Attending a Multi-Week Show Event during the Summer Months. Viruses, 15, 1225.

PUSTERLA N., WILSON W.D., MAPES S., FINNO C., ISBELL D., ARTHUR R.M. & FERRARO G.L. (2009). Characterization of viral loads, strain and state of equine herpesvirus-1 using real-time PCR in horses following natural exposure at a racetrack in California. Vet. J., 179, 230–239.

SCHULTHEISS P.C., COLLINS J.K. & CARMAN J. (1993). Use of an immunoperoxidase technique to detect equine herpesvirus-1 antigen in formalin-fixed paraffin-embedded equine fetal tissues. J. Vet. Diagn. Invest., 5, 12–15.

SINGH B.K., AHUJA S. & GULATI B.R. (2004). Development of a neutralizing monoclonal antibody-based blocking ELISA for detection of equine herpesvirus 1 antibodies. Vet. Res .Commun., 28, 437–446.

SMITH F.L., WATSON J.L., SPIER S.J., KILCOYNE I., MAPES S., SONDER C. & PUSTERLA N. (2018). Frequency of shedding of respiratory pathogens in horses recently imported to the United States. J. Vet. Intern. Med., 32, 1436–1441.

SMITH K.L., LI Y., BREHENY P., COOK R.F., HENNEY P.J., SELLS S., PRONOST S., LU Z., CROSSLEY B.M., TIMONEY P.J. & BALASURIYA U.B. (2012). Development and validation of a new and improved allelic discrimination real-time PCR assay for the detection of equine herpesvirus-1 (EHV-1) and differentiation of A2254 from G2254 strains in clinical specimens. J. Clin. Microbiol., 50, 1981–1988.

STRANG C. & NEWTON R. (2017). Control and disease clearance after neurological EHV-1 in the UK. Vet. Rec., 181, 678–679.

THOMSON G.R., MUMFORD J.A., CAMPBELL J., GRIFFITHS L. & CLAPHAM P. (1976). Serological detection of equid herpesvirus 1 infections of the respiratory tract. Equine Vet. J., 8, 58–65.

THORSTEINSDÓTTIR L., GUÐMUNDSSON G., JENSSON H., TORSTEINSDÓTTIR S. & SVANSSON V. (2021). Isolation of equid alphaherpesvirus 3 from a horse in Iceland with equine coital exanthema. Acta Vet. Scand., 63, 6.

VAN MAANEN C., WILLINK D.L., SMEENK L.A., BRINKHOF J. & TERPSTRA C. (2000). An equine herpesvirus 1 (EHV1) abortion storm at a riding school. Vet. Q., 22, 83–87.

VAN DE WALLE G.R., MAY M.A., PETERS S.T., METZGER S.M., ROSAS C.T. & OSTERRIEDER N. (2010). A vectored equine herpesvirus type 1 (EHV-1) vaccine elicits protective immune responses against EHV-1 and H3N8 equine influenza virus. Vaccine, 28, 1048–1055. doi: 10.1016/j.vaccine.2009.10.123. Epub 2009 Nov 6.

WHITWELL K.E., GOWER S.M. & SMITH K.C. (1992). An immunoperosidase method applied to the diagnosis of equine herpesvirus abortion, using conventional and rapid microwave techniques. Equine Vet. J., 24, 10–12.

YASUNAGA S., MAEDA K., MATSUMURA T., KONDO T. & KAI K. (2000). Application of a type-specific enzyme-linked immunosorbent assay for equine herpesvirus types 1 and 4 (EHV-1 and -4) to horse populations inoculated with inactivated EHV-1 vaccine. J. Vet. Med. Sci., 62, 687–691.

*

* *

ЖИЧ: Адууны ринопневмони өвчнийг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори бий.
(ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас мэдээлэл авна уу:
https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

Адууны ринопневмони өвчнийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудтай холбогдож авна уу.

ЖИЧ: 1990 ОНД АНХ, 2024 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

ХАВСРАЛТ 1: АДУУНЫ РИНОПНЕВМОНИ (ВАРИЦЕЛЛОВИРУС ЭКВИДАЛЬФА-1 -ийн ХАЛДВАР) ШИНЖИЛГЭЭНИЙ ЗОРИЛГО: ПОПУЛЯЦИ ХАЛДВАРГҮЙГ ТОГТООХ

Шинжилгээний арга; оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Шинжлэх популяци	Баталгаажуулалтын тайлан	Давуу тал	Сул тал	Лавлах эх сурвалж
ВСУ ++ IgG	Вакцины судалгааны 20 унага Зориуд халдвар хийх туршилтын 15 одой морь 163 адуу 86 луус 128 илжиг	Оношилгооны аргыг найдвартай баталгаажуулсан судалгааны ажил хараахан нийтлэгдээгүй байна.	Эсрэгбие удаан хугацаанд хадгалагдана. Вирус илрүүлэх аргууд болон ХХУ-ыг бодвол ВСУ илүү урт хугацаанд халдварын статусыг үнэлэх боломж олгоно.	АХВ-1 болон АХВ-4-ийг хооронд нь ялгаварлахгүй. Амьд вирус, эсийн өсгөвөр шаардлагатай. Далд халдвартай адуу эерэг урвал үзүүлэхгүй байх боломжтой.	Heldens нар, 2001 Hussey нар, 2006 El Brini нар, 2021 Ataseven нар, 2009
ЕЛИЗА + Гликопротеин G	163 адуу 86 луус 128 илжиг 237 гүү 200 унага	Оношилгооны аргыг найдвартай баталгаажуулсан судалгааны ажил хараахан нийтлэгдээгүй байна.	ВСУ-ыг бодвол хэрэглэхэд хялбар. Олон тооны дээжийг нэг дор шинжлэх боломжтой.	АХВ-1-ийг илрүүлэхэд ВСУ-аас мэдрэх чанараар доогуур Далд халдвартай адуу эерэг урвал үзүүлэхгүй байх боломжтой.	El Brini нар, 2021 Ataseven нар, 2009 Foote нар, 2003 Gilkerson нар, 1999

ХАВСРАЛТ 2: АДУУНЫ РИНОПНЕВМОНИ (ВАРИЦЕЛЛОВИРУС ЭКВИДАЛЬФА-1 -ийн ХАЛДВАР) ШИНЖИЛГЭЭНИЙ ЗОРИЛГО: **ШИЛЖИЛТ ХӨДӨЛГӨӨНИЙ ӨМНӨ БОДГАЛЬ ХАЛДВАРГҮЙГ ТОГТООХ**

Шинжилгээний арга; оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Шинжлэх популяци	Баталгаажуулалтын тайлан	Давуу тал	Сул тал	Лавлах эх сурвалж
ПГУ +++ ДНХ	Ажлын 231 эрүүл адуу Уралдааны 162 эрүүл адуу импортын хорио цээрт оруулсан 167 адуу	Оношилгооны аргыг найдвартай баталгаажуулсан судалгааны ажил хараахан нийтлэгдээгүй байна.	Мэдрэх болон өвөрмөц чанар маш өндөр. Түргэн.	“Тухайн агшины” ө.х. сорьц цуглуулах тухайн цаг үеийн амьтны дархлааны статусаас хамаарна Шинжилгээний мэдрэх чанар өндөр учраас лабораторид эсхүл эмчээс дээж цуглуулах үед бохирдох эрсдэл гарснаар хуурамч эерэг дүн үзүүлж болно. Эерэг дүн үзүүлэх нь халдвартай вирус агуулж байгаа эсхүл эрсдэлтэй бүлэгт хамааруулах шаардлагатай гэсэн үг биш.	Pusterla нар, 2023 Pusterla нар, 2022 Smith нар, 2018

Вирус ялгах ++ Халдвартай вирус	Зориуд халдвар хийгээд вирус ялгах арга болон ПГУ-аар шинжилсэн 15 одой морь Эпидемиологийн судалгааны хүрээнд вирус ялгах арга болон ПГУ-аар шинжилсэн 327 унага	Оношилгооны аргыг найдвартай баталгаажуулсан судалгааны ажил хараахан нийтлэгдээгүй байна.	Халдвартай вирусийг мадаггүй илрүүлнэ.	Мэдрэх чанарын хувьд ПГУ-аас доогуур. Удаан – хугацаа их ордог. Эд, эс өсгөвөрлөх тоног төхөөрөмж, хэрэглэгдэхүүн шаардлагатай. Сорьц цуглуулах тухайн цаг үеийн амьтны дархлааны статусаас хамааралтай.	Hussey нар, 2006 Lawrence нар, 1994
ХХУ ++ IgG, IgM	Байгалийн халдвар авсан эсхүл зориуд халдвар хийсэн адуунаас халдварын цочмог үед нь болон эдгэрсэн хойно нь авсан 33 ийлдэсний сорьц	Оношилгооны аргыг найдвартай баталгаажуулсан судалгааны ажил хараахан нийтлэгдээгүй байна.	Вирус илрүүлэх аргаар сөрөг урвал үзүүлдэг болчихсон саяхны халдварыг оношлох боломжтой. 14-28 хоногийн зайтай цуглуулсан хос дээжийг харьцуулах нь вирус илрүүлэх зорилгоор цуглуулсан дээжээс хамаагүй урт хугацааг хамардаг.	14-28 хоногийн зайтай цуглуулсан хос дээж шаардлагатай.	Hartley нар, 2005
ВСУ ++	Байгалийн халдвар авсан эсхүл зориуд халдвар хийсэн адуунаас халдварын цочмог үед нь болон эдгэрсэн хойно нь авсан 33 ийлдэсний сорьц	Оношилгооны аргыг найдвартай баталгаажуулсан судалгааны ажил хараахан нийтлэгдээгүй байна.	ХХУ-тай ижил (дээрхийг үзэх)	14-28 хоногийн зайтай цуглуулсан хос дээж шаардлагатай.	Hartley нар, 2005
ЕЛИЗА ++	Байгалийн халдвар авсан эсхүл зориуд халдвар хийсэн адуунаас халдварын цочмог үед нь болон эдгэрсэн хойно нь авсан 33 ийлдэсний сорьц	Оношилгооны аргыг найдвартай баталгаажуулсан судалгааны ажил хараахан нийтлэгдээгүй байна.	ХХУ-тай ижил (дээрхийг үзэх)	14-28 хоногийн зайтай цуглуулсан хос дээж шаардлагатай.	Hartley нар, 2005

ХАВСРАЛТ 3: АДУУНЫ РИНОПНЕВМОНИ (ВАРИЦЕЛЛОВИРУС ЭКВИДАЛЬФА-1 -ийн ХАЛДВАР)
ШИНЖИЛГЭЭНИЙ ЗОРИЛГО: **ЭМНЭЛ ЗҮЙН ТОХИОЛДЛЫГ БАТАЛГААЖУУЛАХ**

Шинжилгээний арга; оноо, шинжлэх амьтны зүйл	**Шинжлэх популяци**	**Баталгаажуулалтын тайлан**	**Давуу тал**	**Сул тал**	**Лавлах эх сурвалж**
ПГУ +++ ДНХ	Дэгдэлтийн судалгааны хүрээнд мэдрэлийн хямралын 46 тохиолдол Мэдрэлийн хэлбэрийн дэгдэлтийн үеэр 60 адуу Хээл хаясан 244 тохиолдол Хээл хаях хэлбэрийн дэгдэлт (18 хээл) Хээл хаях хэлбэрийн дэгдэлт (7 зулбадас болон 1 үхсэн нялх унага)	Оношилгооны аргыг найдвартай баталгаажуулсан судалгааны ажил хараахан нийтлэгдээгүй байна	Мэдрэх болон өвөрмөц чанар маш өндөр. Түргэн.	Шинжилгээний мэдрэх чанар өндөр учраас лабораторид эсхүл эмчээс дээж цуглуулах үед бохирдох эрсдэл гарснаар хуурамч эерэг дүн үзүүлж болно.	Henninger нар, 2007 Couroucé нар, 2023 Garvey нар, 2019 Barbic нар, 2012 Van Maanen нар, 2000
Вирус ялгах ++ Халдвартай эс	Хээл хаях хэлбэрийн дэгдэлт (7 зулбадас болон 1 үхсэн нялх унага) Дэгдэлтийн судалгаагаар мэдрэлийн мямралын 46 тохиолдол АХВ-1-ээр үүсэх саажих болон нялх унаганы өвчний судалгаа шинжилгээ (170 амьтан) Мэдрэлийн хэлбэрийн дэгдэлт (13 аж ахуй) Хээл хаях хэлбэрийн дэгдэлт (18 хээл)	Оношилгооны аргыг найдвартай баталгаажуулсан судалгааны ажил хараахан нийтлэгдээгүй байна	Халдвартай вирусийг найдвартай илрүүлнэ.	Мэдрэх чанарын хувьд ПГУ-аас доогуур Удаа – цаг хугацаа их ордог. Эд, эсийн өсгөврийн тоног төхөөрөмж, хэрэглэгдэхүүн шаардлагатай.	Van Maanen нар, 2000 Henninger нар, 2007 McCartan нар,1995 Gryspeerdt нар,2011 Barbic нар, 2012
Шууд иммунфлюресценц ++ Эсрэгтөрөгч	Хээл хаях хэлбэрийн дэгдэлт (7 зулбадас болон 1 үхсэн нялх унага)	Оношилгооны аргыг найдвартай баталгаажуулсан судалгааны ажил хараахан нийтлэгдээгүй байна	Эд шинжилж богино хугацаанд урьдчилсан онош тогтооно	Мэдрэх чанарын хувьд ПГУ-аас доогуур.	Van Maanen нар, 2000 Gunn нар, 1992
ХХУ ++ IgG, IgM	АХВ-1-ээр үүсэх саажих болон нялх унаганы өвчний судалгаа шинжилгээ (170 амьтан) АХВ-1-ийн мэдрэлийн хэлбэрийн дэгдэлт судалгаа шинжилгээгээр 122 адуу	Оношилгооны аргыг найдвартай баталгаажуулсан судалгааны ажил хараахан нийтлэгдээгүй байна	Вирус илрүүлэх аргаар сөрөг урвал үзүүлдэг болчихсон саяхны халдварыг оношлох боломж олгоно. 14-28 хоногийн зайтай цуглуулсан хос дээжийг харьцуулах нь вирус илрүүлэх зорилгоор цуглуулсан дээжээс хамаагүй урт хугацааг хамардаг.	АХВ-1 болон АХВ-4-ийг хооронд нь ялгаварлахгүй. Баталгаажуулах оношилгоонд 14-28 хоногийн зайтай цуглуулсан хос дээж шаардлагатай ба иймд эргэж сурвалжлан судалж онош тогтооно.	McCartan нар, 1995 Strang & Newton, 2017 Van Maanen нар, 2000

	Хээл хаях хэлбэрийн дэгдэлт (7 зулбадас болон 1 үхсэн нялх унага)		Хавсарга холбох эсрэгбие ихэвчлэн түргэн буурдаг ба оношбатлагдаагүй нөхцөлд өндөр таньцаар нь баталгаажуулах тул дан сорьц авч шинжлэх нь ач холбогдолтой.	Вирус цусанд нь тархсан унаганд шингэний дархлааны хариу урвал муу байсан тухай мэдээлсэн.	
ВСУ ++ IgG	Дэгдэлтийн судалгаагаар мэдрэлийн 46 тохиолдол Хээл хаях хэлбэрийн дэгдэлт Хээл хаях хэлбэрийн дэгдэлт (7 зулбадас болон 1 үхсэн нялх унага)	Оношилгооны аргыг найдвартай баталгаажуулсан судалгааны ажил хараахан нийтлэгдээгүй байна	Вирус илрүүлэх аргаар сөрөг урвал үзүүлдэг болчихсон саяхны халдварыг оношлох боломж олгоно. 14-28 хоногийн зайтай цуглуулсан хоёр дээжийг харьцуулах нь вирус илрүүлэх зорилгоор цуглуулсан дээжээс хамаагүй урт хугацааг хамардаг.	14-28 хоногийн зайтай цуглуулсан хос дээж шаардлагатай Эргэж сурвалжлан судалж оношогоох эсхүл оношийг хожимдож тогтооно. АХВ-1 болон АХВ-4-ийг хооронд нь ялгаварлахгүй.	Henninger нар, 2007 Gryspeerdt нар, 2011 Van Maanen нар, 2000
ЕЛИЗА ++	Хээл хаях хэлбэрийн дэгдэлт (7 зулбадас болон 1 үхсэн нялх унага) Байгалийн халдвар авсан эсхүл зориуд халдвар хийсэн адуунаас халдварын цочмог үед нь болон эдгэрсэн хойно нь авсан 33 ийлдэсний дээж	Оношилгооны аргыг найдвартай баталгаажуулсан судалгааны ажил хараахан нийтлэгдээгүй байна	ВСУ болон ХХУ-ыг бодвол шинжилгээ хийхэд илүү хялбар Нэг дор олон дээж шинжлэх боломжтой. АХВ-1 болон АХВ-4-ийг хооронд нь ялгаварлан оношилно.	Баталгаажуулалтыг хээрийн нөхцөлд илүү олон удаа хийх шаардлагатай	Van Maanen нар, 2000 Hartley нар, 2005

ХАВСРАЛТ 4: АДУУНЫ РИНОПНЕВМОНИ (ВАРИЦЕЛЛОВИРУС ЭКВИДАЛЬФА-1 -ийн ХАЛДВАР)
ШИНЖИЛГЭЭНИЙ ЗОРИЛГО: ХАЛДВАРЫН ТАРХАЛТ – ТАНДАЛТ

Шинжилгээний арга; оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Шинжилсэн популяци	Баталгаажуулалтын тайлан	Давуу тал	Сул тал	Лавлах эх сурвалж
ВСУ +++ IgG	163 адуу 53.6% (37/69) АХВ-1 (ЕЛИЗА-аар сөрөг урвал ВСУ-аар эерэг байсан ба 90.5%. ЕЛИЗА-аар эерэг урвал ВСУ-аар эерэг байсан) 86 луус 128 илжиг	Оношилгооны аргыг найдвартай баталгаажуулсан судалгааны ажил хараахан нийтлэгдээгүй байна	Эсрэгбие удаан хугацаанд хадгалагдана Мэдрэх чанарын хувьд ЕЛИЗА-аас илүү	Эд, эс өсгөвөрлөх тоног төхөөрөмж, хэрэглэгдэхүүн, амьд вирус шаардлагатай. Ажиллагаа ихтэй. АХВ-1 болон АХВ-4-ийг хооронд нь ялгаварлахгүй.	El Brini нар, 2021 Ataseven нар, 2009
ЕЛИЗА ++	163 адуу 290 адуу 237 гүү 200 унага	Оношилгооны аргыг найдвартай баталгаажуулсан судалгааны ажил хараахан нийтлэгдээгүй байна	ВСУ-ыг бодвол шинжилгээ хийхэд илүү хялбар Нэг дор олон дээж шинжлэх боломжтой.	АХВ-1-ийг илрүүлэх мэдрэх чанарын хувьд ВСУ-аас догуур. Бараг бүх (100%) дээжид АХВ-4 эерэг гарсан. Хээрийн баталгаажуулалт илүү хийх шаардлагатай	El Brini нар, 2021 Ataseven нар, 2009 Foote нар, 2004 Gilkerson нар, 1999

			Төрөл-өвөрмөц ЕЛИЗА-аар АХВ-1 болон АХВ-4-ийг хооронд нь ялгаварлан оношлох боломжтой.		

ХАВСРАЛТ 4: АДУУНЫ РИНОПНЕВМОНИ (ВАРИЦЕЛЛОВИРУС ЭКВИДАЛЬФА-1 -ийн ХАЛДВАР)
ШИНЖИЛГЭЭНИЙ ЗОРИЛГО: **ВАКЦИНЖУУЛАЛТЫН ДАРАА БОДГАЛЬ ЭСХҮЛ ПОПУЛЯЦИЙН ДАРХЛААНЫ СТАТУСЫГ ТОГТООХ**

Шинжилгээний арга; оноо, шинжлэх амьтны зүйл	**Шинжилсэн популяци**	**Баталгаажуулалтын тайлан**	**Давуу тал**	**Сул тал**	**Лавлах эх сурвалж**
ВСУ +++ IgG	Өөрчилсөн амьд вакцинаар вакцинжуулсан 192 гүү, идэвхгүйжүүлсэн вакцинаар вакцинжуулсан 150 гүү Уралдааны 50 морь Уралдааны 30 морь 20 унага	Оношилгооны аргыг найдвартай баталгаажуулсан судалгааны ажил хараахан нийтлэгдээгүй байна	Эсрэгбие удаан хугацаанд хадгалагдана Вирус гадагшлах хугацааны хамаарлын зарим нотолгоо	Эд, эсийн өсгөврийн тоног төхөөрөмж, хэрэглэгдэхүүн, амьд вирус шаардлагатай. Ажиллагаа ихтэй. АХВ-1 болон АХВ-4-ийг хооронд нь ялгаварлахгүй.	Bresgen нар, 2012 Bannai нар, 2019 Gildea нар, 2016 Heldens нар, 2001
ХХУ +++ IgG, IgM	71 сарваа 20 унага, хээлтэй 5 гүү Хээлтэй 5 гүү, бие гүйцсэн 9 адуу	Оношилгооны аргыг найдвартай баталгаажуулсан судалгааны ажил хараахан нийтлэгдээгүй байна	Вакцинжуулалтын дараа эсрэгбиеийг ВСУ-аас илүү эрт илрүүлэх боломжтой. Эмнэл зүйн шинж тэмдэг буурсны хамаарлын зарим нотолгоо	Эсрэгбие нь ВСУ-ын эсрэгбиеэс богино хугацаанд хадгалагдана АХВ-1 болон АХВ-4-ийг хооронд нь ялгаварлахгүй	Allkofer нар, 2021 Heldens нар, 2001 Kydd нар, 2003 Singh нар, 2004
ELISA ++ Гликопротеин G	Уралдааны 44 морь Уралдааны 106 морь	Оношилгооны аргыг найдвартай баталгаажуулсан судалгааны ажил хараахан нийтлэгдээгүй байна	ВСУ болон ХХУ-ыг бодвол шинжилгээ хийхэд илүү хялбар Нэг дор олон дээж шинжлэх боломжтой. Төрөл-өвөрмөц ЕЛИЗА-аар АХВ-1 болон АХВ-4-ийг хооронд нь ялгаварлан оношлох боломжтой.	Вакцинжуулалтын дараах дархлааны хариу урвалыг хэмжихэд ЕЛИЗА урвалын мэдрэх чанар ХХУ эсхүл ВСУ-ынхаас бага гэсэн зарим нотолгоо байдаг.	Yasunaga нар, 2000 Bannai нар, 2014

БҮЛЭГ 38 (3.6.9)

АДУУНЫ ТАРААГУУР СУДАСНЫ ВИРУСТ ҮРЭВСЭЛ (АДУУНЫ ТАРААГУУР СУДАСНЫ ВИРУСТ ҮРЭВСЛИЙН ВИРУСИЙН ХАЛДВАР)

А. УДИРТГАЛ

1. Өвчний тодорхойлолт, үүсэх шалтгаан

Адууны тараагуур судасны вируст үрэвсэл (АТСВҮ) нь *Nidovirales* багийн, *Arteriviridae* овгийн, *Arterivirus* төрлийн эерэг-утгат, дан утаслаг РНХ агуулсан адууны тараагуур судасны үрэвсэл өвчний вирус (АТСҮВ)-ээр адууны овгийн амьтанд үүсдэг, хавьтал халдварт өвчин юм (Cavanagh, 1997). Өнөө хүртэл уг вирусийн зөвхөн ганц ийлдсэн хэвшлийг тогтоогдоод байна. Өмнө нь энэ өвчнийг шинж тэмдгээрээ АТСВҮ өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдэгтэй зарим талаар ойролцоо хулгана яр, нүд ягаарах, иж балнадын халуурал, адууны томуу гэсэн нэрээр нэрлэж байжээ. Хэдийгээр ч АТСҮВ халдварласан амьтны төрөлд шинэ газрын тэмээ, тухайлбал лама гөрөөс, альпака орж болох нотолгоо (Weber нар, 2006) маш ховор байдаг ч уг вирусийн халдварлах жинхэнэ эзэн нь адууны овгийн амьтдаас хэтэрдэггүй бололтой. Энэ вирус хүний эрүүл мэндэд аюул учруулахгүй (Timoney & McCollum, 1993).

АТСҮВ-ийн цочмог халдварын дийлэнх тохиолдолд эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрдэггүй ч вирусийн зарим омог өвчний яцад тохиолдож болох хүндрэлээрээ ялгаатай өвчин үүсгэнэ (Timoney & McCollum, 1993). АТСВҮ өвчний үед эмнэл зүйн дараах онцлог бүх хэв шинж дангаараа эсхүл янз бүрээр хавсарч илэрнэ. Үүнд: халуурах, номойрох, тэжээлийн дуршилгүй болох, цусны цагаан эсийн тоо цөөрөх, хаван тогтонгиших, нүдний салст бүрхэвч үрэвсэх, нүднээс нуух гоожих, нүдний зовхи, аяга хавдах, хамар үрэвсэх, хамраас нус гоожих, хэсэг газар эсхүл бүх биеэр арьс туурах, цочмог өвчилсөн азарга түр зуур гүү гишгэж чадахгүй болох, гүү хээл хаях, амьгүй унага гаргах, ховор боловч нялх унаганы уушги, гэдэс үрэвсэх, эсхүл хамтдаа үрэвсэх зэрэг болно. Өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдгийн илрэлийн хүнд хөнгөнөөс үл хамааран өвчтэй адуу бараг бүгдээрээ бүрэн эдгэрнэ. АТСВҮ өвчний дэгдэлтийн үед хорогдол маш бага гарах ба ялангуяа эхийн хэвлийд байхдаа вирусийн халдвар авчихсан унага төрөөд удалгүй ихэвчлэн үхэх нь тохиолдох (Timoney & McCollum, 1993; Vaala нар, 1992) ба бие гүйцсэн эрүүл адуу үхэх нь маш ховор.

Цочмог халдвартай азарганууддаас хожмоо үржлийн эрхтнүүддээ удаан хугацаагаар вирус тээх болон үрийн шингэнээрээ вирус гадагшлуулах нь янз бүр (Timoney & McCollum, 1993). Вирус тээгч байх нь андрогенээс хамааралтай байдгийг азарганд судалж тогтоосон бөгөөд харин ийм хамаарал гүү, соёолон гүү, үржлийн нас гүйцээгүй өсвөр адуунд байхгүй (Timoney & McCollum, 1993). Гонадотропин ялгаруулах гормоныг саатуулагч хэрэглэх эсхүл гонадотропин ялгаруулах гормоноор дархлаажуулалт хийх замаар цусан дахь тестостероны хэмжээг түр зуур зориуд буулгахад вирус тээх байдал зарим азарганд хурдан арилгадаг ч дээрх аль ч эмчилгээний аргын үр нөлөөг өдий хүртэл бүрэн тогтоогоогүй байна. Эмчилгээний ийм оролдлогыг вирус тээх байдлыг зориуд нуух зорилгоор хэрэглэж болох санаа бас яригддаг.

АТСВҮ өвчнөөр үхсэн адуунд ил харагдах болон бие бүтцийн бичил бүтцийн өөрчлөлт нь вирусийн нөлөөгөөр судсанд үүссэн тархмал гэмтэл байдаг (Del Piero, 2000). АТСҮВ голдуу тараагуур болон хураагуур хялгасан судсыг нэрвэн судасны тархмал үрэвсэл үүсгэнэ. Үүнээс шалтгаалан ялангуяа арьсан доорх эслэг, хөл мөч, хэвлийгээр хаван, тогтонгишил үүсэх, цус харвах ба хэвлий болон цээжний хөндийн, үнхэлцгийн шингэн хэвийнхээс ихэснэ (Jones нар, 1957). АТСВҮ өвчнөөр үхсэн нялх унаганд уушгины хаван, тэлэгдэлт, завсрын эдийн үрэвсэл, гэдэсний үрэвсэл, дэлүүний шигдээс илэрдэг байна (Del Piero, 2000). Хээл хаясан тохиолдолд ил харагдах эмгэг өөрчлөлт илрэхгүй бөгөөд ихэс, зулбадасны элэг, дэлүү, уушгинд бичил өөрчлөлт гарсан байж болох юм.

АТСВҮ өвчний эпидемиологид ач холбогдолтой хүчин зүйлд вирусийн омгуудын фенотипийн хувилбар, цочмог болон архаг халдварын үеийн вирус дамжин халдварлалт, азарга вирус тээгч болсон эсэх, олдмол дархлааны мөн чанар болон үргэлжлэх хугацаа, адууны аж ахуйд гарч байгаа өөрчлөлт

орно. Дэлхийн олон улс орны адууны популяцид АТСВҮ гарч байна (Timoney & McCollum, 1993). Сүүлийн жилүүдэд адууны шилжилт хөдөлгөөн болон азарганы үрийн шингэнийг зөөвөрлөн хэрэглэх нь ихээхэн нэмэгдсэнтэй холбоотойгоор АТСВҮ өвчний тохиолдол олшров (Balasuriya нар, 1998). АТСҮВ амьсгалын зам, эвцэлдүүлэг, хээл тээлтийн үед дамжин халдварлана. Цочмог халдварын үед амьсгалын замаар хамгийн их тархана. Цочмог халдвартай азарга эсхүл гүү болон вирус тээгч азарганаас хээлтүүлгийн үеэр АТСҮВ дамжин халдварлана.

АТСВҮ өвчинтэй тэмцэх одоогийн хөтөлбөрийн зорилго нь хээл хаялт элбэгших, нялх унага хорогдох, унага болон азарга вирус тээгч болох эрсдэлийг дээд зэргээр бууруулах үүднээс үржлийн популяцид АТСҮ-ийн вирус тархахаас хамгаалахад оршино (Timoney & McCollum, 1993). Ийм хөтөлбөрийг хэрэгжүүлэхдээ үржүүлэгт ашиглах азарга болон үржлийн нас гүйцсэн байдсыг сонгон вакцинжуулахаас гадна адуун сүргийн арчилгаа маллагааг сайжруулна.

3. Ялгаварлах оношилгоо

АТСВҮ-ийг адууны амьсгалын замын болон адууны томуу өвчин, адууны херпес вирус 1 болон 4-ийн халдвар, адууны хамрын хөндийн үрэвслийн А болон Б вирусийн халдвар, адууны аденовирус, адууны ялангуяа арьсны цус харвалтаар илрэх стрептококкын халдвар зэрэг эрхтэн тогтолцооны хамгийн элбэг тохиолддог бусад өвчнүүдээс эмнэл зүйн шинж тэмдгээр ялгаварлах боломжгүй. Түүнчлэн энэ өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдэг адууны цус багасах халдварт өвчин, адууны тархи гэмтэх өвчний вирус, адууны Африк мялзан, Хендра вирусийн халдвар, Гетах вирусийн халдвар, буурал бертероа (*Berteroa incana*) ургамлын хордлоготой адил төстэй (Timoney & McCollum, 1993).

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Адууны тараагуур судасны вируст үрэвслийг оношлох шинжилгээнд хэрэглэх арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүйг тогтоох	Бодгаль халдваргүйг тогтоох	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах	Халдварын тархалт тогтоох – Тандалт	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгчийг ялган тогтоох						
Вирус ялгах	–	+++	–	+++	–	–
ПГУ	–	+++	–	+++	–	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
АГНТУ	–	–	–	–	–	–
ХХУ	–	–	–	+++	–	–
ЕЛИЗА	+	++	+	++	+++	+
ВСУ	+	+++	+	+++	+++	+++

Түлхүүр үг:
+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
++ энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй
ЕЛИЗА = Энзим холбоост дархлааны урвал;
ХХУ = Хавсарга холбох урвал;
АГНТУ = Агарын гельд нэвчин тунадасжих урвал;
ЕЛИЗА = Энзим холбоост дархлааны урвал;
ВСУ = Вирус саармагжуулах урвал;
[a] Үүсгэгч илрүүлэх төрөл бүрийн шинжилгээг эмнэл зүйн нэг ижил сорьцод хийх нь зүйтэй.

АТСВҮ-ийн вирусийг шаардлага хангах эмнэл зүйн болон эдийн дээжээс эсийн өсгөвөрт вирус ялган авах, хэд хэдэн төрлийн урвуу транскрипцт полимеразагийн гинжин урвал (УТ-ПГУ) -аар вирусийн нуклейн хүчлийг илрүүлэх замаар ялган тогтооно. Оношилгооны дээрх арга хоёул АТСВҮ-ийн эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах, мөн түүнчлэн бодгаль амьтныг адууны тараагуур судасны үрэвслийн вирус (АТСҮВ)-ийн халдваргүй болохыг тогтооход шаардлага хангана. Сүүлийн үед вирус

ялган авах болон УТ-ПГУ-ын шинжилгээг тандах судалгаа болон мал амьтны шилжилт хөдөлгөөнд зөвшөөрөл олгох шинжилгээнд ашиглаж байна. Гүү хээл хаясан, нялх унага эсхүл хөгшин адуу үхсэн шалтгааныг АТСВҮ-д сэжиглэж байгаа тохиолдолд дархлаа судлалын тэмдэглэгээ хийх янз бүрийн аргаар эсрэгтөрөгч илрүүлж оношилгоонд ашиглаж байна.

АТСҮВ-ийг ялган авахад цөөн хэдэн эсийн өсгөвөр ашиглаж туршсанаас туулайн бөөрний RK-13 дамжмал эс (ATCC CCL37 эсхүл RK13-KY1[1]) ялангуяа азарганы үрийн шингэнийг шинжлэхэд хамгийн тохиромжтой байжээ. Эмнэл зүйн болон гэмтэлтэй материалд АТСҮВ-ийг илрүүлэхэд вирус ялган авах арга мэдрэх чанарааараа УТ-ПГУ-тай ижилхэн байсныг хэд хэдэн цогц судалгаагаар харьцуулан харуулжээ. Хэдийгээр вирусийг олон удаа эсийн өсгөврийн эхний зорчуулалтаар ялган авч байсан ч үр дүнгээ өдөртөө гаргадаг УТ-ПГУ-тай харьцуулахад вирус ялгах арга оношилгооны хурдавчилсан арга биш болжээ.

АТСҮВ-ийг илрүүлэх төрөл бүрийн (нэг шатат, угсраа, бодит цагийн) УТ-ПГУ-ыг хөгжүүлээд байна. Харамсалтай нь тэдгээрээс маш цөөн хэдийг зохих ёсоор баталгаажуулж мэдрэх болон өвөрмөц чанарыг нь вирус ялган авах аргатай харьцуулан тогтоожээ. Шинжилгээний аргын оношилгооны мэдрэх чанар болон тогтвортой байдалд голлох нөлөө үзүүлдэг учраас нуклейн хүчлийг ялган авах, түүнийгээ бодит цагийн УТ-ПГУ-аар олшруулахад хэрэглэх урвалжийн цомгийг зөв сонгох нь чухал болохыг онцлон анхаарах нь зүйтэй (Miszczak нар, 2011).

АТСҮВ-ийг хөлдүү эсхүл бэхжүүлсэн эдийн зүсмэгт илрүүлэхэд вирусийн нэг төрлийн эсрэгтөрөгчид өвөрмөц өөр гарлын ийлдэс эсхүл вируст маш тогтвортой агуулагддаг нуклеокапсид (N) уургийн эсрэг ижил гарлын эсрэгбие ашиглан иммунгистохимийн арга хэрэглэх нь хамгийн сайн аргад тооцогдоно.

АТСҮВ-ийн эсрэгбие ирүүлэхэд ашиглахаар үнэлгээ хийгдсэн ийлдэс судлалын шинжилгээний аргуудаас хавсарга ашигладаг вирус саармагжуулах урвал (ВСУ) АТСҮВ-ийн цочмог халдварыг оношлох болон ийлдэсний тандах судалгаанд хэрэглэхэд хамгийн найдвартай арга юм. Энзим холбоост дархлааны (ЕЛИЗА) хэд хэдэн аргыг хөгжүүлснээс мэдрэх болон өвөрмөц чанарын хувьд цөөн хэд нь ВСУ-ынхтай дүйн харьцуулах түвшинд байх боловч яг адилхан байж чаддаггүй. АТСҮВ-ийн эсрэгбие илрүүлэхэд ВСУ 72 цаг зарцуулдаг бол ЕЛИЗА шинжилгээний үр дүн өдөртөө гардгаараа ашигтай. Байгалийн халдварын эсрэгбие болон вакцинжуулалтаас үүссэн эсрэгбиеийн таньцыг найдвартай ялгаварлах шинжилгээний арга гараагүй байна.

1. Үүсгэгчийг ялган тогтоох

1.1. *In-vitro* өсгөвөр

АТСВҮ-ийн дэгдэлтийн сэжигтэй тохиолдолд эсхүл АТСҮВ-ийн халдварын эмнэл зүйн шинж тэмдэггүй тохиолдлыг баталгаажуулахад хамар залгиурын эсхүл хамрын хөндийн уг, нүдний салст бүрхүүлийн арчдас, бүлэгнээгүй цусны сорьц, вирус тээгч байж магадгүй азаргын үрийн шингэнээс вирус ялган авахыг аль болохоор эрхэмлэнэ (Timoney & McCollum, 1993). Халдвар авсан адуу халуурангуут шинжилгээний шаардлага хангах сорьцыг аль болохоор яаралтай авснаар дэгдэлтийн үед вирус ялган авах боломж дээшилнэ. Захын дан бөөмт эсээс вирус ялган авахын тулд цус үл бүлэгнүүлэгч этилен диамин тетра цууны хүчил дээр нимбэгийн хүчил нэмсэн орчинд цус авна. Туулайн бөөрний эс (RK-13 дамжмал эс) дээр АТСҮВ-ийн ургалтыг саатуулдаг гепарин бүхэл цуснаас вирус ялган авахад саад учруулж болзошгүй учраас түүнийг цус үл бүлэгнүүлэгчээр ашиглахгүй байх заалттай. АТСВҮ өвчний сэжигтэйгээр нялх унага эсхүл хөгшин адуу үхсэн тохиолдолд вирусийг янз бүрийн эдээс, тэр дундаа тэжээл боловсруулах зам, түүнд оролцдог эрхтнүүдтэй холбоотой тунгалгийн ангилаа, түүнчлэн уушги, элэг, дэлүүнээс ялган авахыг хичээх хэрэгтэй (McCollum нар, 1971). АТСВҮ-тэй холбоотой хээл хаялт дэгдэх болон/эсхүл амьдрах чадваргүй унага гарах тохиолдолд ихэс болон хээлийн шингэн, ихэсийн, тунгалгийн болон хээлийн бусад эдэд (ялангуяа уушги) өвчний үүсгэгч вирус агуулагдаж байх магадлалтай (Timoney & McCollum, 1993).

Вирус ялгахад зориулан авсан арчдасыг вирус зөөвөрлөлтийн тохирох орчинд хийж тэдгээрийг вирус ялган авах болон эсхүл УТ-ПГУ-ын шинжилгээнд зориулан авсан сорьцын хамт хөргөсөн эсхүл хөлдөөсөн байдлаар агаарын солилцол бүхий саванд хийгээд аль болохоор 24 цагт багтаан лабораторид хүргэнэ. УТ-ПГУ-аар шууд шинжлэхэд зориулан арчдас авах бол модон голтой бойтуур хэрэглэж болохгүй ба учир нь модонд ПГУ-д нөлөөлөхүйц хадгалааслагч бодис агуулагдаж болзошгүй. Бүлэгнүүлээгүй цусны сорьцыг

[1] Available from the WOAH Reference Laboratory for EVA in the United States of America (USA) (please consult the web site for full contact details: https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3)

хөргөж тээвэрлэх ба харин хөлдөөж болохгүй. Боломжтой бол сорьцыг энэ өвчнийг шинжлэх ур чадвартай болох нь тогтоогдсон лабораторид илгээнэ.

Зөөвөрлөх орчинд хийсэн хамар залгиурын арчдас тус бүрийг 10 мл-ийн тариурт шилжүүлэн хийж түүний шахуургаар хандлан боловсруулсан бүх шингэнийг авч ариун цодонд хийнэ. Нэг удаа хэрэглэх хэмжээгээр тасалж хуваасан шингэнийг урьдчилж шүүсний дараа 0.45 µm-ийн сүвтэй мембран шүүлтүүрээр шүүж түүнийг эсийн өсгөвөрт халдварлуулахад зориулан ариун байдлаар цуглуулж авна.

Бүлэгнүүлээгүй цусыг 600 *g* хурдаар 15 минут хурилдуурдаж сийвэнг болгоомжтой авсны дараа цагаан эсийн хөвмөл (бафи коат)-ийг салган авдаг. Захын цусны дан бөөмт эс (ЗЦДБЭ) салгагч уусмал Фиколл 1.077 дээр цагаан эсийн хөвмөлийг үелүүлж 400 *g* хурдаар 20 минут хурилдуурдана. ЗЦДБЭ-ийн (ихэнх гранулоцит байхгүй) гадаргууг фосфатын буфержүүлсэн уусмалаар хоёр дахин угааж (300 *g* хурдаар 10 минут) дараа нь ҮХИ 2%-иар агуулсан 1 мл Ийглийн МЭМ тэжээлт орчинд уусган сэргээнэ. Эсийг зайлсан цийдмэгээс 0.5 мл-ийг авч 25 см^2-ийн колбо эсхүл олон талт ханатай үүр бүхий хавтанд хийгээд дээр нь тогтворжуулагч тэжээлт орчин нэмнэ.

АТСҮВ-ийн байгалийн халдварын тохиолдолд тэр бүр амжилт олдоггүй (Timoney & McCollum, 1993) ч эмнэл зүйн болон задлан шинжилгээний сорьцоос туулай, адуу эсхүл сармагчны бөөрний эс ашиглан вирус ялгахыг хичээх хэрэгтэй (Timoney нар, 2004; Timoney & McCollum, 1993). RK-13 (ATCC CCL-37), LLC-MK2 (ATCC CCL-7) гэх мэт шилмэл дамжмал эс, адуу эсхүл туулайн анхдагч эсийн өсгөвөр хэрэглэж болох ба эдгээрээс RK-13 эс хамгийн чухалд тооцогдоно (Timoney нар, 2004). Тохирсон эсийн өсгөвөр хэрэглэхгүй л бол АТСҮВ-ийг үрийн шингэнээс шууд ялгахад эмнэл зүйн бусад сорьцоос эсхүл халдвартай эдээс ялган авахаас хавьгүй хэцүү болохыг олон жилийн туршлага харуулсан байна. Үрийн шингэнээс АТСҮВ-ийг RK-13 эсэд шууд ялган авахад хэд хэдэн хүчин зүйл нөлөөлдөг. 3-5 хоногт зайгүй битүү ургасан дан үе эсээс вирус ихээр ялган авсан ба энэ нь эсийн өсгөврийн колбо эсхүл олон ханатай үүр бүхий хавтан дахь эсийн гадаргууд харьцангуй их тунгаар халдвар хийсэн, хамгийн гол нь эсийн өсгөврөө бүрхэх тэжээлт орчинд карбокси метилцеллюоза (тэжээлт орчны зууралдамхай чанар 400–800 сантипауз) оруулж өгсөнтэй холбоотой. Ихэнх RK-13 эс, түүний дотор АТСС CCL-37 үхрийн диарей өвчний вирусээр бохирлогдсон байдаг ба ийм вирустэй байх нь АТСҮВ-ийг ялангуяа үрийн шингэнээс шууд ялган авахад энэхүү эсийн өсгөврийн мэдрэг чанарыг нэмэгдүүлдгийг тэмдэглэх нь зүйтэй. Дээж дэх вирусийн халдварлах чадвар бага байх нөхцөлд олон удаа зорчуулсан RK-13 эс ашиглахад[2] АТСҮВ-ийг ялган авах боломж нэмэгддэг (Timoney нар, 2004).

Халдвар хийсэн эсийн өсгөвөрт ихэвчлэн 2-6 хоногийн дотор илэрчихдэг эс эмгэгшүүлэх вирусийн нөлөө (ЭЭН)-г өдөр бүр шалгана. Хэрэв ЭЭН илрэхгүй бол 4-7 хоногийн дараа эсийн өсгөврийн дээд талын шингэнийг зайгүй битүү ургалттай дан үе эсэд сэлгэн өсгөвөрлөнө. АТСҮВ-ийн дийлэнх ихэнх өсгөврийг эсийн өсгөвөрт хийсэн эхний зорчуулалтаар гарган авдаг бол маш бага хэсэг нь *in vitro* хийсэн хоёрдох эсхүл дараа дараачийн зорчуулалтаар гаргаж авна (Timoney & McCollum, 1993). АТСҮВ-ийн өсгөвөр мөн эсэхийг стандарт эсхүл бодит цагийн УТ-ПГУ, нэг чиглэлийн саармагжуулах урвал, эсхүл дархлааны эсийн химийн арга (Little нар, 1995), шууд бус иммун флюоресценц (Crawford & Henson, 1973), эсхүл авидин-биотин, пероксидазагийн аргаар (Little нар, 1995) баталгаажуулж болно. Халдвар хийсэн эсийн өсгөвөрт АТСҮВ-ийг ялган тогтооход туулайн өөр гарлын эсрэг ийлдэс ашигласан байна. Түүнчлэн RK-13 эсэд халдвар хийснээс хойш 12-24 цагийн дотор вирусийн янз бүрийн омгийг АТСҮВ-ийн нуклеокапсидийн уураг (N) болон дугтуйны гол гликопротейн (GP5)-ий эсрэг туулайн ижил гарлын эсрэгбие, мөн түүнчлэн дугтуйны гликолизжээгүй уургийн (М) (Balasuriya нар, 1998) эсрэг гарган авсан туулайн өвөрмөц эсрэг ийлдэс ашиглан илрүүлнэ (Balasuriya нар, 1998; Little нар, 1995).

1.2. Үрийн шингэнээс вирус ялган авах

АТСҮВ-ийг түр болон удаан хугацаагаар тээгч азарга уг вирусийг амьсгалын эрхтний шүүрэл болон шээсээр бус харин үрийн шингэнээрээ байнга гадагшлуулдаг тухай олон баримт байдаг ч ийм амьтны цагаан эсийн хөвмөлд (захын цусны нэг бөөмт эс) вирус агуулагддаг нотолгоо байдаггүй (Timoney нар, 1987; Timoney & McCollum, 1993). Ийлдэс судлалын шинжилгээгээр АТСҮВ-ийн эсрэгбиеийн таньц эерэг буюу ВСУ-ын таньц ≥1/4 байсан, АТСВҮ-ийн эсрэг хэзээ ч вакцин олгож байгаагүй нь баталгаажсан, түүнчлэн анх вакцинжуулах үед ийлдэс судлалаар сөрөг (ВСУ-ын таньц <1/4) байсан азарганы үрийн

[2] ийм шугамын (RK-13-КҮ) вирусийг АНУ дахь ДМАЭМБ-ын АТСҮ өвчний лавлах лабораториос авах болоижтой (1-ийг үзэх).

шингэнээс вирус ялган авахыг хичээх хэрэгтэй. Тээвэрлэж ирүүлсэн үрийн шингэнд донор азарганы ийлдэс судлалын шинжилгээний дүн, вакцинжуулалтын түүхийг дагалдуулаагүй тохиолдолд уг үрийн шингэнээс вирус ялгах шаардлага тавигдана. Өдөртөө багтаан эсхүл дараагийн өдрүүдэд эсхүл хэдэн хоног эсхүл долоо хоногийн зайтайгаар хоёр удаа авсан үрийн шингэнээс вирус ялган авахыг зорих хэрэгтэй. Тухайн азарганы үрийн шингэнээс вирус ялган авахад үрийн шингэнийг авсан давтамж, хоорондын зай, жилийн цаг улирал нөлөөлсөн тухай баримт байдаггүй. АТСҮВ-ийг хиймэл үтрээ эсхүл сэлдийвч болон амьд эсхүл дууряймал туршуул гүү ашиглан ялгаруулж авсан үрийн бүх шингэнээс дээжилсэн хэсгээс ялгаж авна. Энэ аргаар үрийн шингэн цуглуулах боломжгүй бол үржүүлэгт оруулах үеэр үрийн шингэн авах төдийлөн хэрэглээд баймааргүй нэг хувилбар бий. Азарганаас үрийн шингэн авахын өмнө үржлийн эрхтний гадна талыг цэвэрлэхэд үжилгүйтгэх/халдваргүйтгэх бодис хэрэглэхгүй байхад анхаарна. АТСҮВ үрийн шингэний эхний хэсэгт агуулагдахгүй учир ялгаруулсан үрийн шингэн дэх үр ихтэй, АТСҮВ агуулж болох хэсгээс дээж бэлтгэнэ (Timoney нар, 1987; Timoney & McCollum, 1993). Үрийн шингэнийг цуглуулсан даруйд түүнийг нунтаг мөс эсхүл хөлдөөгчийн үүрэн тавиур дээр яаралтай байрлуулж лабораторид аль болохоор түргэн тээвэрлэж хүргэнэ. Шинжилгээний сорьцыг илгээхэд саатал гарах магадлалтай бол үрийн шингэнийг лабораторид илгээхийн өмнө богино хугацаагаар хөлдөөх эсхүл –20°C-ээс нам температурт байлгаж болно. Сорьцыг хөлдөөх нь түүнээс АТСҮВ-ийг ялгахад саад болдоггүй. Вирус ялган авах эсхүл вирус тээгч эсэхийг УТ-ПГУ-аар тогтоох бололцоогүй нөхцөлд азаргыг ийлдэс судлалын шинжилгээгээр сөрөг урвалтай хоёр гүүтэй эвцэлдүүлж уг өвчний вирусийн улмаас гүүний ийлдэсний урвал өөрчлөгдөх эсэхийг хээлтүүлэг хийсний дараах 28 хоног хүртэл хугацаанд шалгана (Timoney & McCollum, 1993).

Гонадотриин ялгаруулагч дааврын эсрэг эмээр эмчилсэн эсхүл үржлийн үйл ажиллагаа эсхүл зан авирыг өөрчлөх зорилгоор Гонадотриин ялгаруулагч даавраар дархлаажуулсан азарганаас АТСҮВ гадагшлах нь түр зуур тасалддаг учраас вирус тээгч эсэхийг найдвартай тогтоож өгөх боломжгүй байдаг.

1.2.1. Шинжилгээний аргачлал

i) Лабораторид хүлээн аваад үрийн шингэний сорьц хөлдсөн, хөргөсөн эсхүл орчны температуртай байсан эсэхийг тэмдэглэж авна. Сорьц бүрийг шалгаж түүнд үрийн шингэний доторх үр ихтэй хэсэг нь агуулагдаж байгаа эсэхийг шалгана. Зарим азарганаас үрийн сийвэн нь үрийн шингэний үр ихтэй болон желатинлаг хэсгээс урьтаж их хэмжээгээр ялгардаг. Азарга АТСҮВ тээгч байсан хэдий ч үрийн шингэний урьтал хэсэгт маш цөөн үр агуулагдах учир АТСҮВ сөрөг байх нь элбэг (Timoney нар, 1987). Вирусийг хамгийн сайн илрүүлэхийн тулд үрийн шингэний сорьц тус бүрээс 50 мкл авч тавиур шил дээр тавиад бүрхүүл шилээр бүрхэж үрийн агууламжийг микроскопын 100× өсгөлтөөр харж үнэлнэ. Харж шалгасан арван талбай тутамд дунджаар таваас цөөн үр агуулагдах үрийн шингэнийг шинжилсэн оношилгооны дүн эргэлзээтэйд тооцогдоно. Гэвч үр багатай, үрийн шингэн дэх үрийн тоо цөөрсөн азарга заримдаа АТСҮВ-ээр эерэг гардаг. Нөгөө талаар шинжилгээгээр вирус илрээгүй ч хэрэв ирүүлсэн дээжид үрийн тоо цөөхөн байсан бол энэ нь АТСҮӨ-өөр тайван болохыг баталж чадахгүй гэдгийг уг азаргын шинжилгээний хариунд тэмдэглэж өгнө. Үүнээс гадна үрийн шингэний сорьцыг харж шалган өнгө болон ил харагдах бохирдол байгаа эсэхийг тэмдэглэнэ. Хэрэв үрийн шингэний сорьц авах явцад азарганы үржлийн гадна эрхтний гэмтлээс үүсэлтэй цусаар үрийн шингэн бохирдсон байгаа бол сорьц дахин авч ирүүлэхийг шаардах ба учир нь ийлдэс судлалын шинжилгээгээр эерэг урвал үзүүлсэн азарганы ийм дээжийг ашиглах нь ийлдсэнд агуулагдах АТСҮВ-ийн эсрэгбие уг вирусийг найдвартай ялган авах найдварыг багасгана. Тохиолдох нь маш ховор ч шээсээр бохирдсон үрийн шингэн шаргалдуу туяатай байх нь бий. Ийм дээж адууны хамрын үрэвслийн А вируст эерэг урвал үзүүлж болзошгүй.

ii) Хэдийгээр чухалд тооцохоо больсон ч үрийн шингэнийг эсийн өсгөвөрт тарихын өмнө хэт богино авиагаар түр үйлчлэх (15 секундээр 3 удаа) нь дээжийг сайтар хольж үрийг нэгэн жигд тарааж өгнө

iii) 25 $см^2$-ийн колбо аль эсхүл олон ханатай үүр бүхий хавтанд 3-5 хоногт зайгүй битүү үргэлжлэн ургасан RK-13 дан үе эсэд тэжээлт орчныг нь авсны дараа үрийн шингэнийг ҮХИ 2%-иар, бас антибиотик агуулсан эдийн өсгөврийн тогтворжуулагч орчноор аравтын дараалсан (10–1-ээс 10–3 хүртэл) шингэлэлт хийгээд тарина. 25 $см^2$-ийн колбод 1 мл-ээр тарилт хийж байгаа бол үрийн шингэний шингэлэлт тус бүрд хоёроос цөөнгүй колбод тарилт хийнэ. Олон ханатай үүр бүхий хавтан ашиглаж

байгаа бол хийх тарилтын хэмжээ болон сорьцын шингэлэлт тус бүрээс тарилт хийх үүрний тоо дээрхтэй хувь тэнцүү байхаар тооцно. вируст эерэг хяналтын үрийн шингэнийг шинжилгээ хийх бүрдээ тохируулан шингэлээд эсхүл таньц нь тодорхой вирусийн хяналтыг эсийн өсгөврийн тэжээл орчноор шингэлээд хамт шинжилнэ.

iv) Колбыг бөглөөд эсхүл олон ханатай үүр бүхий хавтанг таглаад тарилт хийсэн эсийн өсгөврийг аяархан эргэлдүүлэн зайлж тарьсан зүйлийг дан үе эс дээгүүр тараана.

v) Тарилт хийсэн эсийн өсгөврийг колбо эсхүл хавтан ашиглаж байгаагаас хамааруулан агаартай дулаан тогтоогуурт эсхүл 5% CO_2 бүхий чийгтэй агаар бүхий дулаан тогтоогуурт 37°C-д 1 цаг өсгөвөрлөнө.

vi) Суулгасан тарьцыг буцааж авалгүй эсхүл дан үе эсийг угаалгүйгээр түүн дээр 0.75% карбокси метилцеллюоза агуулсан антибиотиктой тэжээлт орчин үелүүлнэ.

vii) Колбо эсхүл хавтанг 37°C-д дахин тавьж байлгаад ихэнхдээ 2-6 хоногийн дотор илэрдэг ЭЭН-г микроскопоор харж шалгана.

viii) Хэрэв ЭЭН илрэхгүй бол 5-7 хоногийн дараа эсийн өсгөврийн дээд талын шингэнээс авч 3-5 хоногт зайгүй битүү ургасан дан үе эсэд сэлгэн өсгөвөрлөнө. Дээр нь үелүүлсэн тэжээлт орчныг авсны дараа дан үе эсийг формалинаар буферждүүлсэн кристал ягааны 0.1% уусмалаар будна.

Ялган таньж тогтоосон аливаа вирусийн өсгөврийг стандарт эсхүл бодит цагийн УТ-ПГУ (Balasuriya нар, 1998; 2002; Gilbert нар, 1997; Lu нар, 2007; Miszczak нар, 2011; Westcott нар, 2003), ВСУ, иммунфлюресценц (Crawford & Henson, 1973) эсхүл ATCYB-ийн нэг төрлийн эсрэгтөрөгчид өвөрмөц эсрэг ийлдэс эсхүл вирусийн бүтцийн N аль эсхүл GP5 уургийн эсрэг ИГЭБ ашигладаг авидин биотиний хам нэгдлийн арга хэрэглэн баталгаажуулна.

Нэг чиглэлийн саармагжуулах урвал тавихдаа дараалсан аравтын шингэлт бүхий вирусийн өсгөврийг ATCYB-ийн туршилтын загвар болох Bucyrus омгийн (ATCC VR 796) эсрэг гарган авсан саармагжуулах ИГЭБ эсхүл өвөрмөц эсрэг ийлдэс, мөн вирус саармагжуулах эсрэгбие агуулаагүй ийлдсээр шалгана. Тохирох таньц бүхий туршилтын загвар Bucyrus вирусийг эсрэгбиеийн дээрхтэй ижилхэн жиших урвалжийн хамт шинжилгээнд хяналт болгон оруулна. Шинжилгээг 25 $см^2$-ийн колбо, аль эсхүл олон ханатай үүр бүхий хавтанд хийнэ. Эерэг болон сөрөг урвалтай нь нэгэнт тогтоогдсон ATCYB-ийн эсрэгбиеийн урвалжийг 56°C-ийн усан халаагуурт идэвхгүйжүүлж 7.2 pH бүхий фосфатын буферждүүлсэн давсны уусмалаар ¼-өөр шингэлээд шингэлсэн эсрэгбиеэс 0.3 мл-ийг шинжлэх өсгөвөр тус бүрд зориулсан тав таван хуруу шилэнд хийнэ. Вирусийн өсгөвөр тус бүрд үнээний хээлийн ийлдэс 10%, антибиотик болон усан гахайн шинэхэн шингэлсэн хавсарга 10% агуулсан Ийглийн МЭМ-д аравтын дараалсан шингэлэлт (10–1-ээс 10–5 хүртэл) хийнэ. Дараа нь вирус тус бүрийн шингэлэлтээс 0.3 мл-ийг авч эсрэгбиеийн эерэг болон сөрөг урвалж нэмнэ. Хуруу шилийг зайлаад вирус/эсрэгбиеийн холимгийг 37°C-д 1 цаг өсгөвөрлөнө. Дараа нь холимгийг 25 $см^2$-ийн колбо, аль эсхүл олон ханатай үүр бүхий хавтанд 3-5 хоногт зайгүй битүү ургасан RK-13 эсэд вирусийн шингэлэлт тус бүрд 2 колбо эсхүл хавтангийн хоёр үүр ноогдохоор тооцон тарина. Колбо тус бүрд 0.25 мл вирус/эсрэгбиеийн холимог тарих ба олон хана бүхий үүртэй хавтан ашиглаж байгаа бол тарьцын хэмжээг дээрх хувь хэмжээгээр тооцно. Тарилт хийсэн колбо эсхүл хавтанг 37°C-д 2 цаг байлгаад 1 цагийн дараа тарьцыг дан үе эсийн дээгүүр тараахын тулд болгоомжтой зайлж өгнө. Суулгасан тарьцыг авалгүй эсхүл дан үе эсийг угаалгүйгээр дан үе эс дээр 0.75% карбокси метилцеллюоза агуулсан тэжээлт орчин үелүүлээд агаартай дулаан тогтоогуурт эсхүл 5% CO_2 бүхий чийгтэй агаартай дулаан тогтоогуурт 37°C-д 4-5 хоног өсгөвөрлөнө. Дээр нь үелүүлсэн тэжээлт орчныг авсны дараа дан үе эсийг формалинаар буферждүүлсэн кристал ягааны 0.1% уусмалаар будна. Биенцрийг тоолж тогтоох ба вирусийн халдварлалтын таньцыг ATCYB-ийн эсрэгбие агуулагдаж байгаа эсэх аль алинаар нь Спийрман Карберийн аргыг ашиглан гаргана. Гаргасан өсгөврөө зөв ялган тогтоосон эсэхээ ATCYB-ийн Bucyrus омгийн эсрэгбиетэй ийлдэс хэрэглэхэд вирусийн биенцэр үүсэлт наад зах 10^2 лог хэмжээгээр буурсан эсэхийг үндэслэн баталгаажуулна.

Боловсруулсан шинжилгээний аргачлалыг (Timoney & McCollum, 1993) ашиглан эсийн өсгөвөрт хийсэн эхний зорчуулалтаар ATCYB-ийн дийлэнх ихэнх өсгөврийг вирус тээгч азарганаас гарган авчээ. Вирусийн бус шалтгаанаар сорьц дахь эс эмгэгших эсхүл бактериар бохирдох нь азарганы үрийн шингэнээс вирус ялган авахад төдийлөн асуудал үүсгэдэггүй. Вирусийн бус шалтгаанаар эсийн эмгэгшил илэрвэл энэ нь 10–1-ээр шингэлсэн үрийн сийвэн тарьсан дан үе эсэд ихэвчлэн нөлөөлдөг бол 10–2 шингэлэлтэд цөөрдөг байна. Ийм асуудал гаргахгүйн тулд тарилт хийхийн өмнө үрийн сийвэнг полиэтилен

гликолоор (Мол.жин: 6000) боловсруулах нь үр дүн өгнө. Энэ аргын дагуу 10–1-ээс 10–3 хүртэл шингэлсэн үрийн сийвэнд полиэтилен гликолыг шингэлэлт тус бүрийн эцсийн төвшрүүлэг 10% болохоор тооцож нэмнэ. Холимгийг болгоомжтой хутган 4°C-д хонуут байлгаад дараа нь 2000 *g* хурдаар 30 минут хурилдуурдаж дээд талын шингэнийг зайлуулна. Тунадсыг эсийн өсгөврийн тогтворжуулагч орчинд анхны шингэлэлтийн эзлэхүүний аравны нэгээр уусган сэргээгээд холимгийг шингэлэн нэгэн жигд болгоно. Дараа нь 2000 *g* хурдаар 30 минут хурилдуурдаж дээд талын шингэнийг авч тарилтад ашиглана. Үрийн сийвэнг ийм аргаар боловсруулах нь вирус ялган авах аргын мэдрэх чанарыг бууруулдаг талаа нотолгоо байхгүй (Fukunaga нар, 2000). Сорьц бактериар бохирдчихсон бол тухайн бодгаль азарганы үрийн шингэнийг дахин авч шинжлэх нь зохистой. Хэрэв ингэх боломжгүй бол дээжийг бохирдохоос хамгаалж антибиотик агуулсан вирус зөөвөрлөх орчноор урьдчилан боловсруулаад 4°C-д хонуут байлгасны дараа үлэмж өндөр хурдаар хурилдуурлаж тунашийг дахин цийдмэгжүүлсний дараа шингэлээд эсийн өсгөвөрт тарилт хийнэ.

Үрийг нь УТ-ПГУ-аар шинжлэхэд вирусийн нуклейн хүчил илэрч байсан азаргануудаас АТСҮВ ялган авч чадаагүй тухай хоёр мэдээлэл гарчээ. Үүний нэг тохиолдолд азарганы үрийн сийвэн вирус саармагжуулах маш өндөр идэвхтэй байсан учраас халдварлах чадвартай вирусийг түүнээс илрүүлэх боломжгүй болохыг харуулсан бөгөөд энэ үүднээс авч үзвэл УТ-ПГУ нь вирус ялган авах аргатай хамтдаа АТСҮВ-ийг илрүүлэх ач холбогдолтой байна.

1.3. Эсрэгтөрөгч илрүүлэх

АТСВҮ-ийн сэжигтэй өвчин дэгдэн амьтан хорогдох тохиолдолд цусны бүх судсанд илрэх үрэвслийг, ялангуяа бүх биеийг хэрсэн, тэр дундаа олгой, дэлүү, тэдгээрийн ойролцоох тунгалгийн зангилаа, бөөрний дээд булчирхайн холтослог бодист тод илэрдэг жижиг тараагуур болон хураагуур хялгасан судсыг шалгана. Гэмтсэн судасны дотор хөхөлжийн болон дунд ханын эсийг хамарсан тараагуур судасны тархмал үхжил үүссэн байвал АТСВҮ өвчний өвөрмөц хэв шинж гэж үзнэ. Гэвч бие гүйцсэн амьтанд илэрдэг судасны өвөрмөц гэмтэл АТСВҮ-тэй холбоотой хээл хаялтын олон тохиолдолд балархай байдаг.

АТСҮВ-ийн эсрэгтөрөгчийг АТСВҮ-ээр өвчилсөн амьтны янз бүрийн эдэд гэмтэл өөрчлөлт байсан эсхүл эс байсан ч илрүүлж болно (Del Piero, 2000). Эсрэгтөрөгчийг уушги, зүрх, элэг, дэлүү, зулбадасны ихсээс ялган авсан (Del Piero, 2000). Арьсны биопси сорьцыг иммунгистохимийн аргаар шинжилж цочмог явцтай АТСВҮ-ийг баталгаажуулж болно. АТСҮВ-ийн эсрэг адууны өөр гарлын, коньюгатласан эсрэгбие ашиглан иммунфлюоресценцийн аргаар (Crawford & Henson, 1973), эсхүл вирусийн GP5 аль эсхүл N уургийн эсрэг хулганын ИГЭб ашигладаг авидин биотиний хам нэгдлийн аргаар вирусийн эсрэгтөрөгчийг халдвар авсан эсийн цитоплазмд илрүүлж болно (Del Piero, 2000).

1.4. Молекул шинжилгээний арга

Стандарт хоёр шатат УТ-ПГУ, нэг шатат УТ-ПГУ, УТ угсраа ПГУ, бодит цагийн УТ-ПГУ (бцУТ-ПГУ)-ыг оношилгооны дээжээс эсийн өсгөвөрт вирус ялган авч АТСҮВ илрүүлэх аргын оронд эсхүл уг аргад нэмэр болгон өргөн хүрээнд ашиглаж байна. УТ-ПГУ-д суурилсан арга нь эмнэл зүйн сорьцод, тухайлбал хамар залгиурын эсхүл хамрын арчдасны шүүгдэс, цагаан эсийн хөвмөл, боловсруулаагүй болон шингэлсэн үрийн шингэн, шээс, задлан шинжилгээнээс авсан эдийн дээжид үүсгэгч вирусийн өвөрмөц РНХ-ийг илрүүлэн тогтоож өгнө (Balasuriya нар, 2002; Gilbert нар, 1997; Lu нар, 2007; Miszczak нар, 2011; Westcott нар, 2003). Стандарт, нэг шатат УТ-ПГУ, УТ угсраа ПГУ (УТ-уПГУ), бодит цагийн нэг цодонд явуулах TaqMan® бцУТ-ПГУ-ыг өвчин үүсгэгч вирусийн янз бүрийн омгийг эдийн өсгөврийн шингэн, үрийн шингэн, хамрын шүүрэлд илрүүлэхэд зориулан боловсруулж үнэлгээ хийжээ (Balasuriya нар, 2002; Gilbert нар, 1997; Lu нар, 2007; Miszczak нар, 2011; Westcott нар, 2003). Шинжилгээний эдгээр арга нь АТСҮВ-ийн геном дахь зургаан өөр нээлттэй уншигдах хүрээг (НУХ 1b, 3–7) онилон илрүүлдэг байна. Гэвч өөр өөр НУХ-г онилсон янз бүрийн хос праймер ашигладаг УТ-ПГУ хоорондоо мэдрэх болон өвөрмөц чанарааараа ихээхэн ялгаатай. Бүгдээрээ биш ч гэсэн зарим стандарт хоёр шатат УТ-ПГУ, нэг шатат УТ-ПГУ, УТ-уПГУ, бодит цагийн нэг цодонд явуулах TaqMan® бцУТ-ПГУ үр дүнгээрээ вирус ялгах аргатай харьцуулж болохоор үр дүнтэй байна. Вирус ялган авах уламжлалт аргатай харьцуулахад эдгээр УТ-ПГУ-нь ихэнхдээ илүү мэдрэмтгий, харьцангуй түргэн гүйцэтгэлтэй, дийлэнх нь үр дүнгээ 24 цагийн дотор гаргана. Үүнээс гадна УТ-ПГУ хэрэглэхэд амьд вирус шаардагдахгүйд түүний давуу тал оршино. АТСҮВ илрүүлэхэд зориулсан нэг цодонд явуулдаг бцУТ-ПГУ нь азарганы үрийн шингэн, эдийн өсгөврийн

шингэнд үүсгэгч вирусийн нуклейн хүчлийг илрүүлэн ялган тогтоох хялбар, түргэн, найдвартай арга юм (Balasuriya нар, 2002; Lu нар, 2007; Miszczak нар, 2011). Гэвч нуклейн хүчлийг ялгах, олшруулахад зориулан хэрэглээнд гаргасан бэлэн цомгийн сонголт шинжилгээний аргын оношилгооны мэдрэх болон тогтвортой чанар бүгдэд нь голлох нөлөөтэйг тогтоосон нотолгоо бий (Miszczak нар, 2011). Энэ нотолгоог гаргахдаа соронзон мөхлөг ашиглан нуклейн хүчлийг ялгах аргыг УТ-ПГУ явуулах өвөрмөц, бэлэн хэрэглээний цомогтой хамтатган хэрэглэсэн байна. Нэг цодонд явуулах бцУТ-ПГУ нь стандарт хоёр шатат УТ-ПГУ-тай харьцуулахад дараах чухал давуу талтай буюу: 1) дээжийн цодонгийн тагийг нээлгүйгээр урвал явуулдаг учраас өмнө нь олшруулсан бүтээгдэхүүнээр дээж хооронд хөндлөнгийн бохирдол үүсэх боломжийг арилгасан; болон 2) бцУТ-ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг нуклейн хүчлийн дараалалд өвөрмөц пробоор илрүүлдэг учраас хуурамч эерэг дүн гарах боломжийг багасгасан зэрэг болно. Гэвч лабораторид шаардагдах аюулгүй ажиллагааг хангахгүй бол дээж хооронд хөндлөн бохирдох боломжтой болж мэдрэх чанар өндөр УТ-ПГУ-аар хуурамч эерэг дүн их гарахад хүрнэ. Тухайлбал угсраа УТ-ПГУ хэрэглэхэд АТСҮВ-ийг илрүүлэх мэдрэх чанар сайжрахын зэрэгцээ хуурамч эерэг дүн гарах магадлал ихэснэ. УТ-уПГУ хэрэглэхэд УТ-ПГУ-ын эхний шатны бүтээгдэхүүн ПГУ-ын хоёрдох шатанд угсран олшрогдох учир хөндлөн бохирдох эрсдэл нэмэгддэг. Хөндлөн бохирдох эрсдэлийг багасгахын тулд ялангуяа РНХ-ийг ялгах болон урвал явуулах үе шатад ихээхэн анхаарах хэрэгтэй. УТ-ПГУ-аар шинжлэх бүрдээ АТСҮВ эерэг болон сөрөг темплатын хяналт болон боломжтой бол халдвар хийгдээгүй эдийн өсгөврийн шингэнээс ялган авсан нуклейн хүчлийг хамт шинжилнэ. Ийм маягаар ихэнх нөхцөл байдалд нэг шатат УТ-ПГУ эсхүл нэг цодонгийн бцУТ-ПГУ хэрэглэн хөндлөн бохирдолд хамаарах асуудлыг ихээхэн бууруулж болно.

АТСҮВ-ийн геномын хамгийн тогтвортой муж (ууд)-аас аль болохоор загварчилж авсан праймер (бцУТ-ПГУ-ын нөхцөлд проб) сонгох нь УТ-ПГУ-ын мэдрэх чанарыг хангахад хамгийн чухал. Нуклейн хүчлийн дарааллын харьцуулсан судалгаагаар Хойд Америк, Европт одоогоор судлагдаад байгаа АТСҮВ-йн омгууд дахь бусад НУХ-нээс НУХ1b (вирусийн полимеразаг кодолно), НУХ 6 (М уураг) НУХ 7 (N уураг)-нь илүү тогтвортой болох нь харагджээ (Balasuriya нар, 2002; Lu нар, 2007; Miszczak нар, 2011; Westcott нар, 2003). АТСҮВ-ийн янз бүрийн омгийн дотор хамгийн тогтвортой ген нь НУХ7 бөгөөд НУХ7-д өвөрмөц праймер (бцУТ-ПГУ нөхцөлд проб) Хойд Америк, Европын гаралтай АТСҮВ-йн омог олон янз байгаа болохыг илрүүлжээ (Balasuriya нар, 2002; Lu нар, 2007). Үүнээс гадна янз бүрийн НУХ1b-д өвөрмөц олон хос праймер ([хөтлөх: 5’-GAT-GTC-TAT-GCT-CCA-TCA-TT-3’ болон буцаах: 5’-GGC-GTA-GGC-TCC-AAT-TGA-A-3’]) болон/эсхүл[хөтлөх: 5’-CCT-GAG-ACA-CTG-AGT-CGC-GT-3’ болон буцаах 5’-CCT-GAT-GCC-ACA-TGG-AAT-GA-3’]) (Gilbert нар, 1997), НУХ6 ([хөтлөх: 5’-CTG-AGG-TAT-GGG-AGC-CAT-AG-3’ болон буцаах: 5’-GCA-GCC-AAA-AGC-ACA-AAA-GC-3’]) болон НУХ7 ([хөтлөх 5’-ATG-GCG-TCA-AGA-CGA-TCA-CG-3’ болон буцаах 5’-AGA-ATA-TCC-ACG-TCT-TAC-GGC-3’]) нь УТ-ПГУ-аар Хойд Америк болон Европын АТСҮВ-ийн омгуудыг илрүүлэх магадлалыг эрс дээшлүүлсэн байна. НУХ1b-д өвөрмөц хоёр хос праймерийг бцУТ-ПГУ-д хэрэглэхэд тохирдог (Gilbert нар, 1997). Боловсруулаагүй үрийн шингэнд вирусийн нуклейн хүчлийг илрүүлэхэд УТ-ПГУ маш их мэдрэмтгий байдаг бол хөлдөөн хадгалсан, халдварлах чанар нь маш бага болсон үрийн шингэнийг шинжлэхэд найдваршил нь харилцан адилгүй болохыг тогтоожээ.

Өмнө өгүүлсэн УТ-ПГУ-аас гадна АТСҮВ-ийн нуклейн хүчлийг илрүүлэх нэг цодонд явуулдаг 2 TaqMan® гэрэл цацаргагч проб ашигладаг бцУТ-ПГУ боловсруулсан (Balasuriya нар, 2002) ба праймер нь ([хөтлөх: 5’-GGC-GAC-AGC-CTA-CAA-GCT-ACA-3’, буцаах: 5’-CGG-CAT-CTG-CAG-TGA-GTG-A-3’] болон проб [5’FAM-TTG-CGG-ACC-CGC-ATC-TGA-CCA-A-TAMRA-3’] ба (Westcott нар, 2003); праймер [хөтлөх: 5’-GTA-CAC-CGC-AGT-TGG-TAA-CA-3’, буцаах: 5’-ACT-TCA-ACA-TGA-CGC-CAC- AC-3’] болон проб [5’FAM-TGG-TTC-ACT-CAC-TGC-AGA-TGC-CGG-TAMRA-3’]). Гэвч хэдийгээр УТ-ПГУ болон бцУТ-ПГУ-ын праймер болон пробыг АТСҮВ-ийн геномын хамгийн тогтвортой мужаас (НУХ7 [Lu нар, 2007]) загварчлан зохиосон хэдий ч АТСҮВ-ийн хээрийн омгийн өсгөвөр доторх геномын хувилбараас шалтгаалан дээрх хоёр аргын мэдрэх чанар буурч болох юм. Зарим бүс нутаг/улсын гаралтай АТСҮВ-ийн түүхэн хувьсал хөгжлийн судалгаагаар газар зүйн өөр өөр гарал үүсэлтэй вирусийн өсгөвөр хоорондоо илүү ойр бөөгнөрөл үүсгэдэг нь батлагдсан юм (Mankoc нар, 2007). Ийм нөхцөлд геномын хувьд ялгаатай АТСҮ-ийн омгуудыг илрүүлэхэд уламжлан хэрэглэж ирсэн праймераас гадна баталгаажуулсан праймер илүү тохирч магадгүй.

АТСҮВ-ийн аль ч омгийг илрүүлж чадах нь өргөн хүрээнд хүлээн зөвшөөрөгдсөн праймерийн бүрдэл хэрэглэхгүйгээр дээж дэх вирусийн халдварлах чанарыг ямар ч УТ-ПГУ бодитойгоор тогтоож чадахгүй учир эмнэл зүйн болон задлан шинжилгээний сорьцод вирус

илрүүлэн ялган танихад вирус ялган авах арга болон УТ-ПГУ эсхүл бцУТ-ПГУ-ыг хамтад нь хэрэглэх, хэрэв шаардлагатай гэж үзвэл вирусийн өсгөвөрт геномын болон фенотипийн шинжилгээ хийх нь ач холбогдолтой.

Дэлхийн янз бүрийн бүс нутгаас ялган авсан ATCYB-ийн омгууд вирусийн дугтуйн GP3, GP5, М уургийн ген (НУХ 3, 5, 6 ген) болон нуклеокапсид (N) уургийн ген (НУХ7 [Balasuriya нар, 1998; Zhang нар, 2010])-ийн дараалал тогтоох шинжилгээний дүнгээр түүхэн хувьсал хөгжлийн хувьд янз бүрийн бүлэгт ангилагддаг байна. Эдгээрээс энэ зорилгоор ашиглахад хамгийн их ач холбогдолтой, найдвартай нь GP5 ген юм. Омгуудын хооронд илрэх нуклеотидийн байршлын дарааллын хамаарал нь ATCBY өвчний дэгдэлтийн гарал үүслийг мөшгөн тогтоох ач холбогдолтой молекул эпидемиологийн арга болно.

2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ

ATCYB-ийн эсрэгбие илрүүлэхэд хэрэглэж болох эсэхийг тогтоохоор ийлдэс судлалын төрөл бүрийн аргыг судалжээ. Эдгээр аргад саармагжуулах (бичил саармагжуулалтын [Senne нар, 1985] болон вирусийн биенцэр үүсэлтийг бууруулах [McCollum, 1970]), хавсарга холбох урвал (ХХУ) (Fukunaga & McCollum, 1977), шууд бус флюоресцент эсрэгбие хэрэглэх (Crawford & Henson, 1973), агарын гельд нэвчин тунадасжих (Crawford & Henson, 1973), ЕЛИЗА (Cho нар, 2000; Hedges нар, 1998; Kondo нар, 1998; Nugent нар, 2000), дархлааны флюоресцент тэмдэглэгээт бичил мөхлөгийн арга (MIA) (Go нар, 2008) тус тус орно.

Сонирхолтой нь өдий хүртэл ATCYB-ийн ганцхан гол ийлдсэн хэвшил болох туршилтын загвар Bucyrus омгийг (ATCC VR 796) хүлээн зөвшөөрөөд байна (McCollum, 1970; Timoney & McCollum, 1993). ATCYB-ийн цэвэршүүлээгүй эсрэг ийлдсийг дархлаажуулалтын ердийн арга хэрэглэн адуу, туулайд бэлтгэжээ. ATCYB-ийн дугтуйны голлох гликопротейний (GP5), нуклеокапсид (N) уураг, дугтуйны гликолизжээгүй уураг (М) илрүүлэх хулганын ИГЭб болон вирусийн нэг төрлийн эсрэгтөрөгчид өвөрмөц туулайн эсрэгбие гарган аваад байна (Balasuriya нар, 1997).

2.1. Хавсаргаар идэвхжүүлсэн бичил саармагжуулах урвал

Эдүгээ хавсаргаар идэвхжүүлсэн бичил саармагжуулах урвалыг олон улсын хэмжээнд ATCYB-ийн халдварыг оношлох, халдварын тархалтыг ийлдэс судлалаар тандах, адууны шилжилт хөдөлгөөний өмнөх шинжилгээнд хамгийн өргөн хэрэглэж байна. Байгалийн халдвар болон ATCBY өвчний эсрэг өөрчилсөн амьд вакцинаар вакцинжуулсны дараа ATCYB-ийн эсрэг саармагжуулах бие хэдэн жилдээ хадгалагдана (Timoney & McCollum, 1993).

2.2. Вирус саармагжуулах урвал

ATCBY өвчний тохиолдол/дэгдэлтийн сэжиг илрэхэд халдварыг баталгаажуулах оношилгооны болон ATCYB-ийн халдвартай адууг, жишээ нь азаргыг илрүүлэн нотлох зорилгоор вирус саармагжуулах урвалыг хэрэглэнэ. Эдүгээ хамгийн өргөн ашиглаж байгаа шинжилгээний аргачлалыг АНУ-ын ХАА департаментийн Мал эмнэлгийн үндэсний лабораторид боловсруулсан байна (Senne нар, 1985). Бактериар бохирдсон ийлдэс шинжилгээний үр дүнд нөлөөлдөг учраас цусны ариун сорьц бэлтгэх нь чухал. Шинжилгээг Вейбриж дэх Мал эмнэлгийн төв лаборатори (МЭТЛ)-д бэлтгэж баталгаажуулсан ATCYB-ийн Bucyrus омгийг жиших вирус[5] болгон ашиглаж RK-13 эсийн өсгөвөр дээр хийх нь зүйтэй (Edwards нар, 1999). Хэдийгээр анхлан туршилтын загвар Bucyrus вирусээс гаралтай боловч тухайн омгийг Вейбриж дэх Мал эмнэлгийн төв лабораторид хэрхэн зорчуулсан талаар бүрэн баримт гараагүй байна. RK-13 дамжмал эсийн өсгөвөр дээр ургуулсан жиших үндсэн вирусийг бага хурдаар хурилдуурдаж эсийн хаягдал үлдцээс цэвэршүүлээд жижиглэн тасалж хуваагаад –70°C-д хадгална. Жижиглэн тасалж хөлдөөсөн вируст материалаас хэд хэдийг гэсгээгээд үндсэн нөөц вирусийн халдварлах чанарыг RK-13 дээр таньцлан тогтооно. ATCYB-ийн эсрэгбие илрүүлэх ВСУ-ын мэдрэх чанарт хэд хэдэн хүчин зүйл, ялангуяа ашиглаж байгаа вирусийн омгийн эх үүсвэр болон зорчуулалтын түүх ихээхэн нөлөөлнө (Edwards нар, 1999). ATCYB-ийн МЭТЛ-Bucyrus (Вейбриж) омог болон маш сайн сулруулан өөрчилсөн амьд вирус вакцины омог ATCBY өвчний эсрэг вакцинжуулсан адуунаас авсан нам таньцтай эерэг ийлдсийг илрүүлэхэд мэдрэх чанарын хувьд ойролцоо юм. Энэ халдварыг илрүүлэхээр ВСУ эсхүл түүнтэй дүйцэх ийлдэс судлалын бусад шинжилгээ хийдэг лабораториудад шинжилгээний аргачлал болон ийлдэс судлалын шинжилгээний үр дүнг илүү нэгэн жигд байдалтай байлгахад чиглэсэн хүчин чармайлт гарсаар байна. ДМАЭМБ-аар баталгаажуулсан ATCYB-ийн стандарт ийлдэс

бэлэн байдаг бөгөөд энэ нь бичил саармагжуулах урвал болон ЕЛИЗА аргыг олон улсын хэмжээнд стандартчилахад ашиглагдана.

2.2.1. Шинжилгээний аргачлал

i) Ийлдсийг усан халаагуурын 56°C-д (хяналтын ийлдсийг зөвхөн нэг удаа). 30 минут байлгаж идэвхгүйжүүлнэ.

ii) Эсийн өсгөврийн зориулалтын, хавтгай ёроолтой 96 үүр бүхий бичил таньцын хавтанд шинжлэх ийлдэс тус бүрд зэрэгцээ мөрний хоёр үүр гарган түүнд идэвхгүйжүүлсэн шинжлэх ийлдсэнд ийлдэс агуулаагүй эсийн өсгөврийн тэжээлт орчноор (25 мкл эзлэхүүн) ийлдэсний ½ шингэлэлтээс эхлэн дараалсан хоёр дахин шингэлэлт хийнэ. Илрүүлэх шинжилгээги ийлдсэнд эхлээд 1/4 ба 1/8 ийлдэсний шингэлэлтэд (ө.х. тэнцүү хэмжээний эзлэхүүнтэй тохирсон шингэлэлттэй нөөц вирусийг үүр тус бүрд нэмсний дараах ийлдэсний эцсийн шингэлэлт) хийнэ. Хэрэв хүсвэл 1/8 шингэлэлттэй эерэг ийлдсийг дахин шинжилж эцсийн цэгийг тодорхойлохын тулд таньцална. Түүнчлэн шинжилгээ хийх бүрдээ бодгаль ийлдсийн хяналтыг сөрөг хяналтын ийлдэс болон сул ба өндөр таньцтай болохыг нь тогтоосон эерэг хяналтын ийлдсийн хамт шинжинэ.

iii) Үндсэн нөөц вирусийг 25 мкл тутамд 100-аас 300 хүртэл $TCID_{50}$ (эсийн өсгөврийн 50%-ийг халдварлуулж чадах тун) агуулагдахаар тооцож ийлдэс агуулаагүй, антибиотик болон усан гахай эсхүл туулайн шинэхэн хавсаргыг эцсийн төвшрүүлэг нь 10% байхаар нэмсэн эсийн өсгөврийн тэжээлт орчноор шингэлнэ.

iv) Ийлдэсний шингэлэлт тус бүрээс 25 мкл-ийг агуулсан хавтан тус бүрийн үүр бүрд (шинжилгээний ийлдэсний хорт чанарын хяналтын үүр болон эсийн хяналтын үүрээс бусад үүрэнд) тохирсон шингэлэлт бүхий 25 мкл үндсэн нөөц вирусийг нэмнэ.

v) Шинжилгээний үр дүн хүчинтэй эсэхийг баталгаажуулахын тулд арав дахин шингэлэлт тус бүрд дөрвөн үүр гаргаж вирусийн үндсэн нөөцийн ажлын шингэлэлтэд урвуу таньцлалт хийнэ.

vi) Хавтанг таглаад ийлдэс/вирусийн холимгийг сайтар холихын тулд болгоомжтой зайлж өгнө.

vii) Хавтанг 5% CO_2 бүхий чийгтэй агаар бүхий дулаан тогтоогуурт 37°C-д 1 цаг байлгана

viii) Эсийн цийдмэгийг 3-5 хоног ургуулсан RK-13 өсгөврөөс бичил таньцын хавтанд тарилт хийснээс хойш 18-24 цагийн дотор зайгүй битүү дан үе эс ургасан байхаар тооцсон төвшрүүлэгтэйгээр бэлтгэнэ.

ix) Үүр бүрд 100 мкл эсийн цийдмэг нэмж хавтанг тагаар нь бүтээгээд эсхүл зориулалтын туузаар битүүлээд аяархан зайлж өгнө.

x) Хавтанг 5% CO_2 бүхий чийгтэй агаар бүхий дулаан тогтоогуурт 37°C-д 1 цаг байлгана

xi) Хавтанг тогтмол дулаанд 12-18 цаг байлгасны дараа вирусийн бус ЭЭН-г, мөн дахиад 48-72 цагийн дараа вирусийн ЭЭН-г микроскоп ашиглан тус тус шалгана. Үндсэн нөөц вирусийн ажлын шингэлэлт нь 30–300 $TCID_{50}$ вирус агуулж байх болон эерэг хяналтын ийлдэсний таньц түүний урьдчилан тогтоосон таньцын 0.3 лог 10 нэгжид багтаж байвал уг шинжилгээ хүчинтэй болохын баталгаа болж өгнө.

Ийлдэс шинжилсэн үүрэн дэх вирусийн ЭЭН нь хамгийн бага вирусийн шингэлэлт бүхий хяналтын үүрэн дэх вирусийн ЭЭН-тэй харьцуулахад 75% эсхүл түүнээс их хувиар буурсан бол тэр ийлдсийн шингэлэлтийг эерэг гэж үзнэ. Дараа нь эцсийн цэгийг Спирман-Карберийн аргаар тооцож гаргана. ¼ эсхүл түүнээс дээш таньцыг эерэг гэж үзнэ. Сөрөг ийлдэс нь түүнийг хамгийн бага шингэлэлттэй байхад нь шинжлэхэд вирусийг бараг саармагжуулахгүй (25%-иас доогуур) эсхүл огт саармагжуулахгүй. Ийлдсийг хэд хэдэн удаа шингэлэхэд вирусийг хэсэгчлэн саармагжуулах тул эсрэгбиеийн таньцыг тогтооход хэцүү байх тохиолдол гарна. Шинжилж байгаа нам таньцадаа хорт чанар нь өөрчлөгдсөн ийлдэс цөөнгүй гарна. Ийм тохиолдолд дээж сөрөг эсхүл нам таньцтай эерэг урвалтай аль нь болохыг тогтоох боломжгүй болж болзошгүй. Өмнөх өдрөөс нь өсгөвөрлөж эхэлсэн, зайгүй битүү ургасан RK-13 дан үе эстэй бичил таньцын хавтан ашиглан хорт чанартай ийлдсийг дахин шинжилж дээрх асуудлыг шийдвэрлэнэ. Түүнчлэн хэрэв шинжлэхийн өмнө дээжийг RK-13 эсийн тунасан цийдмэгт шингээсэн бол эсхүл вирусийн шингэлэгч дэх усан гахайн хавсаргыг туулайн хавсаргаар орлуулбал ийлдэсний дээжийн хорт чанарыг бууруулах ба эсхүл арилгана. Эс хордуулах вирусийн бус нөлөө үзүүлсэн ийлдэс шинжилсэн дүнд үнэлгээ

өгөхдөө адууны херпесвирусийн эсрэг вакцинжуулсан эсэхийг харгалзан үзэх хэрэгтэй. Эдүгээ Европт хэрэглээнд байгаа адууны херпесвирусийн нэг вакцин вакцины үйлдвэрлэлд ашигладаг туулайн бөөрний эсийн эсрэгбиеийг идэвхжүүлдэг нь тогтоогджээ. Эдгээр нь эргээд ийлдэсний ихэвчлэн 1/4 болон/эсхүл 1/8 шингэлэлт, зарим үед түүнээс ч өндөр шингэлэлтэд эс хордуулах нөлөөг ихэсгэх бөгөөд шинжилгээний үр дүнг боловсруулан үнэлгээ өгөхөд хүндрэл учруулна (Newton нар, 2004).

2.3. Энзим холбоост дархлааны урвал

АТСҮВ-ийн эсрэгбие илрүүлэх шууд болон шууд бус хэд хэдэн ЕЛИЗА аргыг боловсруулжээ EAV (Cho нар, 2000; Hedges нар, 1998; Kondo нар, 1998; Nugent нар, 2000). Эдгээрийг бэлтгэхэд цэвэршүүлсэн вирус эсхүл рекомбинант аргаар гаргасан вирусийн эсрэгтөрөгч ашиглана. Хуурамч эерэг дүн дандаа гаргадаг өмнөх аргуудыг ашиглах нь ховор болов. Хуурамч эерэг дүн үзүүлэх нь эдийн өсгөвөр ашиглан гаргасан эсрэгтөрөгч бүхий вакцинаар вакцинжуулсан адууны ийлдсэнд эдийн өсгөврийн янз бүрийн эсрэгтөрөгчийн эсрэгбие агуулагддагтай холбоотой юм. АТСҮВ-ийн эсрэг шингэний дархлааны эсрэгбиеийн хариу урвалыг идэвхжүүлэхэд вирусийн GP5 уураг ач холбогдолтой болохыг тогтоосон нь бактерийн эсхүл бакуловирусийн экспреслэх системээр нийлэгжин үүссэн рекомбинант уургийг хэсэгчлэн эсхүл бүхлээр нь илрүүлэхэд зориулсан хэд хэдэн ЕЛИЗА аргыг боловсруулахад хүргэсэн байна (Cho нар, 2000; Hedges нар, 1998). Тун саяхнаас GP5 уургийн 81–106 дахь амин хүчлийг төлөөлөх өндөгний альбуминтай коньюгатласан нийлэг пептидийг хэрэглэж байна (Nugent нар, 2000). Эдгээр аргын зарим нь мэдрэмтгий болон өвөрмөц чанарааран ВСУ-тай бараг ойролцоо бөгөөд дээжийг ВСУ-ар шинжлэн эерэг урвалтай болохыг нь тогтоохоос өмнө АТСҮВ-д өвөрмөц эсрэгбиеийг илрүүлж болох ажээ. Гэвч эдгээрээс зарим арга нь хуурамч сөрөг үр дүн гаргана. янз бүрийн пептид-фагийн цуглуулгад АТСҮВ-ийн халдвартай адуунаас бэлтгэсэн өөр гарлын ийлдсээр илрүүлэх шинжилгээ хийсний үр дүнд АТСҮВ-ийг илрүүлэх ЕЛИЗА аргад эсрэгтөрөгчөөр ашиглаж байгаа лигандуудыг ялган тогтоож цэвэршүүлэв. Гэвч энэ урвалын гэрэл шингээлтийн утга болон саармагжуулагч эсрэгбиеийн таньцын хооронд шүтэлцээ байхгүй байгаа нь шинжилгээгээр илэрч байгаа эсрэгбиеийн ихэнх хэсэг нь вирусийн гадаргуугийн бус эпитопын эсрэг үүссэн байдгийг харуулж байна. Рекомбинант бакуловирусийн экспреслэсэн, АТСҮВ-ийн бүтцийн GP5, М эсхүл N уургийг хамтад нь ашигладаг ЕЛИЗА нь байгалийн болон зориудын халдвар авсан адуунд вирусийн эсрэгбиеийг мадаггүй илрүүлдэг мөртөө түүнийг АТСВҮ өвчний эсрэг вакцинжуулсан амьтанд илрүүлж чаддаггүй (Hedges нар, 1998). АТСҮВ илрүүлэхэд GP5 уураг ашигладаг аль ч ЕЛИЗА аргын хамгийн гол онцлог нь шинжилгээний мэдрэх чанар нь тухайн ашиглаж байгаа вирусийн уургийн гадаргуугийн домаины амин хүчлийн дараалал (ууд)-аас хамаарч өөрчлөгддөгт оршино. АТСҮВ-ийн янз бүрийн өсгөврийн энэ домаины амин хүчлийн дараалал нэлээд өөрчлөгддөг. GP5 уураг ашигладаг ЕЛИЗА аргын мэдрэх чанарыг дээд зэргээр нэмэхэд гадна талын дан ганц домаины дарааллаас хамаардаг бус, харин фенотипийн хувьд ялгаатай нь тогтоогдсон АТСҮВ-ийн янз бүрийн өсгөврийг төлөөлж чадах нэг бус гадна домаины амин хүчлийн дараалал ашиглах шаардлагатай байж болох юм. Саяхан боловсруулсан ЕЛИЗА хоёр арга нь АТСҮВ-ийн халдварыг ийлдэс судлалын аргаар найдвартай илрүүлж чадах итгэл төрүүлж байна (Cho нар, 2000; Nugent нар, 2000). GP5 уургийн эсрэг гаргасан ИГЭб бүхий саатуулагч ЕЛИЗА аргыг ВСУ-тай харьцуулахад мэдрэх чанарын хувьд 99.4%, өвөрмөц чанар нь 97.7% гэж мэдээлжээ (Cho нар, 2000). Өндөгний альбуминтай коньгатласан GP5 нийлэг пептид бүхий өөр нэг ЕЛИЗА хэрэглэн ВСУ-аар эерэг урвалтай 400, сөрөг 400 ийлдэсний багцыг шинжлэхэд мэдрэх чанар нь 96.75%, өвөрмөц чанар 95.6% байжээ (Nugent нар, 2000). Олон ЕЛИЗА аргыг боловсруулснаас цөөн хэдийг ВСУ шиг өргөн хүрээнд баталгаажуулсан бөгөөд харин тэдний зарим хэсэг нь л мэдрэх болон өвөрмөц чанараар ВСУ-ынхтай ойролцоо байжээ (Cho нар, 2000; Hedges нар, 1998; Nugent нар, 2000). ЕЛИЗА аргаар эерэг урвал үзүүлэх нь ВСУ-ын адилаар бодгаль адууны АТСҮВ-ээс хамгаалах саармагжуулах болон үл саармагжуулах эсрэгбие аль алийг хамарсан дархлааны байдлыг илэрхийлэхгүй болохыг тэмдэглэх нь зүйтэй.

2.4. Хавсарга холбох урвал

Хавсарга холбох эсрэгбие амьтны биед харьцангуй богино хугацаанд хадгалагддаг учраас ХХУ-ыг урьд өмнө АТСҮВ-ийн шинэхэн халдварыг оношлоход хэрэглэж байв (Fukunaga & McCollum, 1977). Ийлдсийн тандах судалгаа болон амьтны шилжилт хөдөлгөөний өмнөх шинжилгээнд ВСУ болон төрөл бүрийн ЕЛИЗА ХХУ-ыг орлон маш ихээр хэрэглэгдэх болов.

2.5. Дархлааны флюоресцент бичил мөхлөгийн арга

АТСҮВ-ийн бүтцийн үндсэн уургуудын эсрэгбие илрүүлэх зорилгоор энэ аргыг боловсруулжээ (Go нар, 2008). Энэ арга нь вирусийн үндсэн уураг (GP5, M, N) тус бүрийг бүх уртаар нь хувилах болон экспреслэх, мөн түүнчлэн бүтцийн уургийн хэсэгчилсэн дараалыг тогтоох, тэдгээрийг өөр шинжилгээнд хэрэглэхэд зориулагдсан болно. Дархлааны төрөл бүрийн шинжилгээнд Люминекс багажийг ашигласан. GP5 уургийг хэсэгчлэн ашиглах арга нь ВСУ-тай харьцуулахад мэдрэх чанараар 92.6%, өвөрмөц чанараар 93.9% буюу хамгийн сайн үр дүн үзүүлжээ.

В. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

1. Удиртгал

АТСВҮ өвчний эсрэг туршилтын болон худалдааны хэд хэдэн вакцин гарсан байна. Эдүгээ эдийн өсгөвөрт бэлтгэсэн хоёр вакцин худалдаанд гарсан байна. Эхнийх нь өөрчилсөн амьд вируст вакцин (ӨАВВ), нөгөө нь хүчлүүртэй, идэвхгүйжүүлсэн вакцин. АНУ, Канадад ӨАВВ худалдаалагддаг. Бас уг вакциныг эрх бүхий яамны хяналтын дор Аргентин, Шинэ Зеландад хэрэглэдэг. Идэвхгүйжүүлсэн вакциныг Европын зарим улс, үүний дотор Дани, Франц, Герман, Унгар, Ирланд, Нэгдсэн хаант улсад борлуулж хэрэглэх лиценз олгожээ. Эдгээр вакциныг АТСВҮ өвчин дэгдэхээс, тэр дундаа гүү хээл хаях, азарга вирус тээгч болохоос хамгаалахад хэрэглэх заалттай. Энэ өвчний үүсгэгч вирусийн баттай эх үүсвэр нь вирус тээгч азарга гэж үздэг учраас вирус тээгч амьтны популяцийг бууруулах нь цаг хугацаа улирахын хэрээр АТСВҮ өвчинтэй тэмцэх ажлыг улам ахиулж эцсийн эцэст уг өвчнийг олон улс оронд устгахад хувь нэмэр болно. ӨАВВ -ыг адуу болон туулайн анхдагч эс болон адууны арьсны дамжмал эсэд олон удаа дараалан дамжуулж адуунд аюулгүй болгон сулруулсан вирусээс бэлтгэнэ (Dolln нар, 1968; McCollum, 1970). Энэ вакциныг азарга, сувай гүү, үржүүлгийн бус адуунд хэрэглэхийг зөвшөөрсөн. Үржүүлгийн бус адууг хэзээ ч вакцинжуулж болох боловч азарга, гүүг хээлтүүлгээс 3-аас доошгүй долоо хоногийн өмнө вакцинжуулна. Вакциныг боос гүүг, ялангуяа хээл тээлтийн сүүлийн 2 сард нь, мөн хэрэв байгалийн халдварт өртөх өндөр эрсдэл тулгараагүй л бол 6 долоо хоногоос доош хоногийн бойжилттой унагыг вакцинжуулахгүй.

АТСВҮ өвчний эсрэг худалдаанд гарсан хоёрдох вакцин нь адууны эсийн өсгөвөрт ургуулсан вирусийг шүүж химийн аргаар идэвхгүйжүүлээд бодисын солилцоонд оролцон задардаг хүчлүүртэй хольсон идэвхгүйжүүлсэн бүтээгдэхүүн юм. Уг вакциныг үржүүлгийн бус адуунд хэрэглэхийг зөвшөөрсөн. Аюулгүй чанарын баримт мэдээлэл байхгүй учраас эдүгээ түүнийг хээлтэй гүүнд хэрэглэхгүй байх нь зүйтэй.

АТСВҮ өвчний эсрэг өөр нэг идэвхгүйжүүлсэн вакциныг Япон улсад хөгжүүлсэн бөгөөд тус улсад АТСВҮ өвчин дэгдэх тохиолдолд тараан хэрэглэхээр нөөцлөн хадгалсан байна. Энэ вакцин нь үржүүлгийн болон үржүүлгийн бус адуунд хэрэглэхэд аюулгүй, үр дүнтэй болох нь тогтоогдсон, формалинаар идэвхгүйжүүлсэн усан суурьтай вакцин юм. Вакциныг эхэлж хэрэглэхдээ 4 долоо хоногийн зайтай хоёр удаа тариад 6-12 сар тутамд сэргээх тун олгох нь уг вакцинаар дархлаа тогтоох хамгийн оновчтой арга юм. Энэ вакцин худалдаанд гараагүй учир түүний үйлдвэрлэлийн дэлгэрэнгүй мэдээлэл байхгүй.

2. Үйлдвэрлэлийн тойм, вакцинд тавих наад захын шаардлага

2.1. Эх омгийн шинж чанар

Худалдаанд гарсан ӨАВВ болон идэвхгүйжүүлсэн вакцин хоёулд 1953 онд АНУ-ын Охио муж улсын Бакирус хотын ойролцоо гарсан амьсгалын замын өвчин, хээл хаялтын тархмал дэгдэлтийн үеэр хээлийн уушгинаас ялган авсан туршилтын хувилбар болох АТСҮВ-ийн Бакирус омог (АТСС VR 796) ашигласан (Doll нар, 1957). Одоогоор вирусийн зөвхөн нэг ийлдсэн хэвшил байгаа нь нотлогдсон бөгөөд вирусийн омгийн хувилбараас вакцины үр нөлөө төдийлөн хамаарахгүй гэж үздэг байна (McCollum, 1970; Timoney & McCollum, 1993).

2.1.1. Үндсэн эх омгийн биологийн шинж чанар

ӨАВВ-ны тухайд жишиг вирус (АТСС VR 796)-ийг адууны бөөрний (НК-131), туулайн бөөрний (RK-111) анхдагч эсийн өсгөвөр болон адууны арьсны диплоид дамжмал эсэд АТСС CCL57 (ECID-24) дараалан зорчуулж сулруулсан (Doll нар, 1968; McCollum, 1970). Туулайн бөөрний анхдагч эсийн өсгөвөрт 80-аас 111 хүртэл удаа

зорчуулсан вирус аюулгүй бөгөөд дархлаа төрүүлэх идэвхтэй байсан нь энэ вакциныг хэрэглэхэд харагджээ.

Хүчлүүр нэмсэн, идэвхгүйжүүлсэн вакциныг вирусийн биенцрээс цэвэршүүлж адууны арьсны дамжмал эсийн өсгөвөрт (ECID-4) дараалсан дөрөв дэх зорчуулалтдаа байгаа сулруулаагүй ATCYB-ийн Бакирус омгоос (ATCC VR 796) бэлтгэнэ. Эсийн өсгөвөрт ургасны дараа химийн аргаар идэвхгүйжүүлэх болон хүчлүүр нэмэхээс өмнө вирусийг шүүж цэвэршүүлнэ.

ӨАВВ болон идэвхгүйжүүлсэн вакцин хоёулын вирусийг адууны арьсны эс гэх мэтийн тогтворжсон эсийн өсгөвөрт үхрийн ариун ийлдэс эсхүл тэжээлт орчинд хийх үхрийн ийлдсийг үхрийн ийлдэсний альбуминаар орлуулан нэмсэн шаардлага хангах тэжээлт орчинд өсгөвөрлөнө. Вирус халдварлуулахаас өмнө дан үе эсийг угааж үхрийн ийлдсийг зайлуулна. Эсийн 80–100%-нь 2-3 хоногийн дотор эмгэгшвэл вирус эрчимтэй үржсэнийг илэрхийлнэ. Вакцин тус бүрийн үндсэн эх омгийн вирусийн бэлдцийг шингэн азот эсхүл түүнтэй адилтгах нөхцөлд тогтмол байлгана.

2.1.2. Чанарын шалгуур (ариун чанар, цэвэршилт, гаднын зүйл агуулаагүй байх)

Вакцины ариун чанар, цэвэршилт, гаднын зүйлээр бохирдоогүй болохыг тогтоох шалгалтыг 1.1.9. *Мал эмнэлгийн зориулалтаар хэрэглэх биологийн материалын ариун чанар, бохирдолгүйг шалгах* бүлэгт оруулав.

2.1.3. Вакцины омог болгон баталгаажуулах

ӨАВВ болон идэвхгүйжүүлсэн вакцин аль алинд нь ашиглах вирусийг вакцин үйлдвэрлэхэд зориулан албан ёсоор баталгаажуулсан, гаднын зүйл, мөөгөнцөр, микоплазм, вирусийн бохирдолгүй байх шаардлага хангасан эсийн өсгөвөрт өсгөвөрлөнө (Moore, 1986). Үндсэн эх материал дахь вакцины вирус яг мөн эсэхийг ATCYB-ийн эсрэг нэг угсааны ийлдсээр саармагжуулах аргаар баталгаажуулна. Шинжлэх ухааны бүтээлүүдэд баримтжуулсанчлан адууны эсхүл туулайн нэг угсааны эсрэг ийлдэс ATCYB-ийг бүрэн саармагжуулж чаддаггүй (Moore, 1986; Senne нар, 1985) нь үндсэн эх омгийн вируст гаднын вирус илрүүлэх шинжилгээ хийх, вакцины вирус мөн эсэхийг баталгаажуулахад асуудал үүсгэдэг. Хэрэв шингэлсэн вирусийг саармагжуулах урвал явуулахынхаа өмнө үндсэн эх вирусийн халдварлах чанарын таньцыг эх вирус бэлтгэхэд шаарддаг таньцаас бууруулбал уг асуудал гарахгүй. Вирус/ийлдсийн холимогт амьд вирус үлдсэн эсэхийг эсийн өсгөвөрт хийх дараалсан зорчуулалтаар шалгаж тогтооно. Эсийн өсгөвөр ашиглан вирус ялгаж туршихад эс эмгэгшүүлдэг вирус, цус шингээдэг вирус, үхрийн вируст диарей өвчний эс эмгэгшүүлдэггүй омог илрэхгүй байх ёстой. Хэрэв адуунаас гаралтай эс ашиглаж байгаа бол энэ нь адууны цус багасах халдварт өвчний вирус агуулаагүй болохыг баталгаажуулсан байна. Эдүгээ гаднын вирус байгаа эсэхийг шалгах шинжилгээнд вирус ялгах аргаас илүү ПГУ болон эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА гэх мэт энгийн аргыг нийтлэг хэрэглэж байна.

2.2. Үйлдвэрлэх арга

2.2.1. Арга ажиллагаа

ӨАВВ болон идэвхгүйжүүлсэн вакцин аль алиныг үйлдвэрлэхэд шаардагдах эх вирусийг адууны арьсны эсийн өсгөвөрт өсгөвөрлөнө. Дан үе эсэд вирус халдварлуулахаас өмнө үхрийн ийлдсийг өсгөвөрлөх тэжээлт орчноос ул мөргүй болтол зайлуулна. Вирус халдварлуулсан эсийг тогтворжуулах тохирсон тэжээлт орчин дээр өсгөвөрлөнө. Дан үе эсэд бараг бүхэлд нь эс эмгэгшлийн өвөрмөц хэв шинж илрэх үед вирус агуулсан эсийг хурааж авна. Өсгөврийн дээд талын шингэн хэсэг болон эсийг хураан авч шүүн эсийн хаягдал үлдэц болон хэрэгцээгүй зүйлээс цэвэрлэнэ. Идэвхгүйжүүлсэн вакцины тухайд цэвэршүүлсэн вирусийг дараа нь химийн аргаар идэвхгүйжүүлээд бодисын солилцоонд оролцон задардаг хүчлүүр нэмнэ. ӨАВВ болон идэвхгүйжүүлсэн вакцинд хадгалагчаар неомицин, полимицин Б, амфотерицин Б нэмж өгнө.

2.2.2. Найрлагад орох орцод тавих шаардлага

Энэхүү гарын авлагын *Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зарчмын* талаарх 1.1.8 дугаар бүлэгт биологийн гаралтай, үл ялих эрсдэл бүхий мал эмнэлгийн бүтээгдэхүүн үйлдвэрлэх зааварчилгааг оруулав.

2.2.3. Явцын хяналт

ӨАВВ болон идэвхгүйжүүлсэн вакциныг мөн эсэхийг нь шалгасан, бактери, мөөгөнцөр, микоплазм, бусад гаднын үүсгэгч агуулаагүй, тогтворжсон дамжмал эсийн өсгөвөр ашиглан үйлдвэрлэнэ. Вакцин тус бүрийн үндсэн эх вирус болон тэжээлт орчин гаднын бохирдолгүй болохыг үйлдвэрлэлийн өмнө шалгахаас гадна тогтмол дулаанд байлгах хугацааны туршид бичил биетний ургалт эсхүл бусад гаднын бохирдол байгаа эсэхийг харж шалгана. Өсгөврийн сав доторх ургалтыг нүдээр харж найдвартай шалгах боломжгүй бол сэлгэн өсгөвөрлөх, микроскопоор шалгах, эсхүл тэдгээрийг хослуулах арга хэрэглэнэ.

2.2.4. Эцсийн бүтээгдэхүүний цувралын шалгалт

i) Ариун чанар

Мал эмнэлэгт хэрэглэх биологийн материалын ариун чанар, бохирдолгүй болохыг шалгах аргыг 1.1.9 дүгээр бүлэгт оруулав. ӨАВВ болон идэвхгүйжүүлсэн вакцин аль алины тухайд үйлдвэрлэсэн вакцины цуврал бүрд бактери, мөөгөнцөр, микоплазмын бохирдолгүй болохыг шалгаж тогтооно.

ii) Аюулгүй чанар

Ийлдсэндээ АТСҮВ-ийг саармагжуулах эсрэгбие агуулаагүй, хоёроос доошгүй адуу тус бүрд хөлдөөн хатаасан вирусийн вакцины нэг тунг булчинд тарьж вакцины аюулгүй чанарыг шалгана (Moore, 1986). Тарилтын дараах ажиглалтын 2 долоо хоногийн хугацаанд туршилтын нэг ч адуу бага зэрэг халуурахаас өөр өвчний эмнэл зүйн ямар нэг шинж тэмдэг үзүүлэхгүй байх ёстой. Аль ч вакциныг тарьж туршсан адууны 10% хүрэхгүй хэсэгт түр зуурын хэсэг газрын урвал ажиглагдаж магадгүй. Үүнээс гадна вирус өсгөвөрлөхөд зориулж өдөр бүр хамар залгиурын арчдас авах, түүнчлэн өдөр бүр цусны эс тоолж биеийн халууныг хэмжиж байх хэрэгтэй. Вакцинжуулалтын дараа биеийн халуун эсхүл цусны хэлбэр зүйн үзүүлэлт төдийлөн өөрчлөгдөх ёсгүй (Timoney & McCollum, 1993). Вакцинжуулсны дараах эхний 7 хоногт вакцины вирус бага хэмжээгээр амьсгалын замаар гадагшлах болон үрийн шингэнд ялгарах тохиолдол гарч болзошгүй. Вакцинжуулсан азарганы үржлийн эрхтнүүдэд вакцины вирус орогнож үлдсэн нотолгоо байдаггүй (Timoney & McCollum, 1993).

Вакцины вирус бүрэн идэвхгүйжсэнийг тогтоохын тулд вакцинд хүчлүүр холихын өмнө адууны арьсны эсийн өсгөвөрт дараалан гурван удаа зорчуулах эсхүл АТСҮВ-д өвөрмөц коньюгат ашиглан флюоресцент эсрэгбиеийг шууд будах аргаар амьд вирус байгаа эсэхийг шалгана. Үүний дараа аюулгүй чанарын шалгалтыг усан гахай болон хулганад хийнэ.

iii) Цувралын идэвх

Савлахад бэлэн болсон вакцины идэвхийг адууны арьсны дан үе эсийн өсгөвөрт вирусийн биенцрийн халдварлах чанарыг тогтоох шинжилгээ болон адуунд хийх амь сорилоор тодорхойлно (Moore, 1986). Вакциныг гурван давталттайгаар эсийн өсгөвөрт шалган халдварлах чанарын дундаж таньцыг тогтоох ба вакцины тун бүр нь АТСҮ-ийн сулруулсан вирусийн 3×10^4-аас доошгүй биенцэр үүсгэх нэгж агуулж байх ёстойг үндэслэн тунг тогтооно. ӨАВВ болон идэвхгүйжүүлсэн вакцины идэвхийг *in-vivo* шалгахын тулд вакцинжуулсан 17-20 адуу болон 5-7 хяналтын адуунд халдвар хийх нэг удаагийн туршилтаар эсхүл вакцинжуулсан тус бүр 10, хяналтын тус бүр 5 адуунд харьцуулах шинжилгээ хоёр удаа хийж тогтооно. Идэвхгүйжүүлсэн вакцины эсрэгтөрөгчийн төвшрүүлэг ӨАВВ дахь эсрэгтөрөгчийн төвшрүүлгээс нэг мянга гаруй дахин их байна.

2.3. Зөвшөөрөл, лиценз олгох, бүртгэхэд тавих шаардлага

2.3.1. Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаа

Вакциныг албан ёсоор бүртгүүлэхийн тулд вакцин үйлдвэрлэх болон чанарын хяналтын хэсэгт холбогдох бүх дэлгэрэнгүй бичиг баримтыг эрх бүхий байгууллагад илгээнэ. Энэхүү мэдээллийг үйлдвэрлэлийн ердийн багцын эзлэхүүний 1/3-аас багагүй эзлэхүүнтэй вакцины дараалсан гурван багцаас бэлтгэн илгээнэ.

2.3.2. Аюулгүй чанарт тавих шаардлага

ӨАВВ үйлдвэрлэгч уг вакцины дан тунг булчинд тарьж эхний удаа вакцинжуулаад дараа нь жил бүр дахин вакцинжуулахыг зөвлөдөг. Булчинд тарьж хэрэглэх зориулалттай идэвхгүйжүүлсэн вакцины тухайд анх эхлэхдээ 3-6 долоо хоногийн зайтай 2 удаа вакцинжуулаад дараа нь 6 сар тутамд дахин вакцинжуулах дэглэм баримтлахыг зөвлөдөг.

i) Вакцин хэрэглэх заалттай болон үл хэрэглэх амьтанд аюулгүй байх чанар

ӨАВВ-ыг азарга болон сувай гүүнд аюулгүй гэж үздэг. Вакцины вирусийг вакцинжуулсан азарга тээгч болон үлдэх нотолгоо байхгүй. ӨАВВ-ыг хээлтэй гүү эсхүл 6 долоо хоногоос цөөн хоногийн бойжилттой унаганд хэрэглэхийг зөвлөдөггүй. Хэдийгээр үйлдвэрлэгч хориглодог ч энэ вакциныг хээлтэй гүүнд хээлийн эхний хоёр улиралд хэрэглэхэд гаж нөлөө илэрдэггүй байна. Хээл тээлтийн сүүлийн хоёр сард вакцинжуулбал гүү хээл хаях эрсдэлтэй. Идэвхгүйжүүлсэн вакциныг үржүүлгийн болон үржүүлгийн бус адуунд хэрэглэхэд аюулгүй. Аюулгүй чанарын талаар шаардлага хангах баримт мэдээлэл байхгүй тохиолдолд хээлтэй гүүнд вакцин хэрэглэхийг зөвлөдөггүй.

ii) Сулруулсан амьд вакцин эргэж хоруу чанартай болох болон хүрээлэн буй орчны асуудал

ӨАВВ-ыг анх 1985 онд худалдаанд гаргаснаас хойш явуулсан туршилтын болон хээрийн өргөн хүрээтэй аль ч судалгаагаар амьд вакцин эргэж хоруу чанартай болсон эсхүл АТСҮВ-ийн байгальд тохиолдох омогтой рекомбинацид орсон талаар аливаа нотолгоо олж (Timoney & McCollum, 1993) тогтоосон зүйлгүй байгаа.

iii) Сэрэмжлүүлэг

ӨАВВ болон идэвхгүйжүүлсэн аль ч вакцины үйлдвэрлэгч вакцин тус бүрийг хэрэглэх зөвлөмж, тэр дундаа ӨАВВ-ыг хэрэглэж үл болох заалтын талаар вакцинд дагалдах танилцуулгад шаардлагын дагуу оруулж мэдээлнэ. Аль ч вакцин түүнийг адуунд олгосон хүнд аюулгүй.

2.3.3. Үр нөлөөнд тавих шаардлага

ӨАВВ болон идэвхгүйжүүлсэн аль ч вакцины үр нөлөөг вакцинжуулах-зориудын халдвар хийх аргаар тогтооно. Үүний тулд анх удаа вакцинжуулсан бүлэг адуунд эхний вакцинжуулалтаас 4 долоо хоногийн дараа АТСҮВ-ийн хоруу чанартай Бакирус омгоор амьсгалын замаар халдвар хийнэ. Вакцинжуулалтын үр дүнд тогтсон дархлааны хамгаалах түвшинг үнэлэхдээ халдвар хийсэн адуунд АТСҮВ өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрсэн эсэх эсхүл вакцинжуулаагүй хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад өвчний хүндрэл мэдэгдэхүйц бага байсан эсэхийг үндэслэнэ.Вакцинжуулсан азарга үүсгэгчийг тээгч болохоос сэргийлэхэд вакцинжуулалт ямар үр нөлөөтэй болохыг мөн адил аргаар тогтоосон.

2.3.4. Дархлааны үргэлжлэх хугацаа

ӨАВВ-аар вакцинжуулснаас хойш 1-2 долоо хоногийн дараа дийлэнх адуунд АТСҮВ-ийг саармагжуулах эсрэгбиеийн таньц хэмжихэд илрэх хэмжээнд үүснэ (Timoney & McCollum, 1993). Эхний удаагийн вакцинжуулалтад үзүүлэх хариу урвалыг судалсан хоёр судалгааны дүн зөрчилтэй байна. Азарга вакцинжуулсан нэг судалгаагаар туршилтын нэлээд олон амьтанд эсрэгбиеийн таньц түргэн унаж вакцинжуулснаас хойш 1-3 сарын дараа ийлдэсний урвал сөрөгжсөн байна. Нөгөө талаар, дархлааны хариу урвал хангалттай хугацаагаар үргэлжилж наад зах нь 1-2

жилийн хугацаанд вирус саармагжуулах өндөр таньцтай хадгалагдаж байгааг өөр судалгаа харуулжээ. Энэ вакцинаар дахин вакцинжуулахад хэдэн жилдээ харьцангуй багасалгүй хадгалагдах, өндөр таньцтай эсрэгбие шинээр үүсдэг байна (Timoney & McCollum, 1993).

Идэвхгүйжүүлсэн вакцин олгосон ихэнх адуунд хоёрдох вакцинжуулалтаас хойш 14 хоногийн дараа ATCYB-ийг саармагжуулах дунд зэргийн таньцтай эсрэгбие үүсэж байсныг туршилт судалгаа харуулжээ.

2.3.5. Тогтвортой чанар

Хөлдөөн хатаасан ӨАВВ-ыг харанхуй нөхцөлд бол 2–7°C-д 3-4 жилээс доошгүй хугацаагаар халдварлах чанарыг алдагдуулахгүйгээр хадгалж болно. Вакциныг –20°C ба түүнээс нам температурт хөлдүүгээр хадгалбал халдварлах чанар нь илүү удаан хугацаанд хадгалагдана. Гэвч вакциныг уусган сэргээсэн бол 1 цагийн дотор хэрэглэх ба энэ хугацаанд хэрэглээгүй бол устгана. Идэвхгүйжүүлсэн вакциныг шингэн цийдмэг байдлаар, гэрлээс хамгаалан 2–8°C-д хадгалбал идэвхээ алдахгүйгээр наад зах нь 1 жил хадгалагдана.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

BALASURIYA U.B.R., EVERMANN J.F., HEDGES J.F., MCKEIRNAN A.J., MITTEN J.Q., BEYER J.C., MCCOLLUM W.H., TIMONEY P.J. & MACLACHLAN N.J. (1998). Serologic and molecular characterization of an abortigenic strain of equine arteritis virus isolated from infective frozen semen and an aborted equine fetus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **213**, 1586–1589.

BALASURIYA U.B.R., LEUTENEGGER C.M., TOPOL J.B., MCCOLLUM W.H., TIMONEY P.J. & MACLACHLAN N.J. (2002). Detection of equine arteritis virus by real-time TaqMan® reverse transcription-PCR assay. *J. Virol. Methods,* **101**, 21–28.

BALASURIYA U.B.R., PATTON J.F., ROSSITO P.V., TIMONEY P.J., MCCOLLUM W.H. & MACLACHLAN N.J. (1997). Neutralization determinants of laboratory strains and field isolates of equine arteritis virus: Identification of four neutralization sites in the amino-terminal ectodomain. *Virology*, **232**, 114–128.

CAVANAGH D. (1997). *Nidovirales*: A new order comprising *Coronaviridae* and *Arteriviridae. Arch. Virol.*, **142**, 629– 633.

CHO H.J., ENTZ S.C., DEREGT D., JORDAN L.T., TIMONEY P.J. & MCCOLLUM W.H. (2000). Detection of antibodies to equine arteritis virus by a monoclonal antibody-based blocking ELISA. *Can. J. Vet. Res.*, **64**, 38–43.

CRAWFORD T.B. & HENSON J.B. (1973). Immunofluorescent, light microscopic and immunologic studies of equine viral arteritis. Proceedings of the Third International Conference on Equine Infectious Diseases, Paris, 1972. Karger, Basel, Switzerland, 282–302.

DEL PIERO F. (2000). Equine viral arteritis. *Vet. Pathol.,* **37**, 287–296.

DOLL E.R., BRYANS J.T., MCCOLLUM W.H. & CROWE M.E.W. (1957). Isolation of a filterable agent causing arteritis of horses and abortion of mares. Its differentiation from the equine abortion (influenza) virus. *Cornell Vet.*, **47**, 3-41.

DOLL E.R., BRYANS J.T., WILSON J.C. & MCCOLLUM W.H. (1968). Immunisation against equine viral arteritis using modified live virus propagated in cell cultures of rabbit kidney. *Cornell Vet.,* **48**, 497–524.

EDWARDS S., CASTILLO-OLIVARES J., CULLINANE A., LABLE J., LENIHAN P., MUMFORD J.A., PATON D.J., PEARSON J.E., SINCLAIR R., WESTCOTT D.G.F., WOOD J.L.N., ZIENTARA S. & NELLY M. (1999). International harmonisation of laboratory diagnostic tests for equine viral arteritis. Proceedings of the Eighth International Conference on Equine Infectious Diseases, Dubai, UAE, 1998, 359–362.

FUKUNAGA Y. & MCCOLLUM W.H. (1977). Complement fixation reactions in equine viral arteritis. *Am. J. Vet. Res.,* **38**, 2043–2046.

FUKUNAGA Y., WADA R., SUGITA S., FUJITA Y., NAMBO Y., IMAGAWA H., KANEMARU T., KAMADA M., KOMATSU N. & AKASHI H. (2000). *In vitro* detection of equine arteritis virus from seminal plasma for identification of carrier stallions. *J. Vet. Med. Sci.*, **62**, 643–646.

GILBERT S.A., TIMONEY P.J., MCCOLLUM W.H. & DEREGT D. (1997). Detection of equine arteritis virus in the semen of carrier stallions using a sensitive nested PCR assay. *J. Clin. Microbiol.*, **35**, 2181–2183.

GO Y.Y., WONG S. BRANSCUM A., DEMAREST V.L., SHUCK K.M., VICKERS M.L., ZHANG J., MCCOLLUM W.H., TIMONEY P.J. & BALASURIYA U.B.R. (2008). Development of a fluorescent microsphere immunoassay for detection of antibodies specific to equine arteritis virus and comparison with the virus neutralization test. *Clin. Vaccine Immunol*., **15**, 76– 87.

HEDGES J.F., BALASURIYA U.B.R., SHABBIR A., TIMONEY P.J., MCCOLLUM W.H., YILMA T. & MACLACHLAN N.J. (1998). Detection of antibodies to equine arteritis virus by enzyme linked immunosorbant assays utilizing GL, M and N proteins expressed from recombinant baculoviruses. *J. Virol. Methods,* **76**, 127–137.

JONES T.C., DOLL E.R. & BRYANS J.T. (1957). The lesions of equine viral arteritis. *Cornell Vet.,* **47**, 52–68.

KONDO T., FUKUNAGA Y., SEKIGUCHI K., SUGIURA T. & IMAGAWA H. (1998). Enzyme-linked immunosorbent assay for serological survey of equine arteritis virus in racehorses. *J. Vet. Med. Sci*., **60**, 1043–1045.

LITTLE T.V., DEREGT D., MCCOLLUM W.H., & TIMONEY P.J. (1995). Evaluation of an immunocytochemical method for rapid detection and identification of equine arteritis virus in natural cases of infection. Proceedings of the Seventh International Conference on Equine Infectious Diseases, Tokyo, Japan, 1994, 27–31.

LU Z., BRANSCUM A., SHUCK K.M., ZHANG J., DUBOVI E., TIMONEY P.J. & BALASURIYA U.B.R. (2007). Detection of equine arteritis virus nucleic acid in equine semen and tissue culture fluid. *J. Vet. Diagn. Invest.*

MANKOC S., HOSTNIK P., GROM J., TOPLAK I., KLOBUCAR I., KOSEC M. & BARLIC-MAGANJA D. (2007). Comparison of different molecular methods for assessment of equine arteritis virus (EAV) infection: a novel one-step MGB real-time RT- PCR assay, PCR-ELISA and classical RT-PCR for detection of highly diverse sequences of Slovenian EAV variants. *J. Virol. Methods*, **146**, 341–354.

MCCOLLUM W.H. (1970). Vaccination for equine viral arteritis. Proceedings of the Second International Conference on Equine Infectious Diseases, Paris, 1969, Karger, Basle, Switzerland, 143–151.

MCCOLLUM W.H., PRICKETT M.E. & BRYANS J.T. (1971). Temporal distribution of equine arteritis virus in respiratory mucosa, tissues and body fluids of horses infected by inhalation. *Res. Vet. Sci.,* **2**, 459–464.

MISZCZAK F., SHUCK K.M., LU Z., GO Y.Y., ZHANG J., SELLS S., VABRET A., PRONOST S., FORTIER G., TIMONEY P.J. & BALASURIYA U.B.R. (2011). Evaluation of two magnetic-bead-based viral nucleic acid purification kits and three real-time reverse transcription-PCR reagent systems in two TaqMan assays for equine arteritis virus detection in semen. *J. Clin. Microbiol*., **49**, 3694–3696.

MOORE B.O. (1986). Development and evaluation of three equine vaccines. *Irish Vet. J*., **40**, 105–107.

NEWTON J.R., GERAGHTY R.J., CASTILLO-OLIVARES J., CARDWELL M. & MUMFORD J.A. (2004). Evidence that use of an inactivated equine herpesvirus vaccine induces serum cytotoxicity affecting the equine arteritis virus neutralisation test. *Vaccine*, **22**, 4117–4123.

NUGENT J., SINCLAIR R., DEVRIES A.A.F., EBERHARDT R.Y., CASTILLO-OLIVARES J., DAVIS POYNTER N., ROTTIER P.J.M. & MUMFORD J.A. (2000). Development and evaluation of ELISA procedures to detect antibodies against the major envelope protein (GL) of equine arteritis virus. *J. Virol. Methods,* **90**, 167–183.

SENNE D.A., PEARSON J.E. & CABREY E.A. (1985). Equine viral arteritis: A standard procedure for the virus neutralisation test and comparison of results of a proficiency test performed at five laboratories. *Proc. U.S. Anim. Health Assoc.,* **89**, 29–34.

TIMONEY P.J., BRUSER C.A., MCCOLLUM W.H., HOLYOAK G.R. & LITTLE T.V. (2004). Comparative sensitivity of LLC-MK2, RK-13, vero and equine dermis cell lines for primary isolation and propagation of equine arteritis virus. *In:* Proceedings of the International Workshop on the Diagnosis of Equine Arteritis Virus Infection, Timoney P.J., ed. M.H. Cluck Equine Research Center, 20–21 October 2004, Lexington, Kentucky, USA, pp 26–27.

TIMONEY P.J., MCCOLLUM W.H., MURPHY T.W., ROBERTS A.W., WILLARD J.G. & CARSWELL G.D. (1987). The carrier state in equine arteritis virus infection in the stallion with specific emphasis on the venereal mode of virus transmission. *J. Reprod. Fert., Suppl.*, **35**, 95–102.

TIMONEY P.J. & MCCOLLUM W.H. (1993). Equine viral arteritis**.** *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.,* **9**, 295–309.

VAALA W.E., HAMIR A.N., DUBOVI E.J., TIMONEY P.J. & RUIZ B. (1992). Fatal congenitally acquired equine arteritis virus infection in a neonatal foal. *Equine Vet. J.*, **24**, 155–158.

WEBER H., BECKMANN K. & HAAS L. (2006). Fallbericht. Equines arteritisvirus (EAV) als aborterreger bei alpacas? *Dtsch. Tierarztl. Wschr*., **113**, 162–163.

WESTCOTT D.G., KING D.P., DREW T.W., NOWOTNY N., KINDERMANN J., HANNANT D., BELAK S. & PATON D.J. (2003). Use of an internal standard in a closed one-tube RT-PCR for the detection of equine arteritis virus RNA with fluorescent probes. *Vet. Res.,* **34**, 165–176.

ZHANG J., SHUCK K.M., MCCOLLUM W.H. & TIMONEY P.J. (2004). Comparison of virus isolation in cell culture and RT-PCR assays for detection of equine arteritis virus in cryopreserved semen. Proceedings of the International Workshop on the Diagnosis of Equine Arteritis Virus Infection, Timoney P.J., ed. M.H. Gluck Equine Research Center, 20–21 October, 2004, Lexington, Kentucky, USA, 41–42.

ZHANG J., TIMONEY P.J., SHUCK K.M., SEOUL G., GO Y.Y., LU Z., POWELL D.G., MEADE B.J. & BALASURIYA U.B.R. (2010). Molecular epidemiology and genetic characterization of equine arteritis virus isolates associated with the 2006– 2007 multi-state disease occurrence in the USA. *J. Gen. Virol.,* **91**, 2286–2301.

*

* *

ЖИЧ: Адууны тараагуур судасны вируст үрэвслийг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори бий
(ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас мэдээлэл авна уу:

https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

Адууны тараагуур судасны вируст үрэвслийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудтай холбогдож авна уу.

ЖИЧ: 1990 ОНД АНХ, 2013 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

БҮЛЭГ 39 (3.6.10)

ЯМ ӨВЧИН БА ХУУРАМЧ ЯМ ӨВЧИН

А. УДИРТГАЛ

Ям өвчин битүү туурайтай амьтанд бактериар үүсдэг, хүнд халдварладаг, эрт дээр үеэс мэдэгдсэн өвчин юм. Ям өвчин *Burkholderia mallei* (Yabuuchi нар, 1992) бактериар үүсэх ба өмнө нь *Pseudomonas, Pfeifferella*, *Loefflerella, Malleomycs, Actinobacillus* зэргээр янз бүрийн ангилалд орж байв. Адууны овгийн амьтанд хавьтлаар халдварладаг ноцтой энэ өвчний дэгдэлт зэрлэгээр эсхүл амьтны хүрээлэнд амьдрах муурын төрлийн амьтанд гарах нь бий. Тэмээ, баавгай, чоно, нохой ям өвчинд мэдрэмтгий болох нь батлагджээ. Махан идэштэн ям өвчний халдвартай амьтны мах идсэнээр халдвар авах ба үхэр, гахай тэсвэртэй ажээ. Ям өвчтэй адуутай ойр хавьталд байсан бог мал халдвар авч болно (Wittig нар, 2006). Илжиг, луусанд ям өвчин ихэвчлэн цочмог хэлбэрээр тусаж өндөр халуурах, амьсгалын зам эмгэгших (уруул хавдах, амьсгал давчдах, уушги үрэвсэх) байдлаар илрэх ба хэдхэн хоногийн дотор үхнэ. Харин адуу ихэнхдээ ям өвчний архаг хэлбэрээр өвчлөх ба өвчтэй адуу хэдэн жил ч амьдарна. Архаг болон эмнэл зүйн шинж тэмдэггүй “далд” хэлбэрийн ям өвчтэй амьтнаас бактери байнга эсхүл үе үе ялгарч байдаг учраас халдварын бодит эх үүсвэр болно (Wittig нар, 2006). Khan нар (2013) ям өвчний эпидемиологи, оношилгоо, тэмцэх арга хэмжээг нэгтгэн авч үзсэн байна.

Адууны хамрын хөндий, хамрын таславч дээр идээт үрэвсэл, яршил үүсэж наалдамхай шар шүүдэс гарах ба улмаар эрүүн доорх тунгалгийн зангилаа томорч хатуурна. Яршил нь од хэлбэрийн сорви үүсгэн эдгэрнэ. Уушгинд төв хэсгээрээ үхжилийн саарал бүстэй, улаавтар зангилаа маягийн буглаа үүсэж аажим аажмаар сульдах, халуурах, ханиалгах, амьсгал давчдах шинж тэмдэг дагалдана. Чацга алдах, шээх нь олширно. Арьсан дээр ямын зангилаа үүсэж тунгалгийн зангилаа томорч 0.5-2.5 см хэмжээний зангилаат буглаа үүсэн яршиж тослог шар идээ гоожно. Яршил хуурай байж болно. Зарим үед элэг, дэлүүнд идээт мөхлөгт зангилаа үүснэ. Амьсгалын зам болон арьснаас ялгарах гоождос халдвартай байх тул ойр хавьталтай байгаа мал, амьтны хооронд амьсгал, бохирдсон зүйл залгигдах (халдвартай тэжээл, усны онгоцноос) эсхүл механик зүйлээр (тоног, хэрэгслээр дамжин) халдвар дамжина. Нууц үе хэдхэн өдрөөс олон сар үргэлжилнэ (Wittig нар, 2006).

Ям өвчин өвчтэй мал, халдвартай эсхүл бохирдсон эд зүйлээр шууд дамжин хүнд халдварлана. Хэрэв эмчилгээ хийхгүй бол цочмог хэлбэрээр өвчилсөн хүний 95% нь 3 долоо хоногийн дотор үхнэ (Neubauer нар, 1997). Харин халдвар авсан хүнд цаг алдалгүй системийн үйлчлэлтэй төрөл бүрийн антибиотикоор эрчимтэй эмчилгээ хийсэн тохиолдолд амьд үлдэх боломжтой. Буглаа олноор үүсэх архаг хэлбэр тохиолдож болно (Neubauer нар, 1997).

Заавал шинжлэх, халдвартай амьтныг устгах, импортыг хязгаарлах аргаар олон улс орон ям өвчнийг устгажээ. Ази, Африк, Өмнөд Америкийн хэд хэдэн улсад энэ өвчин орогносоор байгаа ба дахин сэргэж байгаа өвчинд тооцогддог. Ям өвчин адууны овгийн амьтны шилжилт хөдөлгөөнөөр дамжин уг өвчнөөр тайван нутагт нэвтэрнэ (Neubauer нар, 2005).

Burkholderia pseudomallei нь 3үүн өмнөд Азиас гаралтай (I 20°N ба 20°S өргөргийн хооронд орших нутагт) мелоидоз буюу хуурамч ям өвчний үүсгэгч юм (Limmathurotsakul нар, 2016). Энэ бактери дээрх нутагт хаа сайгүй тархсан, органик зүйлийн азотыг задалж байдаг хөрсний чухал бактери юм. Ийм ч учраас *Burkholderia pseudomallei* нь байгаль орчинд тогтвортой оршиж байдаг. Түүнчлэн энэ бактери төрөл бүрийн антибиотик, халдваргүйжүүлэгч бодист тэсвэртэй (Currie, 2015; O’Connell нар, 2009; Sprague & Neubauer, 2004). *Burkholderia pseudomallei*-ийн эзэн амьтан маш өргөн хүрээтэй буюу зэрлэг амьтан, тэжээвэр амьтан, хүнийг хамарна (Rush & Thomas, 2012). Янз бүрийн эрхтэнд (дэлүү, элэг, уушги, тунгалгийн зангилаа) үүссэн буглаанаас, дэлэнгийн үрэвслийн үед сүүнээс, чацга алдсан тохиолдолд бааснаас *Burkholderia pseudomallei* ялган авсан байна. Энэхүү бүлэг нь ямтай илүү төстэй мөртөө төрөл бүрийн өөр өөр шинж үзүүлж болох адууны өвчинд төвлөрнө. Адуунд хуурамч ям өвчин өндөр халуурах, цус үжих, хөл мөчид хавагнах, чацга алдах, өвчлөөд 24 цагийн дотор үхэх зэрэг шинж үзүүлдэг хурц хэлбэрээр, эсхүл мөчдийн хаван, үл ялиг дэлүүтэх болон гэдэсний гүрвэлзэх хөдөлгөөн ихсэх шинж үзүүлэх цочмог хэлбэрээр тохиолдоно. Ихэвчлэн хуурамч ям өвчин амьтанд тэжээлийн дуршил алдагдуулахгүйгээр 3 долоо хоногоос 3 сар хүртэл эмнэл зүйн шинж тэмдэггүй эсхүл архаг хэлбэрээр үргэлжилнэ. Турж эцэх, хавагнах, мөчдийн тунгалгийн зангилаа үрэвсэх, бага зэрэг

дэлүүтэх, чацга алдах, уушги үрэвсэх, ханиалгах, хамраас шингэн гоожих шинж тэмдэг мөн энэ өвчний үед илэрсэн тухай мэдээлжээ. Арьсанд эхэндээ мөөгөнцрийн экземтэй төстэй өөрчлөлт гарч улмаар буглаа үүсэлгүй гөвдрүүтнэ. Нугас тархины цочмог үрэвсэл, нүдний эвэрлэг бүрхүүлийн үрэвсэл ажиглагдана. Хэрэв халдвар амаар дамжсан бол гэдэс дотрын эмгэг давамгайлна. Уушги ямагт өртөх ба мөгөөрсөн хоолой, уушги цочмог үрэвсэл, олон тооны буглаа үүснэ. Задлан шинжилгээ хийхэд гэдэсний хүнд хэлбэрийн үрэвсэл, бөөрөнд бичил буглаа, элэг, дэлүүнд үхжилийн голомт үүссэн байх нь ажиглагдана. Амьсгалын дээд замын салст бүрхэвч шархлах, хамрын таславч, залгиурын хавхалга дээр сорвижсон эд үүсэж болно. Арьс болон мөчдийн арьсан дор яршил, зангилаа үүсэх нь ямын эмгэг хувиралтай андуурагдаж болно. Нүдний салст болон эвэрлэг бүрхэвчийн үрэвсэл ховор ч гэсэн тохиолдоно. Хээрийн нөхцөлд халдвар авсан амьтны өвчний нууц үе тодорхойгүй. Халдвартай амьтан эсхүл түүний орчны бохирдсон зүйлээр халдвар тархана. Хүрээлэх орчныг бүрдүүлэгч амьд болон амьгүй махбодын үзүүлэх механик гэмтэл, идэш тэжээл, амьсгалаар дамжин халдвар гарч болно гэж үздэг. Далд халдвар тохиолдож болно (Sprague & Neubauer, 2004). Уг өвчин туссан хүнд цаг алдалгүй эмчилгээ хийсэн ч эндэх нь олонтой тохиолдоно (Currie, 2015; Kingsley нар, 2016b). Антибиотик эмчилгээний адуунд зориулсан баталгаатай дэглэм гараагүй байна.

Сэргэж байгаа өвчинд тооцож болох хуурамч ям өвчин нь өдгөө дэлхийн олон бүс нутагт гарч байна (Limmathurotsakul нар, 2016). Хуурамч ямтай тэмцэхийн тулд эмнэл зүйн сэжигтэй тохиолдолд шинжилгээ хийх, илт эрүүл харагдах адууны овгийн амьтанд ч илрүүлэх шинжилгээ хийж эерэг урвалтай амьтныг ялган устгах шаардлагатай. Сэрүүн уур амьсгалтай бүс нутгийн адуунд эрүүл ахуй (халдваргүйжүүлэлт, өдөрт хэд хэдэн удаа баасыг цэвэрлэх, цэвэрлэгээнд ус бага зарцуулах, туурай, доод мөчдийг халдваргүйжүүлэх, шилжилт хөдөлгөөнд хяналт тавих) хөрсний эрүүл ахуйг тогтмол хангахад онцгой анхаарна. Амьтны баас шавхай, хаягдал усыг боловсруулах, мэрэгчтэй тэмцэх зэргээр халдвар тархахаас хамгаалах тохиромжтой аргыг тогтоосон эсхүл мэдээлсэн зүйл байхгүй юм (Dodin, 1992). Додины судалснаар (1992) Франц улсад халдвар авсан бүх амьтныг зайлуулсны дараа л өвчний гаралт буурч халдвартай хөрс цэвэршсэн байна. Үүнтэй уялдаатайгаар хуурамч ям өвчин эндемик хэлбэрт шилжээгүй байгаа улсын тухайд ийм өвчтэй адууны овгийн бүх амьтныг нэн даруй устган тухайн нутагт хүн, амьтан аль алинд халдварын эрсдэл байнга учруулахуйц байгалийн голомт үүсгэхээс хамгаалах хэрэгтэйг Sprague & Neubauer (2004) нар санал болгожээ.

Халдварын сэжигтэй эсхүл халдвартай амьтан, халдвартай зүйлтэй харьцахдаа өөрөө халдвар авахаас эсхүл бактери дамжин халдварлахаас хамгаалсан урьдчилан сэргийлэх арга хэмжээ маш сайн авах хэрэгтэй. Лабораторийн сорьцыг аюулгүй байхаар савлаж хөлдөөлгүйгээр сэрүүн нөхцөлд байлган 1.1.3 *Биологийн материал тээвэрлэх* бүлэгт заасны дагуу тээвэрлэнэ. Халдвартай/бохирдолтой байж болзошгүй материалтай харьцах бүх арга ажиллагааг биологийн эрсдэлийн дүн шинжилгээгээр тогтоосон биоаюулгүй ажиллагаа болон тусгаарлалтын тохирох түвшинд гүйцэтгэнэ (*1.1.4 Биоаюулгүй ажиллагаа ба биохамгаалал: Мал эмнэлгийн лаборатори, туршилтын амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандарт* бүлгийг үз).

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Ям өвчнийг оношлох шинжилгээний арга, зорилго

Арга	**Зорилго**					
	Популяци халдваргүйг тогтоох	Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах	Халдварын тархалт тогтоох – тандалт	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгч илрүүлэх						
ПГУ	–	–	–	+	–	–
Өсгөвөр	–	–	–	+	–	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ХХУ	++	++[1]	+++	+	+++	–

[1] Зөвхөн адууны сорьцод – илжигний сорьц шинжилсэн үр дүнг боловсруулахдаа анхаарна.

ЕЛИЗА	+	+	++	+	++	
Арьсны ямлуурын сорил	+	+	+	+	+	–
Вестерн блот	+	+	++	+	++	–

Түлхүүр үг:
+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
++ энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй
ЕЛИЗА = энзим холбоост дархлааны урвал;
ПГУ = полимеразагийн гинжин урвал.

Хуурамч ям өвчний эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах зорилгоор өсгөвөрлөх болон полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ)-аар үүсгэгчийг илрүүлэх, дүйн тодорхойлоход дор дурдсан аргыг хэрэглэж болох ба харин энэ халдварт тохирсон ийлдэс судлалын арга байхгүй байна.

1. Ям өвчнийг оношлох шинжилгээний үр дүнг боловсруулах

Адууны овгийн амьтан эсхүл тэрхүү амьтнаас гаралтай бүтээгдэхүүний сорьцоос *Burkholderia mallei*-г ялгах, таньж тогтоох эсхүл тэрхүү дээжид *B. mallei*-д өвөрмөц эсрэгтөрөгч эсхүл генетик материал илрүүлэн таньж тогтоох аргаар ям өвчний оношийг баталгаажуулна. Хэрэв хавсарга холбох урвал (ХХУ)-аар 1/5 таньц үзүүлсэн, энэ дүн ХХУ-аас мэдрэх чанар, өвөрмөц чанарын хувьд ижилхэн эсхүл илүү өндөр хоёрдогч шинжилгээний аргаар, жишээ нь *B. mallei*-өвөрмөц липополисахаридийн (LPS)-вестерн блот, I-ELISA (энзим холбоост дархлааны шууд бус урвал) (VI хэлбэрийн ялгаруулах системийн рекомбинант уурагт суурилсан) эсхүл C- ELISA (өрсөлдөөнт ЕЛИЗА) (*B. mallei*-өвөрмөц ижил гарлын эсрэгбиед суурилсан) урвалаар батлагдсан тохиолдолд ийлдэс судлалын арга нэмэлт нотолгоо болж өгнө.

2. Үүсгэгч илрүүлэх

Ям өвчнийг тусгайлан шинжлэх тохиолдолд хамрын салст бүрхүүл, духны хөндий, эсхүл арьсанд нөлөөлдөг сахуу (*Streptococcus equi*), хулгана яр (*Corynebacterium pseudotuberculosis*), иж сүрьеэ (*Yersinia pseudotuberculosis*), споротрихоз (*Sporotrichium* spp.) зэрэг бусад архаг халдварын үеийн эмнэл зүйн шинж тэмдгээс ялгаварлана. Ям өвчнийг түүнтэй эмнэл зүйн хувьд олон талаар төстэй эпизоот хулгана яр (*Histoplasma farciminosum*) өвчний сэжигтэй тохиолдлоос ялгаварлана. Адуунд, ялангуяа хүнд ям өвчнийг хуурамч ям өвчнөөс ялгаварлан оношилно.

2.1. *Burkholderia mallei*-н хэлбэр зүй

Эмгэг бие бүтцийн шинэ хувиралтай буюу гэмтсэн хэсгээс бэлтгэсэн түрхцэд *Burkholderia mallei* олон тоогоор, харин хуучин гэмтлээс хийсэн түрхцэд сийрэг харагдана. Түрхцийг метилийн хөх эсхүл Грамын будгаар будна. Грам сөрөг савханцар нь мохоо үзүүртэй, 2–5 мкм урт, 0.3–0.8 мкм өргөн, дотроо янз бүрийн хэмжээтэй мөхлөгт оршихуунтай. Энэ бактери ерөнхийдөө эсийн гадна орших ба Грамын будгаар ихэвчлэн жигд бус, муу будагдана. Гэрлийн микроскопоор харахад бактери илт харагдах бүрээсгүй байх бөгөөд үрэнцэр үүсгэдэггүй. Электрон микроскопоор харахад бүрээс (капсул) шиг бүрхүүл байгаа нь тодорхой харагддаг. Энэ бүрээс саармаг нүүрс уснаас бүрдэх ба орчны тохиромжгүй хүчин зүйлээс хамгаалах үүрэгтэй. *B. mallei* нь *Pseudomonas* бүлгийн бусад организм болон түүний ойр хамааралтай *B. pseudomallei* шиг шилбүүргүй, иймд хөдөлгөөнгүй (Sprague & Neubauer, 2004). Хөдөлгөөнгүй чанар нь оношилгооны хамгийн чухал гадаад шинж чанар бөгөөд энэ нь цэвэр өсгөвөрт харагдана. Үүсгэгч нь эдийн зүсмэгт бөмбөлөг байдлаар харагдах тул түүнийг илрүүлэхэд төвөгтэй. Тэжээлт орчны байдал, төрлөөс хамаарч үүсгэгч тэжээлт орчин дээр янз бүрээр харагдана. Хуучирсан тэжээлт орчинд үүсгэгчийн хэлбэр, хэмжээ нь ихээхэн өөрчлөгдөнө. Шөлөн өсгөврийн гадаргуу дээр салбарласан утас шиг хэлбэртэй харагдана (Neubauer нар, 2005).

2.2. Өсгөврийн шинж чанар

Хөндөөгүй, бохирдолгүй гэмтлээс үүсгэгч ялгах нь илүү зохистой. *Burkholderia mallei* нь агаартан бактери бөгөөд зөвхөн азоттой орчинд туйлбаргүй агаартан болж хувирах ба 37°C-д хамгийн сайн ургана. Үүсгэгч нь тэжээлт орчинд, тэр дундаа хонины цустай агарт удаан

боловч сайн ургана. Өсгөврийг ялангуяа глицеринээр баяжуулсан тэжээлт орчинд 72 цагийн турш өсгөвөрлөх нь ашигтай гэж зөвлөдөг. Хонины цустай агар дээр ургасан *B. mallei*-н нимгэн, саарал, гялалзсан колони нь бусад бактерид амархан далдлагдан ургах учраас 72 цаг өсгөвөрлөсний дараа бактерийг анзааралгүй өнгөрөөчихгүйн тулд маш анхааралтай ажиглана. Глицеринтэй агар дээр хэд хоногийн дараа бүх талбайг хамарсан, гөлгөр, чийглэг, бага зэрэг наалдамхай цөцгий мэт өнгөтэй ургалт ажиглагдана. Үргэлжлүүлэн өсгөвөрлөхөд ургалт нь зузаарч хар хүрэн өнгөтэй болж хатуурна. *Burkholderia mallei* глицерин төмстэй агар дээр, мөн глицеринтэй шөлөнд сайн ургаж нялцгайвтар хальс үүсгэн хэлбэржинэ. Тэжээлийн агар дээр ургалт нь удаан, желатин дээр муу байна. *B. mallei* ургалтыг идэвхжүүлдэг *Burkholderia* сонгомол тэжээлт орчин янз бүрээрээ худалдаанд гарсан байна (Glass нар, 2009). Ариун нөхцөлд авсан шинэ сорьцод ч ихэвчлэн бусад бактерийн ургалтаас шалтгаалан *B. mallei* ялгах ажил маш төвөгтэй болдог (Wernery, 2009).

Ямын халдварт сэжиглэж байгаа өсгөврийг биохимийн урвал эсхүл ПГУ-аар ялган таньж баталгаажуулна. *In vitro* нөхцөлд ургалтын шинж чанар нь өөрчлөгдөж магадгүй учраас бактерийг ялган таньж тогтоохдоо шинэ өсгөврийг хэрэглэнэ. Нитратын хэмжээ, арганины дигидролизатын арганин ашиглалт, глюкозын шингэлт, N-ацетил глюкозмин, глюконатын хэмжээ тус тус буурах нь биохимийн эерэг урвалд тооцогдоно. Өсгөвөрлөхөд 48 цаг шаарддаг арабиноз, фруктоз, манноз, маннитол, адипик хүчил, малат, гурван натрит цитрат, фенил цууны хүчил шингээх урвал болон Voges-Proskauer -ын урвал нь омог тус бүрд харилцан адилгүй байна. Өсгөвөрт индол үүсээгүй, адууны цус задлахгүй, нэвчмэл нөсөө үүсгээгүй байна. *B. mallei* нь филогенезийн явцдаа ферментийн олон янзын үйлчлэлээ алддаг тул *B. mallei*-г *B. pseudomallei*-аас ялгаварлахад биохимийн янз бүрийн шинж чанарыг ашиглана (Neubauer нар, 1997). Тухайн үүсгэгч *Pseudomonas* бүлэгт хамаарч байгааг баталгаажуулах лабораторид хэрэглэхэд бэлэн худалдаанд гарсан биохимийн ялган таних цомог бий. Гэвч худалдаанд гарсан цомгууд нь байнга нэмэгдсээр байдаг *Burkholderia* төрлийн үүсгэгч нэг бүрийг яг оноож ялган таних боломжгүй юм (Glass & Popovic, 2005, Hemarajata нар, 2016; Inglis *c* 2005; Kingsley нар, 2016a; Lau нар, 2015; Zong нар, 2012). Ийм учраас бактерийн хөдөлгөөнгүй байдаг шинж чанар нь онцгой ач холбогдолтой. Эс хоорондын бүтцийг ашиглан лазераар ионжуулах масс спектрометрийн аргаар (дээж дэх биомолекулуудыг нэгэн зэрэг илрүүлж ялган таних спектрометрийн арга) хэвшил тогтоох аргыг хэрэглэж болдог (Cunningham & Patel, 2013; Karger нар, 2012). *B. mallei*-д өвөрмөц бактериофаг бий. *B. pseudomallei*-д өвөрмөц эсрэгбиеийг ямын лавлах болон төрөлжсөн лабораторид хэрэглэдэг ч тэр нь худалдаанд бэлэн байдаггүй, адууны овгийн амьтанд хэрэглэж болох баталгаа хараахан гараагүй байна (Sprague & Neubauer, 2004).

Бэлтгэсэн бүх тэжээлт орчны чанарыг шалгасан байх ба бага хэмжээний тарилтаас ч сэжиг бүхий үүсгэгчийг сайн ургуулдаг байх ёстой. Сэжигтэй дээжтэй зэрэгцүүлэн лавлагааны омгийг өсгөвөрлөх замаар уг өсгөвөрлөлт зөв явж байгаа эсэхийг шалгана.

Бохирдсон дээжийн тухайд өсгөвөрлөх тэжээлт орчныг нь Грам эерэг бичил биетний ургалтыг саатуулагч бодисоор (кристал виолел, профлавин) баяжуулах, түүнчлэн пенициллинээр урьдчилан боловсруулах (1000 нэгж/мл 37°C-д 3 цаг) нь тустай болох нь батлагджээ. Глицерин (4%), илжиг эсхүл адууны ийлдэс (10%), хонины гемоглобин эсхүл триптон агар (0.1%) агуулсан мах пептоны агар (МПА) (100 мл) дээр полимиксин E (1000 нэгж), бацитрацин (250 нэгж), актидион (0.25 мг) нэмсэн хагас сонгомол тэжээлт орчныг бүтээсэн байна (Xie нар, 1980). Маш ихээр бохирдсон дээжийг *Proteus* spp.-ийн ургалтыг саатуулдаг цустай хатуу агар дээр, түүнчлэн ям өвчний дээж дэх олон төрлийн Грам сөрөг ба Грам эерэг бактерийн ургалтыг саатуулдаг Сабурогийн декстрозтой агар дээр татаж тарина. Облигат агаартан бичил биетний ургалтыг саатуулах үүднээс эдгээр дээжийг цустай агар дээр татаж тарьсны дараа агааргүй орчинд 24 цаг өсгөвөрлөнө. Агааргүйтэн ургуулах орчин цутгасан аяганаас *B. mallei*-г ялган авахын тулд 37°C-д үргэлжлүүлээд 24 цаг өсгөвөрлөнө. Түүнчлэн бохирдсон дээжийг шинжлэхэд ПГУ аргыг хэрэглэж болно.

Адуунаас авсан сорьцоос *B. pseudomallei* ялган авах баталгаажсан арга байхгүй. Яршил, гэмтэл, эсхүл гоождосны дээжээс өсгөвөр хийвэл үр дүнтэй. *B. pseudomallei*-г ялгахад цустай агар эсхүл Макконкей агар зэрэг стандарт тэжээлт орчин хэрэглэх ба Аашдоуны агар, Галимандсын шөл, эсхүл *B. pseudomallei* сонгомол тэжээлт орчин (BPSA) зэрэг сонгомлоор баяжуулсан аргыг боловсруулсан байна (Limmathurotsakul нар, 2012; Peacock нар, 2005; Prakash нар, 2014; Roesnita нар, 2012; Sprague & Neubauer, 2004; Trung нар, 2011). Тухайн тэжээлт орчин, омгоос хамааран колонийн хэлбэр гөлгөрөөс барзгар хүртэл янз бүр байх ба хэд хоног өсгөвөрлөсний дараа ихэвчлэн үрчийнэ. Колумбийн агарт зайгүй үргэлжлэн ургасан эс металлынх шиг гялбаа үүсгэдэг нь түүнийг *B. pseudomallei* гэж урьдчилан ялгаварлахад чухал ач холбогдолтой (Dance нар, 1989).

B. mallei нь хатаах, халаах, гэрэл эсхүл химийн бодист тэсвэр муутай тул бие махбодын гадна амьд орших магадлал 2 долоо хоногоос хэтрэхгүй (Neubauer нар, 1997). Гэвч тохиромжтой нөхцөл бүрдвэл хэдэн сараар амьд оршино. Битүү шугамаар түгээдэг усанд *Burkholderia mallei* наад зах нь 1 сар амьд байна. Хлорт бензаколин (1/2,000), натрийн гипохлорит (500 ppm идэвхт хлор), иод, хлорт мөнгөн усны спиртэн уусмал, калийн перманганат зэргийг халдваргүйжүүлэлтэд хэрэглэхэд маш өндөр идэвхтэй болох нь тогтоогджээ. Фенол агуулсан халдваргүйжүүлэгчийн үр дүн бага (St. Georgiev, 2008).

Burkholderia pseudomallei – усанд 16 жил (Pumpuang нар, 2011), шаварлаг усанд 7 сар хүртэл, лабораторид доторх хөрсөнд 30 хүртэл сарын хугацаанд амьд оршино. Бактери 1000 p.p.m хүртэл агууламжтай чөлөөт хлор бүхий усанд амьд үлдэж чаддаг учраас хлор ям өвчин үүсгэгчийн зөвхөн өсөлтийг зогсоох нөлөө үзүүлнэ (Sprague & Neubauer, 2004).

Халдваргүйжүүлэгч бодистой харьцах, хэрэглэх тухайн улсын гаргасан журам, зааврыг мөрдөнө.

2.3. *Burkholderia mallei*-г полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ), бодит цагийн ПГУ-аар ялган таних

B.mallei-г ялган таних, *B.pseudomallei*-г ялгаварлах хэд хэдэн янзын ПГУ, бодит цагийн ПГУ-ыг боловсруулжээ (Lowe нар, 2014 тойм). Адууны ям өвчний байгалийн дэгдэлтийн үед авсан сорьц ашиглан нэг төрлийн энгийн ПГУ, нэг төрлийн бодит цагийн ПГУ-д үнэлгээ хийсэн байна (Scholz нар, 2006; Tomaso нар, 2006). Иймд энэ хоёр шинжилгээний аргыг илүү нарийвчлан энд тодорхойлон оруулсан бөгөөд уг аргын найдваршлыг лабораторийн хоорондын судалгаагаар тогтоох хэрэгтэй. Үүний тулд 1.1.6 *Халдварт өвчний оношлох шинжилгээний аргын зарчим, арга* бүлэгт өгсөн зааварчилгаа, анхааруулгыг харгалзан үзнэ.

2.3.1. ДНХ бэлтгэх

Агартай аяганаас нэг ширхэг колонийг авч 200 мкл ионгүйжүүлсэн усанд хийнэ. Халуунаар идэвхгүйжүүлэлт (жишээ нь 99°C-д 30 минут) хийсний дараа Грам сөрөг бактериас ДНХ бэлтгэх, худалдааны бэлэн цомог ашиглан ДНХ-г ялгана (Scholz нар, 2006, Tomaso нар, 2006 нарын аргыг үз). Үүнээс гадна цэвэр өсгөврөөс авч халууны аргаар идэвхгүйжүүлэлт (жишээ нь 99°C-д 10 минут) хийсэн бактерийг ПГУ-д шууд ашиглаж болно.

Адуунаас авч идэвхгүйжүүлэлт хийсний дараа формалинд (10%-д 48 цаг) хадгалсан эдийн сорьцод (арьс, уушги, хамрын самсаа, таславчийн салст бүрхэвч, элэг, дэлүү) хурц хутгаар 0.5 × 0.5 см (ойролцоогоор 500 мг) болгон жижиглэнэ. Дээжийг ионгүйжүүлсэн усаар (10 мл) 2 дахин угаасны дараа физиологийн ариун уусмалд хийн 4°C-д хонуут байлган улмаар шингэн азотод хийж хөлдөөгөөд уур нухуураар нунтаглана. Худалдаанд байдаг хандлалтын цомгийг ашиглан үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу 50 мг эдийн дээжээс нийт ДНХ-ийг бэлтгэнэ. ДНХ-ийг 80 мкл dH_2O эсхүл хэрэглэж байгаа цомогт таарах аргаар уусгаж авна. Эдийн дээжээс ДНХ ялгах *B. pseudomallei* цомогт үнэлгээ хийгджээ (Obersteller нар, 2016).

2.3.2. ПГУ-аар шинжилгээ хийх (Scholz нар, 2006)

Дулаан сэлгэлтийн нөхцөл, хэрэглэх урвалжийн төвшрүүлгийг тухайн хэрэглэж байгаа ПГУ-ын төхөөрөмжид тохируулан бага зэрэг өөрчилж шинжилгээ хийнэ.

Scholz нарын (2006) хэрэглэсэн олигонуклеотидийг *B. mallei* ATCC 23344T (бүртгэлийн дугаар NC_006350, NC_006351) болон *B. pseudomallei* K96243 (бүртгэлийн дугаар NC_006348, NC_006349) бактерийн *fliP* дараллын хоорондын ялгаанд суурилан сонгосон байна. ДНХ-ийн 989 хос суурь хэрчмийг олшруулахын тулд Bma- IS407-flip-f (5'-TCA-GGT-TTG-TAT-GTC-GCT-CGG-3') болон Bma- IS407-flip-r (5'-CTA-GGT-GAA-GCT-CTG-CGC-GAG-3') праймер хэрэглэнэ. ПГУ-д бэлэн хэрэглээний 50 мкл мастер холимог, праймер тус бүрээс 15 пмоль, ДНХ-ийн темплат 4 мкл хэрэглэнэ. Дулаан сэлгэлтийн нөхцөл: 94°C-д 30 секунд, 65°C-д 30 секундээр 35 удаа, 72°C-д 60 секунд, уртасгах сүүлчийн шатыг 72°C-д 7 минут хийгээд дуусгана. Агарозын гельд (TAE буферт 1%) явуулсан электрофорезийн дараа нуклейн хүчлийн будгаар будаад ПГУ-аар үүссэн бүтээгдэхүүнийг UV гэрэл ашиглан

харна. Өмнөх гүйлгэлтийн ампликоноос эсхүл буруу олшруулалтаас үүдсэн бохирдлыг илрүүлэхийн тулд ПГУ тавих бүрдээ *B. mallei*-н ДНХ агуулсан эерэг хяналт болон темплатыг орлуулан ПГУ-ын зориулалттай ус агуулсан темплатгүй хяналтыг ашиглана.

Энэ шинжилгээний хамгийн бага илрүүлэлтийн хязгаар нь 10 fg эсхүл 2 геномтой тэнцэнэ.

2.3.3. Бодит цагийн ПГУ-аар шинжилгээ хийх (Tomaso нар, 2006)

Бодит цагийн ПГУ-ын төхөөрөмж үйлдвэрлэгчийн зөвлөсөн дулаан сэлгэлтийн цодонг сонгож хэрэглэх, олигонуклеотидийн төвшрүүлгийг нэмэх эсхүл пробын тэмдэглээг өөрчлөх зэргээр тухайн хэрэглэж байгаа бодит цагийн ПГУ-ын төхөөрөмжид тохируулан шинжилгээг хийнэ.

Tomaso нарын (2006) хэрэглэсэн олигонуклеотидийг *B. mallei* ATCC 23344T (бүртгэлийн дугаар NC_006350, NC_006351) болон *B. pseudomallei* K96243 (бүртгэлийн дугаар NC_006348, NC_006349) бактерийн *fliP* дараллын хоорондын ялгаанд суурилан сонгосон байна. Дараллын 5’-төгсгөлд 6-карбокси-флюоресцейн (FAM) болон 3’-төгсгөлд бараан квинчер 1 (BHQ1)-ээр өнгө үүсгэгч пробыг нийлэгжүүлнэ. Шинжилгээнд Bma-flip-f (5’-CCC-ATT-GGC-CCT-ATC-GAA-G-3’), Bma-flip-r (5’-GCC-CGA-CGA-GCA-CCT-GAT-T-3’) праймер болон Bma-flip (5’-6FAM- CAG-GTC-AAC-GAG-CTT-CAC-GCG-GAT-C-BHQ1-3’) проб хэрэглэнэ.

12.5 мкл 2 × мастер холимог, праймер тус бүрээс 0.1 мкл (10 пмоль /мкл), проб 0.1 мкл (10 пмоль/мкл), 4 мкл ДНХ темплатаас бүрдэх нийт 25 мкл урвалын холимог хэрэглэнэ. Дулаан сэлгэх нөхцөл нь 50°C-д 2 минут, 95°C-д 10 минут, 95°C-д 25 секундээр 45 мөчлөг, 63°C-д 1 минут байна. Олшруулсан бүтээгдэхүүнд өмнө нь явуулсан урвалаас үлдсэн байж болох бохирдуулагчийг тогтмол дулаанд байлгах эхний шатанд урацил *N*’-гликозилаза ашиглан идэвхгүй болгоно.

Дахин олшруулах мөчлөгийн босго утгыг таньцлах боломжтой бактериофагийн лямбда бай генд (Lambda-F [5’-ATG-CCA-CGT-AAG-CGA-AAC-A-3] Lambda-R [5’-GCA-TAA-ACG- AAG-CAG-TCG-AGT-3’], Lam-YAK [5’-YAK-ACC-TTA-CCG-AAA-TCG-GTA-CGG-ATA-CCG-C-DB-3’]) суурилсан саатуулалтын дотоод хяналтыг ашиглахыг энэ аргыг боловсруулсан судлаачид зөвлөсөн байна. Гэвч дээжийн төрлөөс хамаарч нэмэлтээр эсхүл өөр нэг хувилбар болгон ПГУ-ын бай болгон зөвхөн тухайн амьтны зүйлд өвөрмөц ген буюу эсийн хэвийн үйл ажиллагааг хангагч генийг ашиглаж болно. Өмнөх гүйлгэлтийн ампликоноос эсхүл буруу олшруулалтаас үүдсэн бохирдлыг илрүүлэхийн тулд ПГУ тавих бүрдээ *B. mallei* ДНХ агуулсан эерэг хяналт болон темплатыг орлуулан ПГУ-ын зориулалттай 4 мкл ус агуулсан темплатгүй хяналтыг ашиглана.

Шинжилгээний шугаман хамаарал нь бактерийн ДНХ/урвалын 240 pg -аас 70 fg хүртэлх төвшрүүлгийг хамарч байхаар тогтоов. Тус бүр нь найман хэмжилт бүхий гурван удаагийн шинжилгээгээр тогтвортой илрэх ёстой ДНХ-ийн хамгийн бага хэмжээ нь 60 fg ДНХ байх эсхүл дөрвөн геномтой тэнцүү (95% магадлалтай) байвал илрүүлэлтийн хамгийн бага хязгаар гэж тодорхойлов. *fliP* ПГУ-ын 35 pg ДНХ/урвалын шинжилгээ-доторх хэлбэлзэл 0.68% (Ct хэмжээг үндэслэн), 875 fg-д 1.34% байна. *fliP* ПГУ-ын 35 pg ДНХ/урвалын шинжилгээ-хоорондын хэлбэлзэл 0.89% (Ct хэмжээг үндэслэн), 875 fg-д 2.76% байна.

Эдүгээ бодит цагийн ПГУ-ын шинжилгээний эерэг дүнгээр бактерийн өсгөвөрт *Burkholderia mallei*’-гэсэн оношийг, эмнэл зүйн тохиолдлыг үндэслэсэн “ям” гэсэн оношийг баталгаажуулж байна. Гэвч цаашид үргэлжлэх генетик хувьслын үр дүнд *B. mallei*-н нэг ижил генотипийн өсгөвөрт өөрчлөлт гарч дээрх стандарт ПГУ-аар илрэхгүй байж болохыг анхаарах хэрэгтэй. Эмнэл зүйн сорьцод хийх ПГУ-ын мэдрэх чанар тодорхойгүй байна. Иймд сөрөг үр дүн үзүүлэх нь тухайн сорьцод *B. mallei* байхгүй гэдгийн нотолгоо болж чадахгүй ба түүнийг оношилгооны бусад аргаар баталгаажуулна.

2.4. Бусад арга

ПГУ-нуклеин хүчлийн таслагдах хэрчмийн уртыг харьцуулах арга (Tanpiboonsak нар, 2004), бактерийн өсгөврийг гель электрофорезоор харьцуулах арга (Chantratita нар, 2006), бактерийн өсгөврөөс рибосомын РНХ-г харьцуулах арга (Harvey & Minter, 2005), мультилокус дараалал тогтоох арга (MLST) (Godoy нар, 2003) эсхүл ДНХ-ийн богино дарааллын олон удаагийн давтагдлыг илрүүлэх арга (Currie нар, 2009) зэрэг молекул түвшний хэвшил тодорхойлох арга нь зөвхөн тусгайлан тоноглогдсон лабораторид хэрэглэх боломжтой. Молекул түвшинд хэвшил тодорхойлох болон геномын бүрэн дараалал тогтоох арга нь ирээдүйд хэрэг болно (Gilling нар, 2014; McRobb нар, 2015; Price нар, 2015).

3. Ийлдэс судлалын арга

3.1. Адуу, илжиг, луусыг шинжлэх хавсарга холбох урвал

ХХУ нь ям өвчний оношилгоонд олон жил хэрэглэгдэж байгаа ийлдэс судлалын үр дүн сайтай арга юм. Халдвар авснаас хойш долоо хоногийн дараа энэ аргаар шинжлэхэд эерэг дүн үзүүлэхээс гадна даамжирч ужгирсан ям өвчний архаг тохиолдлыг ч ийлдэс шинжлэх замаар илрүүлнэ. Энэ аргын өвөрмөц ба мэдрэх чанар нь хэрэглэж байгаа эсрэгтөрөгчөөс хамаарах учраас ХХУ-ын эсрэгтөрөгч, хавсарга, цус задлуур бүгдийнх нь найрлагын чанарыг маш сайн шалгах нь энэ аргыг зөв хэрэглэхэд чухал ач холбогдолтой (Elschner нар, 2011; Khan нар, 2011). Гэвч саяхнаас ХХУ-ын өвөрмөц чанарыг эргэж харах болов (Neubauer нар, 2005). Адуу, луус, тэмээнд ХХУ хэрэглэх арга баталгаажсан, харин илжигт хэрэглэхдээ онцгой анхаарал тавьж буруу онош тавихаас зайлсхийнэ.

3.1.1. Эсрэгтөрөгч бэлтгэх

i) Хасах 80°C-д хадгалж байгаа *B.mallei* эх омгийн өсгөврийн нөөцөөс хонины цустай агар дээр тарьж сэргээгээд салалгүй үргэлжлэн бүрхэж ургах хүртэл нь 37°C-д 48 цаг өсгөвөрлөнө.

ii) 48 цагийн өсгөврөөс гогцоогоор (0.5 мм диаметр) авч 3% глицерин бүхий тархи-зүрхний инфузэн шөлөнд (ТЗҮШ) тарилт хийгээд 37°C-д 24 цаг инкубауцлана.

iii) Дээр дурдсан шөлөн өсгөврөөс 1 мл авч улмаар 3% глицерин бүхий 100 мл ТЗҮШ-д тарьж 37°C-д аажуухан зайлалтаар 48 цаг инкубауцлана.

iv) Колботой өсгөврийг урсгал уураар (100°C) 60 минут үйлчлэн идэвхгүйжүүлнэ.

v) Дээд талын тунгалаг шингэнийг тунгааж цэвэрхэн аваад шүүнэ. Шүүдсийг урсгал уураар дахин 1 цаг үйлчилж халаагаад 3000 эргэлт минутаар 10 минут хурилдуурдаж тунгалагшуулна.

vi) Тунгалагшсан бүтээгдэхүүнийг өтгөрүүлсэн эсрэгтөрөгч болгон бараан шилэн лонхонд савлан гэрлээс хамгаалж 4°C-д хадгална. Ингэж өтгөрүүлсэн эсрэгтөрөгч наад зах нь 10 жил тогтвортой байдаг нь тогтоогджээ.

vii) Эсрэгтөрөгчийг 0.5% фенол агуулсан физиологийн ариун уусмалаар 1/20 харьцаагаар шингэлж эсрэгтөрөгчийг хэсэглэн хуваж бэлтгэнэ. Шингэлсэн эсрэгтөрөгчийг бараан өнгийн цодон шилэнд хуваарилан хийж 4°C-д хадгална. Ажлын эцсийн шингэлэлтийг блок таньцлалтын аргаар тогтооно. ХХУ-д зориулж ажлын эцсийн шингэлэлтийг бэлтгээд урвал тавихад хэрэглэнэ.

Бэлтгэсэн эсрэгтөрөгч нь үндсэндээ липополисахарид (ЛПС)-аас бүрдэнэ. Өөр нэг хувилбар нь: ташуу глицерин-агарт үүсгэгчийг 48 цаг хүртэл ургуулаад залуу өсгөврийг физиологийн хэвийн уусмалаар угааж авна. Өсгөврийн цийдмэгийг 70°C-д 1 цаг халаагаад халуунаар боловсруулах энэ бактерийн цийдмэгийг эсрэгтөрөгч болгон ашиглана. Эсрэгтөрөгч бэлтгэх энэ аргын дутагдалтай тал нь уг эсрэгтөрөгч нь бактерийн эсийн бүх бүрэлдэхүүн хэсгийг агуулдагт оршино. Цустай агартай аяганд тарилт хийх замаар эсрэгтөрөгчийн аюулгүй чанарыг шалгаж тогтооно.

3.1.2. ХХУ тавих арга

i) Ийлдсийг 0.1% желатин агуулсан вероналын буфержүүлсэн физиологийн уусмалаар (VBSG) эсхүл желатингүй ХХУ-ын шингэлэгчээр (хавсарга холбох урвалын шингэлэгч – шахмалаар байдаг) эсхүл ХХУ-ын худалдаанд гарсан бусад бэлэн буферээр 1/5-аар шингэлнэ.

ii) Шингэлсэн ийлдсийг 58–60°C-д 30 минут идэвхгүйжүүлнэ. Адууны овогт багтах амьтнаас өөр зүйлийн амьтны ийлдсийг 63°C-д 30 минут идэвхгүйжүүлнэ.

iii) Хонхор ёроол бүхий 96 үүртэй бичил таньцын хавтанд вероналын буфер эсхүл худалдаанд гарсан ХХУ-ын бусад буферээр ийлдсэнд хоёр дахин шингэлэлт хийнэ.

iv) Усан гахайд бэлтгэсэн хавсаргыг сонгосон буферээр шингэлээд хавсарга задлуурын нэгж – 50% (CH50)-ээс 4 эсхүл 5 -ыг хэрэглэнэ.

v) Хавтангийн үүрэнд ийлдэс, хавсарга, эсрэгтөрөгчийг хольж 37°C-д 1 цаг байлгана. 4°C-д хонуут байлгаж бас болно.

vi) Хонины угааж мэдрэгжүүлсэн улаан эсийн 2-3% цийдмэгийг нэмнэ.

vii) Хавтанг 37°C-д 45 минут байлгаад дараа нь 600 ***g*** -д 5 минут хурилдуурдана.

Хэрэв худалдаанд гарсан бэлэн хавсарга, ХХУ-д хэрэглэх бэлэн урвалж хэрэглэх бол үйлдвэрлэгчийн зааврыг мөрдөнө.

Шинжилгээний нөхцөлийг шалгахад хэрэглэх хяналтын урвалж:

i) Эерэг хяналт: эерэг урвал үзүүлсэн хяналтын ийлдэс;

ii) Сөрөг хяналт: сөрөг урвал үзүүлсэн хяналтын ийлдэс;

iii) Хавсаргын эсрэг хяналт (ийлдсийн хяналт): шингэлэгч + идэвхгүйжүүлсэн шинжлэх ийлдэс + хавсарга+ цус задлах систем;

iv) Эсрэгтөрөгчийн хяналт: шингэлэгч + эсрэгтөрөгч + хавсарга+ цус задлах систем;

v) Цус задлах тогтолцооны хяналт: шингэлэгч + цус задлах систем;

vi) Хавсаргын хяналт: шингэлэгч + хавсаргын таньцлалт + эсрэгтөрөгч + цус задлах систем.

3.1.3. Үр дүнг унших

Хавсаргын эсрэг нөлөө байхгүй болохыг ийлдэс бүрд шалгаад хавсаргын эсрэг нөлөөтэй ийлдэс гарвал түүнийг шинжлэхгүй үлдээнэ. Хэрэв дээж 1/5 шингэлэлтэд цус задрал 100% байвал сөрөг, 25–75% байвал сэжигтэй, цус задрал байхгүй (100% холбогдсон) бол эерэг гэж үзнэ. Хуурамч эерэг дүн гарч болох ба эерэг урвалтай амьтны урвал хэдэн сар үргэлжилж болно. Үүнээс гадна *B. pseudomallei* ба *B. mallei* солбицох урвал өгч ийлдэс судлалын аргаар ялгаварлаж чадахгүйд хүрдэг (Neubauer нар, 1997). Адууны овгийн, ям өвчин тусаагүй эрүүл амьтанд арьсны ямлуур тарьсны дараа янз бүрийн хугацаанд ХХУ-аар хуурамч эерэг дүн үзүүлж болно.

3.2. Энзим холбоост дархлааны урвал

Ям өвчнийг ийлдэс судлалаар оношлоход хавтан эсхүл мембранд суурилсан ЕЛИЗА аргын аль алиныг хэрэглэж байгаа боловч нэг нь ч *B. mallei* and *B. pseudomallei* -г хооронд нь ялгах боломжгүй. Авидин-биотин бүхий дот ЕЛИЗА-г хөгжүүлсэн боловч хараахан баталгаажаагүй, өргөн хүрээнд нэвтрээгүй байна. Энэ ЕЛИЗА-д хэрэглэж байгаа эсрэгтөрөгч нь халуунаар идэвхгүйжүүлсэн, өтгөрүүлж улмаар цэвэршүүлсэн бактерийн өсгөвөр юм. Туузан нитроцеллюоз дээр эсрэгтөрөгчийг толбо хэлбэрээр бэхэлнэ. Толбо хэлбэрийн эсрэгтөрөгч, урьдчилан саатуулалт хийсэн тууз ашиглан хийдэг энэ урвалд ойролцоогоор 1 цаг зарцуулна. Ям өвчнийг ийлдэс судлалаар оношлоход шууд бус ЕЛИЗА төдийлөн ач холбогдолгүй нь харагджээ (Sprague нар, 2009). Рекомбинант *Burkholderia* эсийн доторх хөдөлгөөнт А уураг (rBimA) суурилсан шууд бус ЕЛИЗА нь мэдрэх чанараар 100%, өвөрмөц чанар нь 98.88% байх найдвар төрүүлж байна (Kumar нар, 2011). Түүнчлэн Пал нар (2012) ЕЛИЗА арга боловсруулахдаа рекомбинант ууураг ашиглажээ. Үүнээс гадна LPS-ын эсрэг ижил гарлын эсрэгбие ашиглаад өрсөлдөөнт ЕЛИЗА боловсруулсан нь ХХУ-тай адил үр дүн үзүүлжээ (Katz нар, 2000). Энэхүү өрсөлдөөнт ЕЛИЗА-г голдуу Ойрх Дорнодоос гаралтай адууны ийлдсийн цуглуулгыг шинжлэхэд ашиглажээ (Sprague нар, 2009). *B. mallei*-ын LPS-ын эсрэг ижил гарлын эсрэгбиеийг тухайн бүс нутгийн *B. mallei* өсгөврөөс бэлтгэсэн эсрэгтөрөгчтэй хамт ашиглан саяхан боловсруулсан өрсөлдөөнт ЕЛИЗА цомог худалдаанд гарсан байна. Энэ цомог ям өвчний байгалийн халдварыг ялган

таньж тогтоохдоо ХХУ-аас мэдрэх чанараар өндөр байжээ. Өрсөлдөөнт ЕЛИЗА-аар илжигний ийлдэс шинжилж үнэлгээ хийсэн ба зориудын халдвар хийсэн нөхцөлд туршихад найдвартай үр дүн үзүүлжээ. *B. mallei* - эсрэгтөрөгчийн бүрдэлд өвөрмөц чанартай ижил гарлын эсрэгбие гаргах ажлыг тасралтгүй хөгжүүлж байгаа нь импортын хорио цээрт оруулсан адууны шинжилгээний үр дүнгийн эргэлзээг тайлахад тус болох илүү өвөрмөц ЕЛИЗА-г боловсруулах боломж олгож байна (Neubauer нар, 1997). Хуурамч ям өвчний тухайд мал эмнэлэгт хэрэглэхээр баталгаажсан болон худалдаанд гарсан ийлдэс судлалын аль ч арга байхгүй байна.

Дээрх шинжилгээний аль ч арга өдий хүртэл бүрэн баталгаажаагүй байна.

3.3. Иммунблотын шинжилгээний арга

Ям өвчнийг ийлдэс судлалаар оношлох иммунблотын шинжилгээний аргыг боловсруулсан боловч эерэг ийлдсийн цуглуулга дутагдалтай байсан учраас түүнийг баталгаажуулах боломжгүй байв (Katz нар, 1999). *B. mallei*-н LPS эсрэгтөрөгч ашиглан иммунблотын арга боловсруулах ажлыг саяхнаас дахин эхлэв. Энэ ажлын зорилго нь ям өвчин эндемик болоогүй нутаг оронд ХХУ-аар хуурамч эерэг дүн үзүүлсэн ийлдсийг дахин шинжлэх ХХУ-аас мэдрэх чанараар илүү арга боловсруулахад оршино (Elschner нар, 2011). Хөгжүүлж байгаа арга нь Богор, Загреб, Мухтешварын омгоос бэлтгэсэн -боловсруулаагүй эсрэгтөрөгчид (мөн ихэнх ХХУ-ын эсрэгтөрөгч найрлагын суурь болно) суурилсан байна. Эсрэгтөрөгчийг додецил натрийн сульфатын полиакриламидын гель электрофорезоор (SDS-PAGE) задлаад нитроцеллюозын мембранд шилжүүлсэн. Блот хийх тууз дээр бэхэлсэн эсрэгтөрөгчтэй урвалд орж байгаа, шинжлэх ийлдсэнд агуулагдах *B. mallei* ЛПС-ын эсрэгбиеийг тухайн амьтанд өвөрмөц коньюгат болон нитро хөх тетразол 5-бром 4-хлор 3-индолил фосфат (NBT-BCIP)-ын өнгө оруулагч нэгдлээр тодруулна. Хэрэв *B. mallei* ЛПС-ын эсрэгбиеийн толбоны байршил 20–60 kDa мужид тод харагдаж байвал иммунблотын шинжилгээний үр дүн эерэг, өнгө нь сул байвал сэжигтэй, ямар ч өнгө үзүүлээгүй бол сөрөг гэж үнэлнэ. Пакистан, Бразилийн ям өвчтэй 171 адуу, луусны ийлдэс, Германы адууны 305 сөрөг ийлдсийг шинжлэхэд ям өвчинд эерэг болон сөрөг бүх ийлдсийг зөв илрүүлсэн боловч өдий хүртэл бүрэн баталгаажуулаагүй байна. Энэ арга ям өвчнийг хуурамч ям өвчний халдвараас ялгаварлаж чадахгүй бөгөөд эерэг ийлдэсний тоо хангалтгүйгээс одоо болтол илжигт хэрэглэх талаар үнэлгээ хийгдээгүй байна. Хуурамч ям өвчний тухайд мал эмнэлэгт хэрэглэх ийлдэс судлалын ямар ч арга баталгаажаагүй байна.

3.4. Ийлдэс судлалын бусад арга

Адуу болон мэдрэмтгий бусад амьтны ям өвчнийг оношлоход хэрэглэх Роз бенгалын наалдуулах урвалыг тодорхойлсон ба энэ аргыг Орос улсад баталгаажуулжээ. Пакистанд хийсэн судалгаагаар энэ урвалын мэдрэх чанар 90%, өвөрмөц чанар 100% байжээ (Naureen нар, 2007). Хавтанд наалдуулах энэ урвалд хэрэглэх эсрэгтөрөгч нь халуунаар идэвхгүйжүүлсэн бактерийн цийдмэг бөгөөд түүнд Бенгалын ягаан будгаар өнгө оруулж бэлтгэнэ.

Ям өвчинтэй тэмцэх арга хэмжээг хэрэгжүүлэхэд наалдуулах болон тунадасжуулах урвал тохиролын хувьд шаардлага хангадаггүй. Архаг ям өвчтэй болон ядарч сульдсан адуунд эдгээр урвал сөрөг эсхүл дүгнэлт хийх боломжгүй дүн өгнө.

Хуурамч ям өвчний тухайд ийлдэс судлалын мал эмнэлгийн хэрэглэх ямар ч арга баталгаажаагүй байна.

4. Эсийн дархлааны шинжилгээ

4.1. Ямлууpаар шинжлэх

Худалдаанд гарсан цэвэршүүлсэн уургийн гаралтай ямлуур нь халааж идэвхгүйжүүлсэн *B. mallei*-ний уургийн усанд уусдаг хэсэг юм. Ямлуур бэлтгэх арга болон олдцын талаар дор өгүүлэх С хэсгээс харна уу. Малын тавлаг байдлыг хангах үүднээс тус сорилыг хэрэглэхийг ерөнхийдөө зөвлөдөггүй боловч ям өвчин эндемик болсон алслагдсан нутагт сорьц тээвэрлэх эсхүл зохих ёсоор хөргөх боломжгүй нөхцөлд хэрэглэхэд тустай арга юм. Халдвар авсан адууны ямлуурт хэт мэдрэмтгий байдлаас урвалын дүн нь шалтгаална. Ямлуур нь эмнэл зүйн хэлбэрээр өвчлөөд удсан адуу, цочмог хэлбэрээр өвчилсөн илжиг, луусанд эргэлзээтэй дүн үзүүлэх тул оношилгооны нэмэлт арга шаардагдана.

Ямлуурыг битүү туурайтан амьтны нүдний зовхины арьсан дор тарих нь ям өвчний халдварыг илрүүлэх хамгийн мэдрэмтгий, найдвартай, өвөрмөц сорил бөгөөд бусад олон аргыг орлоно. Цэвэршүүлсэн уургийн гаралтай өтгөрүүлсэн ямлууraас 0.1 мл-ийг нүдний доод зовхины арьсан дор тарьж сорилын дүнг 24 ба 48 дахь цагт уншина. Эерэг урвалтай адууны нүдний зовхи илт хавагнасан байхаас гадна нүдний аяганы дотор булан эсхүл эвэрлэг бүрхэвчээс идээрхэг гоождос гарсан байж болно. Эдгээрийг ихэвчлэн халуурах шинж тэмдэг дагалдана. Сөрөг урвалтай үед хариу урвал үзүүлэхгүй эсхүл зөвхөн доод зовхи үл мэдэг хавагнасан байна.

Хуурамч ямтай адууны овгийн амьтанд цэвэршүүлсэн уурагт ямлуур хэрэглэсэн баримт байхгүй.

B. ВАКЦИН, ОНОШИЛГООНЫ БИО БЭЛДМЭЛД ТАВИХ ШААРДЛАГА

Ям болон хуурамч ям өвчинд зориулсан вакцин байхгүй.

Цэвэршүүлсэн уургийн гаралтай (ЦУГ) хийсэн ямлуур худалдаанд бий[2]. ЦУГ ямлуур үйлдвэрлэхэд тавих шаардлагыг дор тайлбарлав.

1. Эх омгийн менежмент

ЦУГ ямлуур үйлдвэрлэхэд *Burkholderia mallei*-ийн гурван омог буюу Богор (Индонез гаралтай) омог, Мухтешвар (Энэтхэг гаралтай) омог, Загреб (Югослав гаралтай) омгийг ашиглаж байна. Эх материалыг хөлдөөн хатаасан өсгөвөр байдлаар хадгална. Өсгөврөөс глицеринтэй агарт тарьж 37°C-д 1–2 хоног өсгөвөрлөөд дэд өсгөвөр гарган авна. Хоруу чанар, эсрэгтөрөгч чанарыг хадгалах үүднээс усан гахайд зорчуулна.

2. Үйлдвэрлэл

Дорсет-Хэнлэин тэжээлт орчныг микроэлемент нэмж баяжуулаад ЦУГ ямлуур бэлтгэхэд ашиглана. Шингэн тэжээлт орчинд глицеринтэй агарт өсгөвөрлөсөн *B. mallei*-н өтгөн давслаг цийдмэгээс тарилт хийнэ. Үйлдвэрлэлийн энэ орчныг 37°C-д 10 долоо хоног орчим байлгана. Дараа нь Кохын ариутгагчид хийж 3 цаг ууraар үйлчлүүлэн бактерийг үхүүлнэ. Шингэнийг зулмал хөвөнгөөр шүүж бактерийн үлдэгдэл хэсгийг авна. Үлдсэн булингартай шингэнийг мембран шүүрээр шүүж тунгалагшуулаад 40%-ийн гурван хлорт цууны хүчил нэг хэсгийг 9 хэсэг өсгөврийн шүүдэс дээр нэмнэ. Холимгийг хонуут байлгахад цайвар хүрнээс сааралдуу өнгийн тунадас сууна.

Дээд шингэн хэсгийг тунгааж аваад устгана. Тунадсыг 2500 *g*-д 15 минут хурилдуурдаад тунадасны үеийг pH 3 бүхий 5% NaCl уусмалаар гурав түүнээс дээш удаа угааж pH-ийг нь 2.7 болгоно. Угаасан тунадсыг маш бага хэмжээний шүлтлэг уусгагчаар зайлж уусгана. Үүсэх шингэн хар бараан өнгөтэй, pH нь 6.7 болсон байна. Өтгөн ямлуурыг дахин хурилдуурдаад дээд шингэнийг адил хэмжээний глюкозын буферээр шингэлнэ. Энэ бэлдмэлийн уургийн агууламжийг Кьельдалийн аргаар тодорхойлоод жижиг цодонд хуваж хийсний дараа хөлдөөн хатаана.

3. Үйлдвэрлэлийн явцын шалгалт

Тогтмол дулаанд байлгах явцад шилэн сав дахь агуулагдахуунд аливаа бохирдол үүссэн эсэхийг тогтмол шалгаж сэжиг илэрвэл тэр савны агуулагдахууныг устгана. *B. mallei* өсгөврийн ердийн ургалт бүүдгэр, тунадастай, өсгөврийн гадаргуу хотойж суух хандлагатай, тэжээлт орчны гадаргуугийн ирмэгээр бүдэгхэн улбар шар өнгийн цагариг үүссэн шинжтэй байна.

4. Цувралын шалгалт

ЦУГ ямлуурын цуврал бүрийг ариун чанар, аюулгүй чанар, хадгалааслагч, уургийн агууламж, идэвхийг шалгана. Ариун чанарыг Европын фармакопеин зааварчилгааны дагуу явуулна.

Аюулгүй чанарыг таваас арав хүртэл толгой эрүүл адууны зовхины арьсан дор ямлуур тарьж шалгана. Сорилын дүнд ихэнх адуунд бараг үл мэдэгдэм, түргэн арилах хаван үүсэх ба нүдний эвэрлэг бүрхүүлээс ямар нэг гоождос гарахгүй.

[2] Central Veterinary Control and Research Institute, 06020 Etlik, Ankara, Turkey; Pasteur Institute, Bucharest, Romania, Calea Giulesti 333, Cod:060269, Sector 6 *aprovizionare@pasteur.ro*

Фенол агуулсан хадгалааслагч бэлдмэл дэх фенол 5%-иас хэтрэхгүй байх ёстой. Уургийн агууламж 0.95 мг/мл-ээс багагүй, 1.05 мг/мл-ээс ихгүй байна.

Усан гахай, адуунд идэвхийг шалгана. Халуунаар үйлчилж үхүүлсэн *B. mallei*-ийн парафины тосон хүчлүүрт бэлтгэсэн өтгөн цийдмэгийг туршилтын амьтны арьсан дор тарьж мэдрэгжүүлнэ. Адууны оронд үхэр ашиглаж болно. Үйлдвэрлэсэн цувралаас амьтанд арьсан дор 0.1 мл тунгаар тарьж стандарт ЦУГ ямлуур тарьсан дүнтэй санамсаргүй сонголтын аргаар харьцуулж дүгнэнэ.

Усан гахайд 24 цагийн дараа арьсны улайлттай янз бүрийн хэсгийг хэмжих, адуунд арьсны зузааралтыг штангенциркулээр хэмжинэ. Үр дүнг харьцуулах хэмжилтийн стандарт арга ашиглан статистикийн аргаар үнэлнэ.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

CHANTRATITA N., VESARATCHAVEST M., WUTHIEKANUN V., TIYAWISUTSRI R., ULZIITOGTOKH T., AKCAY E., DAY N.P. & PEACOCK S.J. (2006). Pulsed-field gel electrophoresis as a discriminatory typing technique for the biothreat agent *Burkholderia mallei*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **74**, 345–347.

CUNNINGHAM S.A. & PATEL R. (2013). Importance of using Bruker's security-relevant library for Biotyper identification of *Burkholderia pseudomallei, Brucella* species, and *Francisella tularensis*. *J. Clin. Microbiol.*, **51**, 1639–1640.

CURRIE B.J. (2015). Melioidosis: evolving concepts in epidemiology, pathogenesis, and treatment. *Semin. Respir. Crit. Care Med*., **36**, 111–1125.

CURRIE B.J., HASLEM A., PEARSON T., HORNSTRA H., LEADEM B., MAYO M., GAL D., WARD L., GODOY D., SPRATT B.G., KEIM P. (2009). Identification of melioidosis outbreak by multilocus variable number tandem repeat analysis. *Emerg Infect Dis*., **15**, 169–174.

DANCE D.A., WUTHIEKANUN V., NAIGOWIT P. & WHITE N.J. (1989). Identification of *Pseudomonas pseudomallei* in clinical practice: use of simple screening tests and API 20NE. *J. Clin. Pathol.,* **42**, 645–648.

DODIN A. (1992). Naissance, vie... et assoupissement d'une maladie infectieuse: la melioidose. *Ann. Inst. Pasteur,* **3**, 267–270.

ELSCHNER M.C., SCHOLZ H.C., MELZER F., SAQIB M., MARTEN P., RASSBACH A., DIETZSCH M., SCHMOOCK G., DE ASSIS SANTANA V.L., DE SOUZA M.M., WERNERY R., WERNERY U. & NEUBAUER H. (2011). Use of a Western blot technique for the serodiagnosis of glanders. *BMC Vet. Res.*, **7**, 4.

GLASS M.B., BEESLEY C.A., WILKINS P.P. & HOFFMASTER A.R. (2009). Comparison of four selective media for the isolation of *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei*. *Am. J. Trop. Med. Hyg*., **80**, 1023–1028.

GLASS M.B. & POPOVIC T. (2005). Preliminary evaluation of the API 20NE and RapID NF plus systems for rapid identification of *Burkholderia pseudomallei* and *B. mallei*. *J. Clin. Microbiol*., **43**, 479–483.

GILLING D.H., LUNA V.A. & PFLUGRADT C. (2014). The identification and differentiation between *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei* using one gene pyrosequencing. *Int. Sch. Res. Notices*, October 2, 109583.

GODOY D., RANDLE G., SIMPSON A.J., AANENSEN D.M., PITT T.L., KINOSHITA R. & SPRATT B.G. (2003). Multilocus sequence typing and evolutionary relationships among the causative agents of melioidosis and glanders, *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia mallei*. *J. Clin. Microbiol*., **41**, 2068–2079.

HARVEY S.P. & MINTER J.M. (2005). Ribotyping of *Burkholderia mallei* isolates. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, **44**, 91–97.

HEMARAJATA P., BAGHDADI J.D., HOFFMAN R. & HUMPHRIES R.M. (2016). *Burkholderia pseudomallei:* challenges for the clinical microbiology laboratory. *J. Clin. Microbiol.,* **54**, 2866–2873.

INGLIS T.J., MERRITT A., CHIDLOW G., ARAVENA-ROMAN M. & HARNETT G. (2005). Comparison of diagnostic laboratory methods for identification of *Burkholderia pseudomallei*. *J. Clin. Microbiol.,* **43**, 2201–2206.

KARGER A., STOCK R., ZILLER M., ELSCHNER M.C., BETTIN B., MELZER F., MAIER T., KOSTRZEWA M., SCHOLZ H.C., NEUBAUER H. & TOMASO H. (2012). Rapid identification of *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei* by intact cell matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometric typing. *BMC Microbiol.,* **12**, 229.

KATZ J.B., CHIEVES., HENNAGER S.G., NICHOLSON J.M., FISHER T.A. & BYERS P.E. (1999). Serodiagnosis of equine piroplasmosis, dourine and glanders using an arrayed immunoblotting method. *J. Vet. Diagn. Invest*., **11**, 292– 294.

KATZ J., DEWALD R. & NICHOLSON J. (2000). Procedurally similar competitive immunoassay systems for the serodiagnosis of *Babesia equi, Babesia caballi, Trypanosoma equiperdum*, *and Burkholderia mallei* infection in horses. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **12**, 46–50.

KHAN I., WIELER L.H., MELZER F., ELSCHNER M.C., MUHAMMAD G., ALI S., SPRAGUE L.D., NEUBAUER H. & SAQIB M. (2013). Glanders in animals: a review on epidemiology, clinical presentation, diagnosis and countermeasures. *Transbound. Emerg. Dis*., **60**, 204–221.

KHAN I., WIELER L.H., MELZER F., GWIDA M., SANTANA V.L., DE SOUZA M.M., SAQIB M., ELSCHNER M.C. & NEUBAUER H. (2011). Comparative evaluation of three commercially available complement fixation test antigens for the diagnosis of glanders. *Vet. Rec*., **169**, 495.

KINGSLEY P.V., ARUNKUMAR G., TIPRE M., LEADER M. & SATHIAKUMAR N. (2016a). Pitfalls and optimal approaches to diagnose melioidosis. *Asian Pac. J. Trop. Med.,* **9**, 515–524.

KINGSLEY P.V., LEADER M., NAGODAWITHANA N.S., TIPRE M. & SATHIAKUMAR N. (2016b). Melioidosis in Malaysia: A review of case reports. *PLoS Negl. Trop. Dis.,* **10**, e0005182.

KUMAR S., MALIK P., VERMA S.K., PAL V., GAUTAM V., MUKHOPADHYAY C. & RAI G.P. (2011). Use of a recombinant *Burkholderia* intracellular motility a protein for immunodiagnosis of glanders. *Clin. Vaccine Immunol.,* **18**, 1456– 1461.

LAU S.K., SRIDHAR S., HO C.C., CHOW W.N., LEE K.C., LAM C.W., YUEN K.Y. & WOO P.C. (2015). Laboratory diagnosis of melioidosis: past, present and future. *Exp. Biol. Med*. (Maywood), **240**, 742–751.

LIMMATHUROTSAKUL D., WUTHIEKANUN V., AMORNCHAI P., WONGSUWAN G., DAY N.P. & PEACOCK S.J. (2012). Effectiveness of a simplified method for isolation of *Burkholderia pseudomallei* from soil. *Appl. Environ, Microbiol.,* **78**, 876–877.

LIMMATHUROTSAKUL D., GOLDING N., DANCE D.A., MESSINA J.P., PIGOTT D.M., MOYES C.L., ROLIM D.B., BERTHERAT E., DAY N.P., PEACOCK S.J. & HAY S.I. (2016). Predicted global distribution of *Burkholderia pseudomallei* and burden of melioidosis. *Nat. Microbiol*., **1**, 15008.

LOWE W., MARCH J.K., BUNNELL A.J., O'NEILL K.L. & ROBISON R.A. (2014). PCR-based Methodologies Used to Detect and Differentiate the *Burkholderia pseudomallei* complex: *B. pseudomallei, B. mallei*, and *B. thailandensis. Curr. Issues Mol. Biol.*, **16**, 23–54. Epub 2013 Aug 22.

MCROBB E., SAROVICH D.S., PRICE E.P., KAESTLI M., MAYO M., KEIM P. & CURRIE B.J. (2015). Tracing melioidosis back to the source: using whole-genome sequencing to investigate an outbreak originating from a contaminated domestic water supply. *J. Clin. Microbiol*., **53**, 1144–1148.

NAUREEN A., SAQIB M., MUHAMMAD G., HUSSAIN M.H. & ASI M.N. (2007). Comparative evaluation of Rose Bengal plate agglutination test, mallein test, and some conventional serological tests for diagnosis of equine glanders. *J. Vet. Diagn. Invest.,* **19**, 362–367.

NEUBAUER H., FINKE E.-J. & MEYER H. (1997). Human glanders. *International Review of the Armed Forces Medical Services*, **LXX**, 10/11/12, 258–265.

NEUBAUER H., SPRAGUE L.D., ZACHARIA R., TOMASO H., AL DAHOUK S., WERNERY R., WERNERY U. & SCHOLZ H.C. (2005). Serodiagnosis of *Burkholderia mallei* infections in horses: state-of-the-art and perspectives. *J. Vet. Med.* [*B*] *Infect. Dis. Vet. Public Health*., **52**, 201–205.

OBERSTELLER S., NEUBAUER H., HAGEN R.M. & FRICKMANN H. (2016). Comparison of five commercial nucleic acid extraction kits for the PCR-based detection of *Burkholderia pseudomallei* DNA in formalin-fixed, paraffin- embedded tissues. *Eur. J. Microbiol. Immunol*. (Bp), **6**, 244–252.

O'CONNELL H.A., ROSE L.J., SHAMS A., BRADLEY M., ARDUINO M.J. & RICE E.W. (2009). Variability of *Burkholderia pseudomallei* strain sensitivities to chlorine disinfection. *Appl. Environ. Microbiol.,* **75**, 5405–5409.

PAL V., KUMAR S., MALIK P. & RAI G.P. (2012). Evaluation of recombinant proteins of *Burkholderia mallei* for serodiagnosis of glanders. *Clin. Vaccine Immunol*., **19**, 1193–1198.

PEACOCK S.J., CHIENG G., CHENG A.C., DANCE D.A., AMORNCHAI P., WONGSUVAN G., TEERAWATTANASOOK N., CHIERAKUL W., DAY N.P. & WUTHIEKANUN V. (2005). Comparison of Ashdown's medium, *Burkholderia cepacia* medium, and *Burkholderia pseudomallei* selective agar for clinical isolation of *Burkholderia pseudomallei*. *J. Clin. Microbiol.*, **43**, 5359–5361.

PRAKASH A., THAVASELVAM D., KUMAR A., KUMAR A., ARORA S., TIWARI S., BARUA A. & SATHYASEELAN K. (2014). Isolation, identification and characterization of *Burkholderia pseudomallei* from soil of coastal region of India. *Springerplus*, **3**, 438.

PRICE E.P., SAROVICH D.S., VIBERG L., MAYO M., KAESTLI M., TUANYOK A., FOSTER J.T.,KEIM P., PEARSON T. & CURRIE B.J. (2015). Whole-genome sequencing of *Burkholderia pseudomallei* isolates from an unusual melioidosis case identifies a polyclonal infection with the same multilocus sequence type. *J. Clin. Microbiol*., **53**, 282–286.

PUMPUANG A., CHANTRATITA N., WIKRAIPHAT C., SAIPROM N., DAY N.P., PEACOCK S.J. & WUTHIEKANUN V. (2011). Survival of *Burkholderia pseudomallei* in distilled water for 16 years. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.,* **105**, 598– 600.

ROESNITA B., TAY S.T., PUTHUCHEARY S.D. & SAM I.C. (2012). Diagnostic use of *Burkholderia pseudomallei* selective media in a low prevalence setting. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.,* **106**, 131–133.

RUSH C.M. & THOMAS A.D. (2012). Melioidosis in animals. *In:* Melioidosis – A Century of Observations and Research. Ketheesan N. Ed. Elsevier BV, Amsterdam, the Netherlands, 312–336.

SCHOLZ H.C., JOSEPH M., TOMASO H., AL DAHOUK S., WITTE A., KINNE J., HAGEN R.M., WERNERY R., WERNERY U. & NEUBAUER H. (2006). Detection of the reemerging agent *Burkholderia mallei* in a recent outbreak of glanders in the United Arab Emirates by a newly developed fliP-based polymerase chain reaction assay. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.,* **54**, 241–247.

SPRAGUE L.D. & NEUBAUER H. (2004). A review on animal melioidosis with special respect to epizootiology, clinical presentation and diagnostics. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health*, **51**, 305–320.

SPRAGUE L.D., ZACHARIAH R., NEUBAUER H., WERNERY R., JOSEPH M., SCHOLZ H.C. & WERNERY U. (2009) Prevalence-dependent use of serological tests for diagnosing glanders in horses. *BMC Vet. Res*., **5**, 32.

ST. GEORGIEV V. (2008). Glanders. *In:* National Institute of Allergy and Infectious Diseases, NIH: Impact on Global Health. Humana Press (Part of Springer Science+Business Media), New York, USA, 239–241.

TANPIBOONSAK S., PAEMANEE A., BUNYARATAPHAN S. & TUNGPRADABKUL S. (2004). PCR-RFLP based differentiation of *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei*. *Mol. Cell. Probes*., **18**, 97–101.

TOMASO H., SCHOLZ H.C., AL DAHOUK S., EICKHOFF M., TREU T.M., WERNERY R., WERNERY U. & NEUBAUER H. (2006). Development of a 5'-nuclease real-time PCR assay targeting fliP for the rapid identification of *Burkholderia mallei* in clinical samples. *Clin. Chem*., **52**, 307–310.

TRUNG T.T., HETZER A., TOPFSTEDT E., GÖHLER A., LIMMATHUROTSAKUL D., WUTHIEKANUN V., PEACOCK S.J. & STEINMETZ I. (2011). Improved culture-based detection and quantification of *Burkholderia pseudomallei* from soil. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg*., **105**, 346–351.

WERNERY U. (2009). Glanders. *In:* Infectious Diseases of the Horse, Mair T.S. & Hutchinson R.E., eds. Equine Veterinary Journal Ltd, Cambridgeshire, UK, 253–260.

WITTIG M.B., WOHLSEIN P., HAGEN R.M., AL DAHOUK S., TOMASO H., SCHOLZ H.C., NIKOLAOU K., WERNERY R., WERNERY U., KINNE J., ELSCHNER M. & NEUBAUER H. (2006). Glanders – a comprehensive review. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.,* **113**, 323–230.

XIE X., XU F., XU B., DUAN X. & GONG R. (1980). A New Selective Medium for Isolation of Glanders Bacilli. Collected papers of veterinary research. Control Institute of Veterinary Biologics, Ministry of Agriculture, Peking, China (People's Rep. of), **6**, 83–90.

YABUUCHI E., KOSAKO Y., OYAIZU H., YANO I., HOTTA H., HASHIMOTO Y., EZAKI T. & ARAKAWA M. (1992). Proposal of *Burkholderia* gen. nov. and transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homology group II to the new genus with the type species *Burkholderia cepacia* (Palleroni and Holmes 1981) comb. nov. *Microbiol. Immunol*., **36**, 1251–1275.

ZONG Z., WANG X., DENG Y. & ZHOU T. (2012). Misidentification of *Burkholderia pseudomallei* as *Burkholderia* cepacia by the VITEK 2 system. *J. Med. Microbiol*., **61**, 1483–1484.

*
* *

ЖИЧ: Ям өвчнийг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори бий.
(Дэлгэрэнгүй мэдээллийг ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас авна уу:
https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

Ям өвчнийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудтай холбогдож авна уу.

ЖИЧ: 1991 ОНД АНХ, 2018 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

БҮЛЭГ 40 (3.8.2)

ЯМААНЫ ҮЕ/ТАРХИНЫ ҮРЭВСЭЛ БА МАЕДИ-ВИСНА (БОГ МАЛЫН ЛЕНТИВИРУСИЙН ХАЛДВАР)

А. УДИРТГАЛ

Ямааны үе/тархины үрэвсэл (ЯҮТҮ) болон хонины маеди-висна өвчин (МаВиӨ) нь хоорондоо ойр хамааралтай лентивирусүүдээр үүсдэг, вирусийн орогномол халдвар юм (Peterhans нар, 2004). Маеди-висна өвчнийг бас хонины уушгины давшингуй явцтай үрэвсэл (ОРР) гэж нэрлэнэ. Хонинд ЯҮТҮ-ийг, ямаанд МаВиӨ-ийг зориудаар халдварлуулан үүсгэж болно. Үүнээс гадна МаВиӨ-ий вирус болон ЯҮТҮ-ийн вирус (ЯҮТҮВ)-ийн нуклеотидийн дарааллын түүхэн хөгжлийн харьцуулсан дүн шинжилгээгээр тухайн вирус хонь болон ямааны хооронд буюу амьтны зүйл-хооронд солбицон дамжилт байгаа болон энэ нь эпидемиологийн ач холбогдолтой болохын тодорхой илрэл бөгөөд харин вирус бусад өөр вирусээс үүссэн эсэхийн тодорхой нотолгоогүй байна (Shah нар, 2004a; 2004b). МаВиӨ-ий вирус болон ЯҮТҮ-ийн вирусийг өдий хүртэл хоёр өөр зүйлийн вируст ангилсан хэвээр байгаа боловч тэдгээрийг хивэгч бог малын лентвирус (ХБМЛ) гэж нэрлэгдэх удамшлын, эсрэгтөрөгчийн, биологийн шинж чанараараа ялгаатай вирусийн нэлээд томоохон бүлгийн доторх хоёр өөр генийн хэвшил (А болон В) гэж үзэх нь шинжлэх ухааны ажилтнуудын дунд ихсэж байна.

МаВиӨ болон ЯҮТҮ үүсгэгч халдварласан эзэн амьтны цусны моноцит, макрофаг эсэд насан туршид нь орогнох ба халдвар авснаас хойш үүсгэгч вирусийн эсрэгбиеийн хариу урвал ийлдэс судлалын шинжилгээгээр мэдрэгдэх хэмжээгээр үүсэх хугацаа янз бүр байна. Халдвар авсан ихэнх хонь, ямаа эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлэхгүй боловч орогномол халдвартай үлдэж вирусийг дамжуулан халдварлуулах чадвартай байна (Adams нар, 1983; Crawford нар, 1980).

Маеди-висна гэдэг нь Маеди-висна өвчний вирус (МаВиӨВ)-ээр халдварласан хонинд тодорхой илэрдэг эмнэл зүйн хоёр хам шинжийг илэрхийлсэн Исланд нэр бөгөөд “Маеди” гэдэг нь“амьсгал давчдах”-ыг хэлэх ба уушгины цулцангийн ханын давшингуй явцтай үрэвсэл, харин “висна” гэдэг нь тархи, түүний бүрхүүлд саажилт үүсгэдэг үрэвсэлтэй холбоотой “жижигрэх” эсхүл “турах” гэсэн үг юм. МаВиӨВ-ийн халдварын үед юуны өмнө уушгины цулцангийн завсрын эдийн давшингуй явцтай үрэвсэл үүсдэг бол ЯҮТҮВ-ийн халдварын үед үений гэрний эсхүл хэтэвчийн үрэвсэл бүхий олон үе хамарсан архаг үрэвслээр эхлэх эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрнэ. ЯҮТҮВ-ийн халдварын улмаас ихэвчлэн 2-6 сарын бойжилттой ишгэнд тархины үрэвсэл тохиолдох боловч 1980-аад оны эхээр анх түүнийг оношилж байсан үетэй харьцуулахад хамаагүй ховор тохиолдох болжээ. Иймд түүнийг ишгэнд тохиолдох бусад өвчний хам шинж эсхүл халдвараас ялгаварлан оношлох хэрэгтэй. Дэлэнгийн хатууралт үрэвсэл аль аль өвчний хам шинжид орно. МАВИӨВ-ийн халдварт өртсөн хонины уушгийг цээжний хөндийгөөс гаргахад авчихгүй бөгөөд хавирга дарсан ор мөр голдуу тогтсон байдаг. Уушги ба тунгалгийн зангилаа хүндэрсэн (хэвийн жин нь 2–3 дахин нэмэгдэнэ) байдаг. Уушгинд нэгэн жигд бус янз бүрийн эмгэг өөрчлөлттэй, өнгө нь хүрэн бор саарал алагласан, хатуувтар болсон байна. ЯҮТҮВ болон МаВиӨВ-ээр үүсгэгдсэн амьсгалын замын өвчний талаарх мэдээллийг Шакрабоди нар (2014) нягтлан хянаж нэгтгэсэн байна. МАВИ өвчтэй амьтны дэлэн нэлэнхий хатуурсан, тэр хавийн тунгалгийн зангилаа томорсон байж болзошгүй.

МАВИ эсхүл ЯҮТҮ өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдгийн сэжигтэй тохиолдолд эмнэл зүйн үзлэгийн дүн, үүсгэгч вирусийг илрүүлж ялган тогтоох эсхүл ийлдэс судлалын шинжилгээний дүн, шаардлагатай бол задлан шинжилгээний үеэр авсан шинжилгээнд тохирох эдийн дээжид илрүүлсэн бичил эмгэг хувирлыг хамтатган авч үзээд оношийг баталгаажуулна. Эрхтнүүдээс уушгийг уушгины цулцангийн завсрын эдийн давшингуй явцтай үрэвслийг, тархи, нурууны нугасыг тархи нугас түүний бүрхүүлийн үрэвслийг, дэлэнг дэлэнгийн хатууралт үрэвслийг, гэмтсэн үе, тэдгээрийн гэр, хэтэвчийг үений үрэвслийг, бөөрийг судасны үрэвслийг тус тус тогтоох үзлэг шинжилгээнд ашиглахад ач холбогдолтой байдаг. Эрхтнүүд дэх аль ч үрэвслийн урвалын уг шинж чанар нь адилхан бөгөөд энэ нь зарим үед лимфоид эсийн том бөөгнөрөл болон уутанцар үүсэлт бүхий завсрын эд дэх дан бөөмт эсийн урвал юм.

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Ямааны үе/тархины үрэвсэл болон Маеди-висна өвчнийг оношлох шинжилгээний арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүйг тогтоох[а]	Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох[б,в]	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх[г]	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах[д]	Халдварын тархалт тогтоох – Тандалт[е]	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох[ё]
Үүсгэгчийг ирүүлэх, ялган тогтоох						
Вирус ялгах	☐☐☐	☐☐☐	☐☐☐	☑☐☐	☐☐☐	☐☐☐
Эсрэгтөрөгч илрүүлэх	☐☐☐	☐☐☐	☐☐☐	☑☐☐	☐☐☐	☐☐☐
ПГУ	☑☐☐	☑☐☐	☑☑☐	☑☑☑	☑☑☐	☐☐☐
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
АГНТУ	☑☐☐	☑☑☐ [ж]	☑☑☐ [ж]	☑☑☐	☑☑☑	☐☐☐
ЕЛИЗА	☑☑☑	☑☑☑ [ж]	☑☑☑ [ж]	☑☑☐	☑☑☑	☐☐☐

Түлхүүр үг:
☑☑☑ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
☑☑☐ = энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
☑☐☐=маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
☐☐☐ = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй.
ПГУ = полимеразагийн гинжин урвал;
АГНТУ =Агарын гельд нэвчин тунадасжих урвал
ЕЛИЗА = энзим холбоост дархлааны урвал

а. Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 1-р хавсралтаас үзэх
б. Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 2-р хавсралтаас үзэх
в. Үүсгэгчийг ялган тогтоох, дархлааны хариу урвал ирүүлэх аргыг хамтруулан хэрэглэх нь зүйтэй.
г. Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 3-р хавсралтаас үзэх
д. Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 4-р хавсралтаас үзэх.
е. Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 5-р хавсралтаас үзэх
ё. Хивэгч бог малын лентивирусийн эсрэг вакцин байхгүй.
ж. Эхийн эсрэгбие нөлөөлөх учраас ялангуяа халааж боловсруулсан уураг сүү уг өвчин устгах зорилгоор хэрэглэсэн тохиолдолд 6 сар хүрээгүй амьтнаас авсан сорьцыг шинжлэхгүй

1. Үүсгэгчийг илрүүлэн ялган тогтоох

Үндсэндээ МАВИӨВ эсхүл ЯҮТҮВ-ийг ялган авах, шинж чанарыг тогтоох шинжилгээг оношилгооны зорилгоор тогтмол хийгээд байдаггүй. Эдгээр халдвар орогномол шинж чанартай учраас амьтанд тэдгээрийн эсрэгбие байгааг илрүүлэн тогтоож өгөх нь өвчин үүсгэгч вирусийг тээгч байгааг олж илрүүлэхэд хангалттай юм. Гэвч халдвар авснаас хойш нэлээд хожуу ийлдсийн урвал хувирдаг учир халдвар аваад удаагүй байгаа амьтан ийлдэсний сөрөг урвал үзүүлж болзошгүй.

МАВИӨВ болон ЯҮТҮВ-ийг ялган авах хоёр хувилбар байгаагийн нэг нь амьд амьтан ашиглах, хоёрдох нь задлан шинжилгээнээс эдийн сорьц авч ашиглах арга юм.

1.1. Амьд амьтнаас ялган авах

1.1.1. Маеди-висна вирус

МАВИӨ-ний вирус халдвар авсан эсийн ДНХ-д нэгдсэн провирус хэлбэрээр моноцит болон эдийн макрофагаар зөөгдөн эргэлддэг байна. Ийм учраас амьд амьтнаас вирус ялган авахын тулд захын цус эсхүл саалийн үеэр авсан (үжил үүсгэхээс болгоомжлох) сүүнээс цагаан эсийн бэлдмэл бэлтгээд эсийн өсгөвөрт илрүүлэгч болж өгдөг эсийн хамт өсгөвөрлөнө. Энэ зорилгоор хонины судаслаг сүлжээ (ХСС)-ний эсийг нийтлэг хэрэглэдэг. Эдгээр илрүүлэгч эсийг хээлийн эсхүл дөнгөж төрсөн вирусгүй хурганаас авсан эдийн суулгац бүхий анхдагч өсгөвөр

маягаар бэлтгээд шингэн азотод хадгалахад зориулан тэдгээрийн тоог 3-4 удаа зорчуулалт хийн олшруулна. Сэргээж бэлтгэсэн ХСС-ний эсийг өөр эстэй хамт 10-15 хүртэл зорчуулан өсгөвөрлөх боломжтой. Хэдийгээр эс дараа нь цааш үргэлжлэн сайн ургах боловч МАВИӨВ-д мэдрэг чанар нь буурч болзошгүй.

Цагаан эсийн бэлдмэлийг гепарин, ЭДТА, цитратын аль нэгийг хэрэглэн авсан захын цусыг 1000 *g* -д 15 минут хурилдуурдан цагаан эсийн хөвмөл байдлаар бэлтгэж болно. Эсийг соруулж аваад Хэнксийн давсны тэнцвэржүүлсэн уусмал (HBSS)-д уусган сэргээгээд хурилдуурт хөвсгөрдүү зөөлөвч ашиглах замаар минутад 400 *g* хурдаар 40 минут хурилдуурдаж цэвэршүүлнэ. Захаараа нийлсэн эсийг HBSS-д минутад 100 *g* хурдаар эргэлдүүлэн холих маягаар нэгээс хоёр удаа тус бүр 10 минут угааж эсийн сүүлийн тунашийг ойролцоогоор 106 эс/мл төвшрүүлэгтэй болгон уусган сэргээгээд эсийг 10-12 хоног Тефлон уутанд өсгөвөрлөнө. Дараа нь түүнийг ХСС-ний дан үе, угаасан, 25 см^2 талбайтай колбод бараг зайгүй битүү шахам ургасан эс дээр нэмнэ.

Мөн адилхан хурилдуурдах арга хэрэглэж цагаан эсийг сүүнээс цугларуулаад эргэлдүүлэн холих аргаар угааж дараа нь уусган сэргээгээд хамгийн сүүлд нь ХСС-ний дан үе эсийн өсгөвөр дээр нэмнэ.

Өсгөврийг 5% CO_2 бүхий агаартай нөхцөлд 37°C-д байлгаж шаардлагатай гэж үзсэн тухай бүрдээ тэжээлт орчныг солин зорчуулалт хийнэ. Өсгөврийг шалгаж, эс эмгэгшүүлэх нөлөө (ЭЭН)-г нотлон харуулахын тулд олон бөөмт нийлмэл эс үүсэхэд оролцдог, сэртэн нь хөгжиж байгаа, гэрэл хугалах чанартай од хэлбэрийн эс харагдаж байгаа эсэхийг шалгаж тогтооно. Өсгөврийг халдваргүй гэж үзэн хаяхаасаа өмнө хэдэн долоо хоног өсгөвөрлөсөн хэвээр байлгана. ЭЭН байна гэх сэжиг төрвөл бүрхүүл шил ашиглан өсгөвөрлөх өсгөврийг бэлтгэнэ. Эдгээрт бэхжүүлэлт хийгээд вирусийн эсрэгтөрөгч агуулагдаж байгаа эсэхийг дархлааны тэмдэглэгээ хийх аргаар, ихэнхдээ шууд бус флюоресцент эсрэгбиеийн эсхүл шууд бус иммун пероксидазагийн аргаар илрүүлэн нотолно. Үүнээс гадна сэжиг төрүүлэм дан үе эсийг хурилдуурдах аргаар цугларуулаад лентивирусийн хэв шинжит ямар нэг биенцэр байгаа эсэхийг гэрэл дамжуулагч электрон микроскопоор ялган тогтооход хэрэглэх бэлдмэл бэлтгэнэ. Эсийн өсгөврийн дээд талын шингэнд урвуу транскриптаза илэрвэл дээжид ретровирус байгааг илтгэнэ.

1.1.2. Ямааны үе/тархины үрэвслийн вирус

МАВИӨВ ялган авахтай адилхан зарчмаар ЯҮТҮВ-ийг ялган авна. ЯҮТҮВ-ийг анхлан үений үрэвсэлтэй ямааны үений гэрийн мембранаас авч эсийн өсгөвөрт суулгах замаар ялган авч байсан. ЯҮТҮВ-ийн халдвартай амьд ямаанаас захын цус, сүү, боломжтой бол үенээс сорж шингэнийг нь авбал цагаан эсийн бэлдмэл хийхэд хамгийн сайн тохирно. Ямааны үений гэрийн мембран (ЯҮГМ)-ы эс нь илрүүлэгч эсэд тохирно. Хэрэв ЭЭН-ий сэжиг илэрвэл вирусийн эсрэгтөрөгчийг дээр дурдсан аргаар илрүүлнэ.

1.2. Задлан шинжилгээний эдийн дээжээс вирус ялган авах

1.2.1. Ямааны үе/тархины үрэвслийн вирус болон маеди-висна өвчний вирус

Өвчний үүсгэгч байж болзошгүй гэж таамагласан уушги, үений гэрний мембран, дэлэн, дэлүү гэх мэт эрхтнээс аль болохоор шинэ байхад нь цуглуулсан дээжийг үжил үл үүсгэх аргаар ариун HBSS эсхүл эсийн өсгөврийн тэжээлт орчинд (бага бол бүр сайн) авч Петрийн аяганд хийн мэс заслын хурц хутгаар нарийн жижиглэнэ. 10-20 орчим хэрчмийг 2× бичил биетний эсрэг/мөөгөнцрийн эсрэг уусмал нэмсэн 10 мл тэжээлт орчинд (ө.х. Дульбеккогийн өөрчилсөн Ийглийн тэжээлт орчин) хийж уусган сэргээгээд 14 мл хуруу шилэнд шилжүүлэн хийж 37°C-д чийгшүүлэгчтэй, 5% CO_2 бүхий агаартай дулаан тогтоогуурт 3 цөг өсгөвөрлөнө. Тунасан хэрчмүүдийг 1× бичил биетний эсрэг/мөөгөнцрийн эсрэг уусмал нэмсэн 10 мл тэжээлт орчин болон 10% ҮХИ-д дахин уусган сэргээгээд 25 cm2 колбод шилжүүлэн хийнэ. Колбыг эдийн суулгац бүр колбын хуванцарт хананд бэхлэгдтэл 3-5 хоног огт хөдөлгөхгүй байлгана. Дан үе эс зайгүй битүү ургатал (ихэвчлэн 10–15 хоног) шинэ тэжээлт орчныг хэсэгчлэн болгоомжтой нэмэх ба дараа нь эдийн хэрчмүүдээс эс аажмаар салбарлан ургана. Эс хангалттай ургасны дараа эсийн өсгөврийг трипсинээр боловсруулж дан үе эс болон ургах боломж бүрдүүлэх ба долоо хоногийн зайтай

өсгөвөрлөнө. Зорчуулалт бүрийн явцад ЭЭН-г хялбархан шалгаж байх үүднээс эсийн өсгөврийн хос үүрэнд (ө.х. 24 үүртэй бичил хавтан) бэхжүүлэлт хийж Гимзийн будгаар будаж болох ба хэрэв вирус ургасан гэмээр ямар нэг сэжиг илэрвэл нэг ижил тэжээлт орчинд хамтад нь өсгөвөрлөх аргатай адилхан замаар өсгөвөрлөж баталгаажуулна.

Макрофагийн наалдамхай өсгөврийг уушгийг зайлж авсан материалаас (бие бүтцийн задлан шинжилгээний үеэр уушгины гуурс-цулцанг угааж авах) хялбархан гаргаж болох ба вирус байгаа эсэхийг ийлдэс судлал, электрон микроскоп, эсхүл урвуу транскриптазагийн шинжилгээгээр 1-2 долоо хоногт шалгаж болно. Дээр цагаан эсийн талаар өгүүлсэн ёсоор макрофаг, ХСС эсхүл ЯҮГМ-ны эстэй хамтруулан өсгөвөрлөх замаар вирус ялган авч болно.

1.3. Нуклейн хүчил илрүүлэх арга

Бодит цагийн ПГУ

Эмгэг үүсгэгч/ Зорилтот ген	Праймер/проб (5'–3')	Төвшрүүлэг	Мөчлөгийн үзүүлэлт[а]
Арга[б] [в]: Schaer нар (2022); Ген банкинд нэвтрэх No.: M33677			
Geno A LTR-gag	RTMVVLTRgag-F: GGG-GAC-GCC-TGA-AGT-RAG-GTA-A RTMVVLTRgag-R: YTT-GAG-CTC-RGG-GTA-YCC-CTT RTMVVLTRgag-P: FAM-CTT-TGA-GCC-TTG-CKT-CGC-CAT-GTC-T-TAMRA	900 nM 900 nM 200 nM	40 мөчлөг: 95°C/15 сек болон 60°C/60 сек
Geno B LTR-gag	RTCAELTRgag-F: CTG-RAG-GAG-TAM-GGT-AAG-TRA-CTC-TGC RTCAELTRgag-R: TTG-ATR-CAT-TTK-TCS-AKC-TCA-GGA-TAA RTCAELTRgag-P: FAM-CCG-GAG-ACT-TGC-CTC-GCC-ATG-TC-TAMRA	900 nM 900 nM 200 nM	40 мөчлөг: 95°C/15 сек болон 60°C/60 scek

[а] Дулаан сэлгэх мөчлөгийн өмнөх денатурацын шат ороогүй болно

[б] Өөрчлөлттэй праймерийг IUPAC (цэвэр болон хэрэглээний химийн ухааны олон улсын эвлэл) кодоор тэмдэглэв.

[в] Эхний энгийн ПГУ-ын дараа хоёрдахь угсраа олшруулалт хийхээр энэ аргыг санал болгосон, дэлгэрэнгүйг эш татсан бүтээлээс үзнэ үү.

Энгийн ПГУ

Эмгэг үүсгэгч/ Зорилтот ген	Праймер/проб (5'–3')	Төвшрүүлэг	Мөчлөгийн үзүүлэлт[а]
Арга 1: Extramiana нар (2002); Ген банканд нэвтрэх No.: M10608, ампликоны хэмжээ: 291[bp]			
SRLV-LTR	LTRs: TGA-CAC-AGC-AAA-TGT-AAC-CGC-AAG LTRa: CCA-CGT-TGG-GCG-CCA-GCT-GCG-AGA	0.5 µM 0.5 µM	50 мөчлөг: 94°C/30 сек болон 70°C/90 сек

[а] Дулаан сэлгэх мөчлөгийн өмнөх денатурацын шат ороогүй болно.

МАВИ болон ЯҮТҮ-ийн провирусийн ДНХ-г илрүүлэх, тоон үзүүлэлтээр илэрхийлж, ялган тогтоохоод стандарт полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ), улмаар Саудерн блот, *in situ* эрлийзжүүлэг, эсхүл ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг вектороор хувилан олшруулах болон/эсхүл дараалал тогтоох замаар нуклейн хүчлийг ялган таних арга хэрэглэх боломжтой (Alvarez нар, 2006; Extramiana нар, 2002). Эс болон эдэд МАВИ болон ЯҮТҮ-ийн провирусийн ДНХ-г илрүүлэх стандарт ПГУ-ыг олон лабораторид тогтмол ашигладаг болсон ба амьтны халдварын статусыг ийлдэс судлалын шинжилгээгээр эцэслэн оношилж чадахааргүй нөхцөлд түүнийг тогтоож өгөх нэмэлт шинжилгээ болгон ашиглаж байна. Бодит цагийн эсхүл тоон үзүүлэлтийн ПГУ-ыг зарим лабораторид ашиглаж байгаа ба энэ шинжилгээг халдварын статусыг тогтоохоос гадна амьтанд МАВИ болон ЯҮТҮ-ийн провирусийг тоон үзүүлэлтээр тодорхойлоход ашиглаж байна (Alvarez нар, 2006; De Regge & Cay, 2013). Үүнээс гадна ПГУ, хувилан олшруулах, дараалал тогтоох гэх мэт молекулын шинжилгээгээр тухайн улс эсхүл бүсэд өвөрмөц МАВИ болон ЯҮТҮ-ийн ямар омгууд байгаа, эдгээр нь хийх ийлдэс судлалын шинжилгээ, хэрэглэх эсрэгтөрөгчийг сонгоход хэрхэн нөлөөлж болох талаар мэдлэг ойлголтыг бий болгож байна Бог малын лентивирусийн омгуудаас МАВИ болон ЯҮТҮ-ийн провирусийн ДНХ-ийн түүхэн хувьсал өөрчлөлтөд дэлхий даяар хийсэн дүн шинжилгээний үр дүнд зарим нутаг оронд МАВИ ямаанд, харин ЯҮТҮ хонинд тус тус байгалийн замаар халдварлаж болох нь харагдсан байна (Shah нар, 2004a; 2004b).

Сүүлийн үед гогцоон холбоост изотермийн олшруулах (LAMP) аргыг ЯҮТҮ-ийн провирусийг илрүүлэхэд хэрэглэж байна (Balbin нар, 2014). Цаашид молекул оношилгооны аргыг МАВИ болон ЯҮТҮ-ийн провирусийн түүхэн хувьсал өөрчлөлтөд дүн шинжилгээ хийхийн хамт халдварын дамжин тархалтыг мөшгөхөд ашиглаж болох юм. Бог малын лентивирус генетикийн өөр өөр угсаа гаралтай учраас ПГУ-ын мэдрэх чанарт нөлөөлж болох ба вирусийн өвөрмөц генийн хэвшил/дэд хэвшлийг илрүүлэх зарим праймерийн цомгийг боловсруулаад байна (De Regge & Cay, 2013; Schaer нар, 2022).

ПГУ-ыг ашиглахад гардаг чухал асуудал бол түүний өвөрмөц чанар юм. Эзэн амьтны геномын ДНХ-ээс уг шинжилгээнд хамаарахгүй нуклеотидийн дараалтыг олшруулчих боломжтой учраас (хуурамч эерэг) шинжилгээгээр олшруулсан бүтээгдэхүүнийг нуклейн хүчлийн эрлийзжүүлэг, эндонуклеаза энзимээр таслах, нуклеотидийн дараалал тогтоох аль нэг аргаар шалгана. Нуклеотидийн дараалал тогтоох арга нь ПГУ-д суурилсан шинжилгээний аргыг баталгаажуулахад түүний өвөрмөц чанарыг хамгийн сайн тогтоож өгдөг бөгөөд ДМАЭМБ-аас зөвлөсөн арга юм (Халдварт өвчний оношилгоонд хэрэглэх биотехнологийн ололт дэвшил 2.1.2-р бүлгийг үзэх). Вирусийн өсгөврийн шинж чанарыг бүтэн геномын түвшинд тодорхойлдог тусгайлсан лабораторид нуклеотидийн дараалал тогтоох өндөр хүчин чадалтай арга ач холбогдлоо өгч байна (Colitti нар, 2019).

2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ

Хонь, ямааны лентивирусийн халдвар энд тэндгүй тохиолддог учраас эсрэгбие илрүүлэх ийлдэс судлалын шинжилгээ нь вирус тээгчийг ялган тогтооход маш их ач холбогдолтой. МАВИӨВ болон ЯҮТҮВ хоорондоо эсрэгтөрөгчийн хувьд ойр хамааралтай бөгөөд энэ нь ийлдэс судлалын зарим шинжилгээгээр өөр угсааны эсрэгбие илрүүлэхэд нөлөөлөхгүй (Knowles нар, 1994).

Бог малын лентивирусийн халдвар байгааг ийлдэс судлалын аргаар тогтооход хамгийн нийтлэг хэрэглэдэг шинжилгээнд агарын гельд нэвчин тунадасжих урвал (АГНТУ) болон энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА) орно. АГНТУ-ыг 1973 онд (Terpstra & De Boer, 1973), ЕЛИЗА урвалыг 1982 онд (Houwers нар, 1982) тус тус анхлан боловсруулж мэдээлсэн байна. АГНТУ-нь өвөрмөц, үр дүнгийн тохирц сайн, тавихад хялбар боловч үр дүнг уншихад туршлага шаардагдана. ЕЛИЗА арга нь хэмнэлттэй, үр дүнгээ тоон үзүүлэлтээр гаргадаг, автоматжуулах боломжтой учраас маш олон тооны ийлдсэнд илрүүлэх шинжилгээ хийхэд тохиромжтой. АГНТУ болон ЕЛИЗА хоёулын мэдрэх болон өвөрмөц чанар нь шинжилгээний аргад ашигласан вирусийн омог, вирусийн эсрэгтөрөгчийн бэлдмэл, шинжилгээнд жиших стандартаас хамаарна. Вестерн блотын шинжилгээний арга болон/эсхүл дархлааны тунадасжих урвал нь шинээр гарсан АГНТУ болон ЕЛИЗА аргын мэдрэх болон өвөрмөц чанарыг үнэлэхэд жишиг болгон ашиглах стандарт арга юм.

2.1. Агарын гельд нэвчин тунадасжих урвал

Ийлдэс судлалын тогтмолжсон шинжилгээнд гол ач холбогдолтой МАВИ болон ЯҮТҮ-ийн вирусийн хоёр эсрэгтөрөгчийн нэг нь SU буюу gp135 гэж нийтлэг нэрлэгдэх вирусийн гадаргуугийн дугтуйн гликопротейн, нөгөөх нь CA эсхүл p28 гэж нэрлэгдэх нуклеокапсид уураг юм. Эдгээр нь хоёул халдвар хийсэн эсийн өсгөврөөс хурааж аваад полиэтилен гликоголийн эсрэг диализэд оруулж ойролцоогоор 50 дахин өтгөрүүлсэн тэжээлт орчин бүхий эсрэгтөрөгчийн бэлдмэлд агуулагдаж байдаг. Америкийн Нэгдсэн Улсад МАВИ вирусийн WLC-1 омгийг АГНТУ-д нийтдэг хэрэглэдэг бол Канадад тэндхийн МАВИ өвчний хээрийн омгийг АГНТУ-д ашиглана (Simard & Briscoe, 1990b).

ЯҮТҮВ-ийн эсрэгбие илрүүлэх АГНТУ-ын мэдрэх чанар нь вирусийн омог болон вирусийн эсрэгтөрөгчийн аль алинаас хамаардгийг мэдэж байх нь чухал (Knowles нар, 1994). ЯҮТҮВ-ийн gp135 хэрэглэдэг АГНТУ-ын мэдрэх чанар нь ЯҮТҮВ p28-ийг ашигладаг АГНТУ-аас илүү байдаг нь нотлогджээ. ЯҮТҮВ-ийн эсрэгтөрөгч ашигласан АГНТУ-аар ЯҮТҮВ-ийн эсрэгбие илрүүлэхэд МАВИ-гийн вирусийн эсрэгтөрөгч ашигласан АГНТУ-аас мэлрэх чанар нь 35% илүү байсныг дархлааны тунадасжуулах радио идэвхт бодист аргаар харьцуулан тогтоожээ (Knowles нар, 1994). ЯҮТҮВ-ийн эсрэгбие илрүүлэхэд ЯҮТҮ-ийн болон МАВИ-гийн вирусийн эсрэгтөрөгч ийнхүү мэдрэх чанарааraa хоорондоо ялгаатай байгаагийн учрыг дархлааны тунадасжуулах радио идэвхт бодист аргыг хэрэглэхэд эсрэгбие нь зөвхөн нэг эпитоптой холбогдоход эерэг урвал үзүүлдэг бол агарын гельд тунадасжуулах урвалаар эсрэгбие нь олон эпитоптой харилцан үйлчлэлд ордогтой холбон үздэг нь хамгийн магадлалтай байх тайлбар юм. МАВИ болон ЯҮТҮ-ийн вирусийн дугтуйных нь генийн нуклеотидийн дараалал 73–74.4%-иар ижилхэн хэдий ч ижилсэл нь ийм хувь хэмжээнд байхад ЯҮТҮ болон МАВИ-гийн үүсгэгчийн аль алинд нийтлэг байдаг эпитопын эсрэгбие хангалттай хэмжээгээр

үүсгэхэд хүрэлцэхгүй байгаагийн улмаас уг шинжилгээнд МАВИ-гийн вирусийн эсрэгтөрөгчийг хэрэглэхэд эсрэгбие/эсрэгтөрөгчийн тунадасжилтын шугам нь мэдрэгдэхээргүй хэмжээнд үүснэ. Шаардлага хангах эсрэгтөрөгч хэрэглэхэд АГНТУ-ын үр дүн сайн гарна. ЯҮТҮВ-ийн эсрэгбие илрүүлэхээр ЯҮТҮВ-ийн эсрэгтөрөгч хэрэглэн АГНТУ тавьж дархлааны тунадасжилтын үүссэн шугамыг харьцуулж үзэхэд мэдрэх чанар 92%, өвөрмөц чанар 100% байжээ (Knowles нар, 1994). Үүнээс гадна МАВИӨВ-ийн эсрэгбие ирүүлэхээр МАВИӨВ-ийн эсрэгтөрөгч хэрэглэн АГНТУ тавихад мэдрэх чанар 99.3 %, өвөрмөц чанар 99.4% байсан байна.

Бие гүйцсэн, МАВИӨВ-ийн орогномол халдвартай хонь, ЯҮТҮВ-ийн халдвартай ямааг тунадасжуулах урвалаар шинжлэхэд илрэх дархлааны үндсэн хариу урвал үүсгэгчийн gp135 эсрэгтөрөгч рүү чиглэсэн байдаг. Бие гүйцсэн, орогномол халдвартай бог малыг дархлааны тунадасжуулах урвалаар шинжлэхэд p28-ийн эсрэг үзүүлэх урвал нь gp135-ын эсрэг хариу урвалаас ихэвчлэн нам таньцтай илэрнэ. ЯҮТҮВ-ээр халдварласан зарим ямаанд p28-ын эсрэг хариу урвал илрэхгүй байхад gp135-ын эсрэгбиеийн хариу урвал үүсдэг, бас зарим бодгаль амьтан эсрэгбиеийн хариу урвалыг дээрхийн эсрэгээр үзүүлдгийг харуулсан нотолгоо байдаг (Rimstad нар, 1994). Иймд уг шинжилгээний баталгаажуулалтад gp135 болон p28 аль алины эсрэг тунадасжилтын шугам үүсгэж чадах стандарт ийлдэс шаардагдана.

Агарозыг 0.05 М Трис буферт 0.7–1%-уусгаад 8.0% натрийн хлоридоор pH 7.2 болгон тохируулж гелийн орчныг бэлтгэнэ. Шинжилгээг Петрийн хуванцар аяга, эсхүл 10 см^2 талбайтай тавганд хялбархан хийж болно. Агарт гаргах үүрний хэлбэр, хэмжээг нэг аяганд шинжлэх ийлдэсний тоонд тохируулна. Үүрийг янз бүрийн байрлалаар гаргадаг ч ихэвчлэн төвийн нэг үүрийг тойрон зургаан өнцөгт нь захын үүрнүүд байхаар буюу жишээ нь эсрэгтөрөгч хийх 3 мм голчтой төвийн үүрнээс 2 мм, хоорондоо бас 2 мл зайтай том (5 мм голчтой) болон жижиг (3 мм голчтой) үүрнүүдийг ээлжлэн гаргана.

Шинжлэх ийлдсийг захын том үүрнүүдэд, стандарт ийлдсийг жижиг үүрэнд хийнэ. Шинжилгээ хийх бүрдээ сул эерэг хяналтыг оруулна. Хавтанг чийгээ барьдаг 20–25°С-ийн хайрцагт хийн хонуут байлгасны дараа тунадасжилтын зурвас үүссэн эсэхийг шалгана. Тунадасжилтын зурвасыг илүү тодруулах үүднээс 2–8°С-д дахин 24 цаг байлгаж болно

АГНТУ-ын үр дүнд үнэлгээ өгөхөд туршлагатай ажилтан хэрэгтэй байдгийг анхаарах хэрэгтэй. Ашиглаж байгаа эсрэгтөрөгчөөс АГНТУ-ын үр дүн хамаарна. Янз бүрийн эсрэгтөрөгчийн бэлдмэл ашиглан тавьсан АГНТУ-ын жишээ, тэдгээрийн үр дүнд үнэлгээ өгөх зөвлөмжийг Адамс нарын 1983 оны бүтээлээс олж танилцаж болох юм.

2.2. Энзим холбоост дархлааны урвал

Эдүгээ хонины ийлдсэнд МАВИӨВ-ийн, ямааны ийлсэнд ЯҮТҮВ-ийн эсрэгбие илрүүлэх зориулалттай 30 гаруй төрлийн ЕЛИЗА арга байгааг мэдээлжээ. Эдгээрийн ихэнх нь шууд бус ЕЛИЗА (Шб-ЕЛИЗА) бөгөөд ижил гарлын эсрэгбие ашиглан хийсэн өрсөлдөөнт, гурван төрлийн ЕЛИЗА (Ө-ЕЛИЗА) байгааг ажээ (Herrmann нар, 2003). Шб-ЕЛИЗА-ийн хагаст нь p цэвэршүүлсэн бүхэл вирусийн бэлдмэлийг эсрэгтөрөгч болгон ашигладаг бол нөгөө хэсэгт нь рекомбинант ууураг болон/эсхүл пептид эсрэгтөрөгч ашигладаг. Шууд бус зарим ЕЛИЗА аргад ЯҮТҮВ төстэй, МАВИӨВ төстөй эсрэгтөрөгч хоёулыг хамтад нь хэрэглэдэг.Зарим төрлийн Шб-ЕЛИЗА аргыг жишиг стандарт болох вестерн блот, радио идэвхт бодис ашигладаг дархлааны тунадасжуулах урвалтай харьцуулахад мэдрэх болон өвөрмөц чанараараа өндөр байдаг (Rosati нар, 1994; Saman нар, 1999). Европын зарим улсад ЕЛИЗА шинжилгээг хонины МАВИӨВ болон ямааны ЯҮТҮВ-тэй тэмцэж устгах төлөвлөгөөт арга хэмжээнд нэлээд хэдэн жил ашиглаж байгаа бөгөөд (Pépin нар, 1998) өвөрмөц чанар өндөр учраас АГНТУ нь ЕЛИЗА шинжилгээгээр гарсан эерэг үр дүнг баталгаажуулах ач холбогдолтой. ШБ-ЕЛИЗА болон Ө-ЕЛИЗА хоёул хэд хэдээрээ худалдаанд гарсан байна.

Бүхэл вирусээр эсрэгтөрөгч бэлтгэхдээ халдварласан эсийн өсгөврөөс үелүүлэн ялгах зориулалтын хурилдуур ашиглан дээд талын шингэн хэсгийг нь ялган авч цэвэршүүлсэн вирусийг угаалгын бодисоор боловсруулаад бичил хавангийн үүрний ханыг бүрхэнэ (Simard & Briscoe, 1990a; Zanoni нар, 1994). Бүхэл вирусийн бэлдмэл gp135 болон p28 хоёулыг агуулдаг байх ёстой. Рекомбинант эсрэгтөрөгч эсхүл нийлэгжүүлсэн пептидийг ихэвчлэн вирусийн бүтэн эсхүл хэсэгхэн хэрчим *gag* эсхүл дугтуйны генээс бэлтгэх ба тэдгээрийг хамтруулан хэрэглэж болно (Saman нар, 1999). Иймм маягаар *Escherichia coli*-ийг ашиглан

үйлдвэрлэсэн, глутатион S-трансферазагийн нэгдмэл уураг бүхий эсрэгтөрөгчтэй нэгдүүлсэн рекомбинант *gag* эсхүл дугтуйны генийн бүтээгдэхүүн нь олон улсын хэмжээнд түгээн хэрэглэх, стандартчилах боломжтой эсрэгтөрөгчийн тогтвортой эх үүсвэртэй болж байна.

ЕЛИЗА аргыг бас уураг сүү, сүүнд ашиглахаас гадна зарим судалгааны явцад харьцуулалтын хос ийлдэс, сүүний дээж шинжилж үнэлгээ өгчээ. Сүү болон сүү ЯҮТҮВ дамжин халдварлах эх үүсвэр мөн болов ч ЯҮТҮВ-ийн эсхүл МАВИӨВ-ийн эсрэгбие илрүүлэхээр сүүний дээж шинжлэх нь халдвар дамжих, ялангуяа дөнгөж гарсан нялх төлд халдвар дамжихаас сэргийлэх цаг үеэ олсон мэдээлэл болж чаддаггүй. Капсидийн эсрэгтөрөгчийн хувьсамтгай бөгөөд дархлааны урвалд оролцдог эпитопыг ашигладаг ШБ-ЕЛИЗА аргыг ХБМЛ-ийн генийн хэвшлийг ялгаварлах ийлдсэн шинжилгээний арга болгон хэрэглэхийг санал болгожээ (Nogarol нар, 2019).

ЕЛИЗА шинжилгээг шаардлагатай багаж төхөөрөмж (бичил хавтан уншигч), урвалж бодистой лабораторид тасалгааны хэмд (~25°C) хялбархан хийж болно. Энэ арга хонь, ямаанд бог малын лентовирусийн эсрэгбие байвал найдвартай, тоон утгаар нотлон харуулдаг учраас өргөн хүрээнд тандан илрүүлэх шинжилгээнд хэрэглэхэд тохиромжтой. Энэ шинжилгээнд харьцангуй цэвэр эсрэгтөрөгч шаардагдана. Хэд хэдэн төрлийн ЕЛИЗА аргыг жишиг стандарт болох вестерн блот, дархлааны тунадасжуулах радио идэвхт бодист аргатай харьцуулан баталгаажуулаагүй байж болох нэг дутагдалтай тал бий. Шинжилгээний аргыг 1.1.6. *Халдварт өвчний оношилгооны аргыг баталгаажуулах зарчим, арга* бүлэгт заасан зарчмыг баримтлан жишиг стандарт болох вестерн блот, дархлааны тунадасжуулах радио идэвхт бодист аргатай харьцуулан баталгаажуулах хэрэгтэй. Өдий хүртэл зөвхөн ганцхан ЕЛИЗА арга эдгээр шинжилгээний стандарт хангасан байна (Zanoni нар, 1994).

Шб-ЕЛИЗА аргын тухайд бичил хавтангийн үүрний ханыг эсрэгтөрөгчөөр бүрсэн байдаг. Ийлдэсний шингэлсэн дээжийг үүрнүүдэд нэмэхэд хавтангийн үүрний хананд бэхэлсэн эсрэгтөрөгчтэй урвалд орно. Тогтоосон тогтмол хэмд тогтоосон хугацаанд байлгасны дараа эсрэгтөрөгчтэй холбогдоогүй үлдсэн материалыг угааж зайлуулна. Эсрэгтөрөгчтэй холбогдсон өвөрмөц эсрэгбиетэй коньюгат (жишээ нь тунхууны пероксидазагаар тэмдэглэсэн хивэгч амьтны Ig эсрэг) урвалд орно. Энзимийн субстрат нэмнэ. Субстратын өнгөний хувиралт холбогдсон эсрэгбиеийн хэмжээтэй хувь тэнцүү байна. Зохих хугацааны дараа урвал зогсох ба үүссэн өнгөний нягтыг спектрофотометрээр хэмжинэ. Хуурамч эерэг урвалыг бууруулах үүднээс зарим шууд бус ЕЛИЗА урвалыг эсрэгтөрөгч сөрөг үүр бүхий хавтанд хоёр шатлалаар явуулдаг.

Бог малын лентовирус (БМЛВ)-ийн gp135 эсхүл p28 эсрэгтөрөгчтэй холбогдох өвөрмөц ИГЭб-ийг Ө-ЕЛИЗА аргад ашигладаг (Frevereiro нар, 1999; Herrmann нар, 2003;). Ө-ЕЛИЗА аргын өвөрмөц чанар ИГЭб-ийн эпитопоос хамаарах учир түүнд эсрэгтөрөгч цэвэршилт хамаагүй. Ө-ЕЛИЗА аргаар шинжилж байгаа ийлдэс БМЛВ-ийн эсрэгбие агуулж байвал энзимээр тэмдэглэсэн ИГЭб бичил таньцын хуванцар хавтангийн үүрний ханыг бүрсэн БМЛВ-ийн эсрэгтөрөгчтэй холбогдохыг саатуулна. Энзимт субстратыг нэмснээр үүсэх өнгөний нягтыг тоон утгаар илэрхийлж энзимээр тэмдэглэсэн ИГЭб-ийн холбогдолтыг тодорхойлно. Өнгө илүү гүн байвал энзимээр тэмдэглэсэн ИГЭБ холбогдолтыг бараг эсхүл огт саатуулаагүй буюу шинжилсэн дээжид БМЛВ-ийн эсрэгбие байгаагүйг илтгэнэ. Үүний эсрэгээр хэрэв хавтангийн үүрний хананд бэхэлсэн эсрэгтөрөгчтэй энзимээр тэмдэглэсэн ИГЭб-ийн холбогдолтыг саатуулсны улмаас дахь өнгөний тодролт сул байх буюу шинжилсэн дээжид БМЛВ-ийн эсрэгбие агуулагдаж байгааг илтгэнэ. Ө-ЕЛИЗА аргын онцлог нь шинжлэх ийлдсэн дэх эсрэгбие ИГЭб-ийн өвөрмөц эпитоптой шууд аль эсхүл түүнтэй маш ойрхон холбогддогт оршино. Сүүнд IgG агууламж бага учраас түүнд эсрэгбие илрүүлэхэд Ө-ЕЛИЗА тохиромжоороо Шб-ЕЛИЗА аргад хүрдэггүй.

2.2.1. Материал болон эсрэгтөрөгч

Бог малын лентовирусийн эсрэгтөрөгчөөр үүрнийх нь ханыг шинэхэн эсхүл урьдчилан бүрсэн хавтгай ёроолтой 96 үүр бүхий бичил таньцын хавтан, бичил хавтан уншигч (405, 450, 490, 620 нм-ийн шүүлтүүр суулгасан), чийгшүүлэгчтэй, 37°C-ийн дулаан тогтоогуур, 1, 8, 12 сувагтай, нэг удаа хэрэглэх хуванцар хошуутай соруур, бичил хавтан зайлагч (сонголтоор), хөргөгч, хөлдөөгч

Эерэг болон сөрөг хяналтын ийлдэс, коньюгат (жишээ нь хивэгч малын иммунглобулин эсрэг, пероксидазагаар тэмдэглэсэн), 10 дахин өтгөрүүлсэн шингэлэгч, нэрмэл ус, 10× угаагч уусмал, субстрат эсхүл өнгө үүсгэгч (жишээ нь ABTS [2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulphonic acid)] эсхүл TMB [3,3',5,5'-tetramethylbenzidine]), зогсоогч уусмал жишээ нь угаалын бодис, хүхрийн хүчил).

2.2.2. Шууд бус ЕЛИЗА: шинжилгээний аргачлал

i) Ийлдэсний дээжийг хяналтын ийлдэсний хамт тохируулан (жишээ нь 1/20) шингэлээд үүр тус бүрд 0.1–0.2 мл нэмнэ (хоёр шатлалт ЕЛИЗА-д зэрэгцээ хоёр үүрэнд). Хяналтын ийлдсэнд тодорхой үйлдвэрлэгчийн хийсэн эерэг болон сөрөг ийлдэс, янз бүрийн шинжилгээний таньцыг хооронд нь харьцуулахад ашигладаг лабораторийн дотоод жиших эерэг ийлдэс орно.

ii) Хавтанг таглаагаар нь бүрхээд тасалгааны температурт эсхүл 37°C-д 30–90 минут байлгана. Хавтангийн үүрийг хоослоод тасалгааны хэмд угаагч уусмалаар 3 удаа угаана.

iii) Шинээр бэлтгэсэн коньюгатыг тохируулан шингэлээд үүрэнд нэмнэ (үүр бүрд 0.1 мл). Хавтан бүрийг бүрхээд ii шатанд бичсэний дагуу тогтмол дулаанд байлгана. Гурван удаа угаана.

iv) Шинээр бэлтгэсэн эсхүл хэрэглэхэд бэлэн өнгө үүсгэгч субстратын уусмалаас үүр тус бүрд 0.1 мл нэмнэ (жишээ нь цитрат фосфатын буферт ABTS, pH 5.0, болон 30% H2O2 уусмал [0.1 мкл/мл]).

v) Хавтанг зайлаад тогтмол дулаанд байлгасны дараа үүр тус бүрд зогсоогч уусмал нэмж урвалыг зогсооно (жишээ нь 0.1 мл хүхрийн хүчил).

vi) Үүр тус бүрийн гэрэл шингээлтийг бичил хавтан уншигчийн 405 нм (ABTS) эсхүл 450– 620 нм-д (TMB) уншина. Гэрэл шингээлтийн утгыг шинжилгээний үр дүнг тооцоолоход ашиглана.

vii) Үр дүнг үнэлэх

Худалдаанд гарсан цомгоор шинжилсэн үр дүнг үнэлэх, баталгаажуулах шалгуур үзүүлэлт цомгийн зааварт дагалдана.

Тухайн лабораторид ашиглаж байгаа аргачлал, урвалж бодисоос хамааруулан шинжилгээний үр дүнгийн үнэлгээний шалгуурыг боловсруулж баталгаажуулна.

Шинжилсэн ийлдэсний (Ab) болон эерэг (Ab_{pos}), сөрөг (Ab_{neg}) ийлдэсний гэрэл шингээлтийн дунджийг тооцож гаргаад ийлдэс тус бүрд хувиар илэрхийлнэ.

$$\frac{Ab - Ab_{neg}}{Ab_{pos} - Ab_{neg}} \times 100$$

Хэрэв шинжилсэн ийлдэсний гэрэл шингээлтийн дундаж <30% бол түүнийг сөрөг, 30-40% бол эргэлзээтэй, >40% бол эерэг гэж үзнэ.

2.2.3. Өрсөлдөөнт ЕЛИЗА: шинжилгээний аргачлал

i) Эсрэгтөрөгчөөр үүрнийх нь ханыг бүрсэн хавтангийн үүрэнд шингэлээгүй 0.05 мл шинжлэх ийлдэс, эерэг, сөрөг хяналтыг нэмнэ.

ii) Тасалгааны хэмд 1 цаг байлгана.

iii) Хавтанг хоослоод шингэлсэн угаагч уусмалаар 3 удаа угаана.

iv) Үүр бүрд ижил гарлын эсрэгбие-пероксидазагийн шингэлсэн коньюгатаас 0.05 мл нэмж тасалгааны хэмд 30 минут байлгана

v) Тасалгааны хэмд 30 минут байлгасны дараа хавтанг хоослоод iii шатад дурдсаны дагуу угаана.

vi) Үүр бүрд субстратын уусмалаас (ж-нь: TMB) 0.05 мл нэмнэ. Холиод хавтанг хөнгөн цагаан хуудсаар таглаж тасалгааны хэмд 20 минут байлгана.

vii) Үүр бүрд 0.05 мл зогсоох уусмал нэмж холино. Хавтангийн үүрийг хоослохгүй.

viii) Зогсоох уусмал нэмээд тэр даруй хавтан уншигчаар (620, 630 эсхүл 650 нм) уншина.

ix) Үр дүнг боловсруулан үнэлэх

Тухайн лабораторид ашиглаж байгаа аргачлал, урвалж бодисоос хамааруулан шинжилгээний үр дүнгийн үнэлгээний шалгуурыг боловсруулж баталгаажуулна. Дараах жишээг оруулав:

Тооцоолол: 100 – [(Дээж Ab × 100)/(Сөрөг хяналтын дундаж Ab)] = саатлын %.

Ямааны ийлдэс шинжлэхэд саатлын хувь >33.2% байвал эерэг, харин <33.2% байвал сөрөг байна. Хонины ийлдэс шинжлэхэд саатлын хувь >20.9% байвал эерэг, харин <20.9% байвал сөрөг байна.

B. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

Одоогоор вакцин байхгүй.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

Adams D.S., Klevjer-Anderson P., Carlson J.L., McGuire T.C. & Gorham J.R. (1983). Transmission and control of caprine arthritis-encephalitis virus. *Am. J. Vet. Res*., **44**, 1670–1675.

Adjadj N.R., Vicca J., Michiels R. & De Regge N. (2019). (Non-)Sense of Milk Testing in Small Ruminant Lentivirus Control Programs in Goats. Comparative Analysis of Antibody Detection and Molecular Diagnosis in Blood and Milk. *Viruses*, **12**, 3.

Alvarez V., Arranz J., Daltabuit M., Leginagoikoa I., Juste R.A., Amorena B., De Andres D., Lujan L.L., Badiola J.J. & Barriatua E. (2006). PCR detection of colostrum-associated Maedi-Visna virus (MVV) infection and relationship with ELISA-antibody stutus in lambs. *Res. Vet. Sci.*, **80**, 226–234.

Balbin M.M., Belotindos L.P., Abes N.S. & Mingala C.N. (2014). Caprine arthritis encephalitis virus detection in blood by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay targeting the proviral gag region. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*., **79**, 37–42.

Bertoni G., Zahno M.L., Zanoni R., Vogt H.R., Peterhans E., Ruff G., Cheevers W.P., Sonigo P. & Pancino G. (1994). Antibody reactivity to the immunodominant epitopes of the Caprine Arthritis-Encephalitis Virus gp38 transmembrane protein associates with the development of arthritis. *J. Virol.,* **68**, 7139–7147.

Brinkhof J.M., Houwers D.J., Moll L., Dercksen D. & van Maanen C. (2010). Diagnostic performance of ELISA and PCR in identifying SRLV-infected sheep and goats using serum, plasma and milk samples and in early detection of infection in dairy flocks through bulk milk testing. *Vet. Microbiol.,* **142**, 193–198.

Chakraborty S., Kumar A., Tiwari R., Rahal A., Malik Y., Dhama K., Pal A. & Prasad M. (2014). Advances in diagnosis of respiratory diseases of small ruminants. *Vet. Med. Int.*, Article ID 508304, 16 pp.

Colitti B., Coradduzza E., Puggioni G., Capucchio M.T., Reina R., Bertolotti L. & Rosati S. (2019). A new approach for Small Ruminant Lentivirus full genome characterization revealed the circulation of divergent strains. *PLoS ONE* **14**(2): e0212585.

Crawford T.B., Adams D.S., Cheevers W.P. & Cork L. C. (1980). Chronic arthritis in goats caused by a retrovirus. *Science*, **207**, 997–999.

De Regge N. & Cay B. (2013). Development, validation and evaluation of added diagnostic value of a q(RT)-PCR for the detection of genotype A strains of small ruminant lentiviruses. J. *Virol. Methods*, **194**, 250–257.

Extramiana A.B., Gonzalez L., Cortabarria N., Garcia M. & Juste R.A. (2002). Evaluation of a PCR technique for the detection of Maedi- Visna proviral DNA in blood, milk and tissue samples of naturally infected sheep. *Small Rum. Res*., **44**, 109–118.

Frevereiro M., Barros S. & Fugulha T. (1999). Development of a monoclonal antibody blocking-ELISA for detection of antibodies against Maedi-Visna virus. *J. Virol. Methods*, **81**, 101–108.

Grego E., Profiti M., Giammarioli M., Giannino L., Rutili D., Woodall C. & Rosati S. (2002). Genetic heterogeneity of small ruminant lentiviruses involves immunodominant epitope of capsid antigen and affects sensitivity of single-strain-based immunoassay. *Clin. Diagn. Lab. Immunol*., **9**, 828–832.

Herrmann L.M., Cheevers W.P., McGuire T.C., Adams D.S., Hutton M.M., Gavin W.G. & Knowles D.P.A. (2003). Competitive-inhibition enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum antibodies to caprine arthritis-encephalitis virus: diagnostic tool for successful eradication. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **10**, 267–271.

Houwers D.J., Gielkens A.L.J. & Schaake J. (1982). An indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies to maedi-visna virus. *Vet. Microbiol.*, **7**, 209.

Knowles D.P., Evermann J.F., Schropshire C., Vander Schalie J., Bradway D., Gezon H.M. & Cheever W.P. (1994). Evaluation of agar gel immunodiffusion serology using caprine and ovine lentiviral antigens for detection of antibody to caprine-arthritis encephalitis virus. *J. Clin. Microbiol*. **32**, 243–245.

Michiels R., Van Mael E., Quinet C., Adjadj N.R., Cay A.B. & De Regge N. (2018). Comparative analysis of different serological and molecular tests for the detection of small ruminant lentiviruses (srlvs) in Belgian sheep and goats. *Viruses*, **10**, 696.

Nogarol C., Bertolotti L., Klevar S., Profiti M., Gjerset B. & Rosati S. (2019). Serological characterization of small ruminant lentiviruses: A complete tool for serotyping lentivirus infection in goat. *Small Rum. Res.,* **176**, 42–46.

Pépin M., Vitu C., Russo P., Mornex J.F. & Peterhans E. (1998). Maedi-visna virus infection in sheep: a review. *Vet. Res*., **29**, 341–367.

Peterhans E., Greenland T., Badiola J., Harkiss G., Bertoni G., Amorena B., Eliaszewicz M., Juste R., Krassnig R., Lafont J.P., Lenihan P., Petursson G., Pritchard G., Thorley G., Vitu C., Mornex J.F. & Pépin M. (2004). Routes of transmission and consequences of small ruminant lentiviruses (SRLVs) infection and eradication schemes. *Vet. Res.,* **35**, 257–274.

Rimstad E., East N., Derock E., Higgins J. & Pedersen N.C. (1994). Detection of antibodies to caprine arthritis/encephalitis virus using recombinant gag proteins. *Arch. Virol.*, **134**, 345–356.

Rosati S., Kwang J., Tolari F. & Keen J.E. (1994). A comparison of whole virus and recombinant transmembrane ELISA and immunodiffusion for detection of ovine lentivirus antibodies in Italian sheep flocks. *Vet. Res. Commun*., **18**, 73–80.

Saman E., Van Eynde G., Lujan L., Extramania B., Harkiss G., Tolari F., Gonzalez L., Amorena B., Watt N.J. & Badiola J.J. (1999). A new sensitive serological assay for detection of lentivirus infections in small ruminants, *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **6**, 734–740.

Schaer J., Cvetnic Z., Sukalic T., Dörig S., Grisiger M., Iscaro C., Feliziani F., Pfeifer F., Origgi F., Zanoni R.G. & Abril C.E. (2022). Evaluation of Serological Methods and a New Real-Time Nested PCR for Small Ruminant Lentiviruses. *Pathogens*, **11**, 129.

Shah C., Böni J., Huder J.B., Vogt H.R., Mülherr J., Zanoni R., Miserez R., Lutz H. & Schüpbach J. (2004a). Phylogenetic analysis and reclassification of caprine and ovine lentiviruses based on 104 new isolates: evidence for regular sheep-to-goat transmission and worldwide propagation through lifestock trade. *Virology*, **319**, 12–26.

Shah C., Huder J.B., Böni J., Schönmann M., Mühlherr J., Lutz H. & Schüpbach J. (2004b). Direct evidence for natural transmission of small ruminant lentiviruses of subtype A4 from goats to sheep and vice versa. *J. Virol*., **78**, 7518–7522.

Simard C.L. & Briscoe M.R. (1990a). An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to maedi-visna virus in sheep. A simple technique for production of antigen using sodium dodecyl sulfate treatment. *Can. J. Vet. Res.*, **54**, 446–450.

Simard C.L. & Briscoe M.R. (1990b). An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to Maedi-visna virus in sheep. Comparison to conventional agar gel immunodiffusion test. *Can. J. Vet. Res*., **54**, 451–456.

Terpstra C. & De Boer G.F. (1973). Precipitating antibodies against maedi-visna virus in experimentally infected sheep. *Archiv für die gesamte Virusforschung*, **43**, 53–62.

Zanoni R.G., Vogt H.R., Pohl B., Bottcher J., Bommeli W. & Peterhans E. (1994). An ELISA based on whole virus for the detection of antibodies to small-ruminant lentiviruses. *J. Vet. Med. B*, **41**, 662–669.

*

* *

Жич: Энэ хэвлэлийг гаргах үед (2025 он) Ямааны үе мөч/тархины үрэвсэл & Маеди висна өвчнийг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори байхгүй байв.

(ДМАЭМБ-ын одоо байгаа лавлах лабораторийн жагсаалтыг ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас авна уу: https://www.woah.org/en/whatwe-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3)

Жич: ЯМААНЫ ҮЕ/ТАРХИНЫ ҮРЭВСЭЛ ӨВЧНИЙ БҮЛГИЙГ АНХ 1990 ОНД, МАЕДИ-ВИСНА ӨВЧНИЙ БҮЛГИЙГ АНХ 1989 ОНД ТУС ТУС БАТАЛСАН БА ХАМГИЙН СҮҮЛД 2025 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

Хавсралт 1: Ямааны үе/тархины үрэвсэл ба Маеди-висна Шинжилгээний зорилго: Популяци халдваргүйг тогтоох

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо	Дээжийн төрөл, илрүүлэх шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Туршилт шинжилгээ хийсэн популяци	Баталгаажуулалт	Давуу тал	Дутагдалтай тал	Эх сурвалж
ПГУ ☑☐☐	Цус (ЗЦДБЭ)	Энэ арга нь АГНТУ эсхүл ЕЛИЗА аргын дүнтэй тохирч байв. ОМч 84% (Цусны дээж), ОӨч 100% (Extramiana нар, 2002) Энэ арга нь ийлдэс судлалын хоёр арга болон вестерн блотын үр дүнтэй тохирч байв. ОМч 75,52%, ОӨч 100% (Schaer нар, 2022)	115 хонь (Испани): цус, сүүн дэх эс, зорилтот эд Европын янз бүрийн улсад 221 хонь,69 ямаа 396 хонь	Эх сурвалжаас лавлах	Өвөрмөц чанар өндөр Мэдрэх чанар дунд	Өртөг өндөр Тоноглогдсон лабораторид шаардагдана Зарим заавар нь зөвхөн тодорхой өвөрмөц генийн хэвшилд (ж.нь: МаВи вирус төстэй) зориулагдсан байдаг	Extramiana нар, (2002) Schaer нар, (2022)
АГНТУ ☑☐☐	Ийлдэс p28 болон/эсхүл gp135	Энэ аргыг дархлааны тунадасжуулах урвалтай харьцуулсан ОМч 91%, ОӨч 100% (Knowles нар,1994) Энэ арга нь ийлдэс судлалын 6 аргын 4-ийнхтэй нь болон бодит цагийн ПГУ-ын үр дүнтэй тохирч байв. Хонь ОМч 35-100%, ОӨч 100%. Ямаа ОМч 75-87%, ОӨч 100% (Michiels нар, 2018)	218 ямааны ийлдэс (111 сөрөг, 117 эерэг) 51 эерэг, 502 сөрөг хонины ийлдэс 24 эерэг, 370 сөрөг ямааны ийлдэс	Эх сурвалжаас лавлах	Хэрэглэхэд хялбар Энгийн лабораторид хийж болно Өвөрмөц чанар өндөр Урвалж нь хямд Худалдаанд гарсан	Хугацаа их зарна Мэдрэх чанар сул Нийлүүлсэн ийлдэс эсхүл сүү шинжлэхэд тохирохгүй Худалдаанд гарсан Эсрэгтөрөгчийг эсийн өсгөвөрт сайн дасгасан цөөн омгоос бэлтгэсэн,	Knowles нар, (1994) Michiels нар, (2018)
ЕЛИЗА ☑☑☑	Ийлдэс, сийвэн, сүү Gag болон Env эсрэгтөрөгч Генийн хэвшлийн нэг эсхүл олон эсрэгтөрөгч Шууд бус эсхүл өрсөлдөөнт	Энэ аргыг дархлааны тунадасжуулах урвал харьцуулсан ОМч 100%, ОӨч 96,4% (Herrmann нар, 2003) Шинжилсэн аргын үр дүн ийлдэс судлалын 6 аргын 4-ийнхтэй нь болон бодит цагийн ПГУ-ын үр дүнтэй тохирч байв. Хонь ОМч 100% хүртэл, ОӨч 99,6%	АНУ-д 200 ямааны ийлдэс (140 сөрөг, 60 эерэг) Бельгид 51 эерэг, 502 сөрөг хонины ийлдэс 24 эерэг, 370 сөрөг ямааны ийлдэс Европын янз бүрийн улсад 2336 хонь Европын янз бүрийн улсад 221 хонь,69 ямаа	Эх сурвалжаас лавлах	Хэрэглэхэд хялбар Мэдрэх чанар өндөр Худалдаанд гарсан Нийлүүлсэн ийлдэс эсхүл сүү шинжлэхэд шууд бус ЕЛИЗА тохирно	Өвөрмөц чанар дунд Нийлүүлсэн ийлдэс эсхүл сүү шинжлэхэд С-ЕЛИЗА тохирохгүй Генийн хэвшил өвөрмөц ЕЛИЗА өөр угсаа гарлын халдварыг илрүүлэх мэдрэх чанар сул (А генийн хэвшлийн халдварт ялангуяа В генийн хэвшлийн эсрэгтөрөгч)	Herrmann нар, (2003) Michiels нар, (2018) Saman нар, (1999) Schaer нар, (2022)

		Ямаа ОМч 100% хүртэл ОӨч 100% хүртэл (Michiels нар, 2018) АГНТУ болон вестерн блотын аргатай харьцуулсан. ОМч 99,4%, ОӨч 99,3% (Saman нар, 1999). Үр дүн нь ийлдэс судлалын 2 арга, вестерн блот, угсраа ПГУ-ынхтай тохирч байв. ОМч 92,2%, ОӨч 98,9% (Schaer нар, 2022)					

Хавсралт 2: Ямааны үе/тархины үрэвсэл ба Маеди-висна Шинжилгээний зорилго: Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох

Шинжилгээний арга, түүний оноо	Дээжийн төрөл, илрүүлэх шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Туршилт шинжилгээ хийсэн популяци	Баталгаажуулалт	Давуу тал	Дутагдалтай тал	Лавлах эх сурвалж
ПГУ ☑☐☐	Цус (ЗЦДБЭ)	Энэ арга нь ийлдэс судлалын хоёр арга болон вестерн блотын үр дүнтэй тохирч байв. ОМч 75,52%, ОӨч 100% (Schaer нар, 2022)	Европын янз бүрийн улсад 221 хонь,69 ямаа	Эх сурвалжаас лавлах	Өвөрмөц чанар өндөр Мэдрэх чанар дунд Халдварыг нэлээд эрт шатанд илрүүлнэ	Өртөг өндөр Тоноглогдсон лаб шаардагдана Мэдрэх чанарын хувьд эсрэгбиеийн хариу урвал илрүүлэх аргаас мэдрэх чанарын хувьд бага	Schaer нар, (2022)
АГНТУ ☑☑☐	Ийлдэс p28, gp135	Дархлааны тунадасжуулах урвалтай харьцуулахад ОМч 91%, ОӨч 100% (Knowles нар, 1994)	218 ямааны ийлдэс (111 сөрөг, 117 эерэг)	Эх сурвалжаас лавлах	Хэрэглэхэд хялбар Энгийн лабораторид хийж болно Өвөрмөц чанар өндөр Урвалж нь хямд Худалдаанд гарсан	Хугацаа их зарна Мэдрэх чанар сул ялангуяа өөр угсааны эсрэгбие илрүүлэхэд Худалдаанд гарсан Эсрэгтөрөгчийг эсийн өсгөвөрт сайн дасгасан цөөн омгоос бэлтгэсэн	Knowles нар, (1994)

ЕЛИЗА ☑☑☑	Ийлдэс, сийвэн, сүү Gag болон Env эсрэгтөрөгч Генийн хэвшлийн нэг эсхүл олон эсрэгтөрөгч Шууд бус эсхүл өрсөлдөөнт	Энэ аргыг дархлааны тунадасжуулах урвал харьцуулсан ОМч 100%, ОӨч 96,4% (Herrmann нар, 2003) Шинжилсэн аргын үр дүн ийлдэс судлалын 6 аргын 4-ийнхтэй нь болон бодит цагийн ПГУ-ын үр дүнтэй тохирч байв. Хонь ОМч 100% хүртэл, ОӨч 99,6% Ямаа ОМч 100% хүртэл, ОӨч 100% хүртэл (Michiels нар, 2018) АГНТУ болон вестерн блотын аргатай харьцуулсан. ОМч 99,4%, ОӨч 99,3% (Saman нар, 1999). Үр дүн нь ийлдэс судлалын 2 арга, вестерн блот, угсраа ПГУ-ынхтай тохирч байв. ОМч 92,2%, ОӨч 98,9% (Schaer нар, 2022)	АНУ-д 200 ямааны ийлдэс (140 сөрөг , 60 эерэг) Бельгид 51 эерэг, 502 сөрөг хонины ийлдэс 24 эерэг, 370 сөрөг ямааны ийлдэс Европын янз бүрийн улсад 2336 хонь Европын янз бүрийн улсад 221 хонь,69 ямаа	Эх сурвалжаас лавлах	Хэрэглэхэд хялбар Мэдрэх чанар өндөр Худалдаанд гарсан Нийлүүлсэн ийлдэс эсхүл сүү шинжлэхэд шууд бус ЕЛИЗА тохирно	Өвөрмөц чанар дунд Нийлүүлсэн ийлдэс эсхүл сүү шинжлэхэд С-ЕЛИЗА тохирохгүй Генийн хэвшил өвөрмөц ЕЛИЗА өөр угсаа гарлын халдварыг илрүүлэх мэдрэх чанар сул (А генийн хэвшлийн халдварт ялангуяа В генийн хэвшлийн эсрэгтөрөгч)	Herrmann нар, (2003) Michiels нар, (2018) Saman нар, (1999) Schaer нар, (2022)

Хавсралт 3: Ямааны үе/тархины үрэвсэл ба Маеди-висна Шинжилгээний зорилго: Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд туслах

Шинжилгээний арга, түүний оноо	Дээжийн төрөл, илрүүлэх шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Туршилт шинжилгээ хийсэн популяци	Баталгаажуулалт	Давуу тал	Дутагдалтай тал	Лавлах эх сурвалж
ПГУ ☑☑☐	Цус (ЗЦДБЭ) Бай: LTR, gag, pol	Энэ арга нь АГНТУ эсхүл ЕЛИЗА аргын дүнтэй тохирч байв. ОМч 84% (Цусны дээж), ОӨч 100% (Extramiana нар, 2002) Ийлдэс судлалын хоёр арга болон вестерн блотын үр дүнтэй тохирч байв. ОМч 75,52%, ОӨч 100% (Schaer нар, 2022)	115 хонь (Испани): цус, сүүн дээх эс, зорилтот эд Европын янз бүрийн улсад 221 хонь,69 ямаа 396 хонь	Эх сурвалжаас лавлах	Өвөрмөц чанар өндөр Мэдрэх чанар дунд gag генийг онилсон ПГУ-ын дараалал тогтоох шинжилгээ нь тухайн популяцид тархсан бог малын лентивирусийн генотип(үүд)-д үндэслэн ийлдэс судлалын тохирох шинжилгээг сонгоход хэрэгцээтэй мэдээлэл өгдөг.	Өртөг өндөр Тоноглогдсон лаборатори шаардагдана Зарим заавар нь зөвхөн тодорхой өвөрмөц генийн хэвшилд (ж.нь: МаВи вирус төстэй) зориулагдсан байдаг	Extramiana нар, (2002) Schaer нар, (2022) Shah нар, (2004a)

АГНТУ ☑☑☐	Ийлдэс p28 болон/эсхүл gp135	Энэ аргыг дархлааны тунадасжуулах урвалтай харьцуулсан ОМч 91%, ОӨч 100% (Knowles нар,1994) Энэ арга нь ийлдэс судлалын 6 аргын 4-ийнхтэй нь болон бодит цагийн ПГУ-ын үр дүнтэй тохирч байв. Хонь ОМч 35-100%, ОӨч 100%. Ямаа ОМч 75-87%, ОӨч 100% (Michiels нар, 2018)	218 ямааны ийлдэс (111 сөрөг, 117 эерэг) 51 эерэг, 502 сөрөг хонины ийлдэс 24 эерэг, 370 сөрөг ямааны ийлдэс	Эх сурвалжаас лавлах	Хэрэглэхэд хялбар Энгийн лабораторид хийж болно Өвөрмөц чанар өндөр, Урвалж нь хямд Худалдаанд гарсан	Хугацаа их зарна Мэдрэх чанар сул Нийлүүлсэн ийлдэс эсхүл сүү шинжлэхэд тохирохгүй Худалдаанд гарсан Эсрэгтөрөгчийг эсийн өсгөвөрт сайн дасгасан цөөн омгоос бэлтгэсэн Олон дээж шинжлэхэд тохиромжгүй	Knowles нар, (1994) Michiels нар, (2018)
ЕЛИЗА ☑☑☑	Ийлдэс, сийвэн, сүү Gag болон Env эсрэгтөрөгч Генийн хэвшлийн нэг эсхүл олон эсрэгтөрөгч Шууд бус эсхүл өрсөлдөөнт	Энэ аргыг дархлааны тунадасжуулах урвал харьцуулсан ОМч 100%, ОӨч 96,4% (Herrmann нар, 2003) Шинжилсэн аргын үр дүн ийлдэс судлалын 6 аргын 4-ийнхтэй нь болон бодит цагийн ПГУ-ын үр дүнтэй тохирч байв. Хонь ОМч 100% хүртэл, ОӨч 99,6% Ямаа ОМч 100% хүртэл, ОӨч 100% хүртэл (Michiels нар, 2018) АГНТУ болон вестерн блотын аргатай харьцуулсан. ОМч 99,4%, ОӨч 99,3% (Saman нар, 1999). Үр дүн нь ийлдэс судлалын 2 арга, вестерн блот, угсраа ПГУ-ынхтай тохирч байв. ОМч 92,2%, ОӨч 98,9% (Schaer нар, 2022)	АНУ-д 200 ямааны ийлдэс (140 сөрөг , 60 эерэг) Бельгид 51 эерэг, 502 сөрөг хонины ийлдэс 24 эерэг, 370 сөрөг ямааны ийлдэс Европын янз бүрийн улсад 2336 хонь Европын янз бүрийн улсад 221 хонь,69 ямаа	Эх сурвалжаас лавлах	Хэрэглэхэд хялбар Мэдрэх чанар өндөр Худалдаанд гарсан Нийлүүлсэн ийлдэс эсхүл сүү шинжлэхэд шууд бус ЕЛИЗА тохирно	Өвөрмөц чанар дунд Нийлүүлсэн ийлдэс эсхүл сүү шинжлэхэд С-ЕЛИЗА тохирохгүй Генийн хэвшил өвөрмөц ЕЛИЗА өөр угсаа гарлын халдварыг илрүүлэх мэдрэх чанар сул (А генийн хэвшлийн халдварт ялангуяа В генийн хэвшлийн эсрэгтөрөгч)	Herrmann нар, (2003) Michiels нар, (2018) Saman нар, (1999) Schaer нар, (2022)

Хавсралт 4: Ямааны үе/тархины үрэвсэл ба Маеди-висна Шинжилгээний зорилго: Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах

Шинжилгээний арга, түүний оноо	Дээжийн төрөл, илрүүлэх шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Туршилт шинжилгээ хийсэн популяци	Баталгаажуулалт	Давуу тал	Дутагдалтай тал	Лавлах эх сурвалж
Вирус ялган авах ☑☐☐	Эд (дэлүү, дэлэн, тунгалгын зангилаа, уушги, судаслаг сүлжээ, үений бүрхэвч, арьс) Захын цусны нэг бөөмт эс, сүү, хучуур эс.	Шинжилсэн арга: бие бүтцийн эмгэг хувирал болон эсийн өсгөврийн дээрх шингэнд RT идэвх.	16 хонь 26 ямаа	Эх сурвалжаас лавлах	Шинж чанарыг цааш судлах боломж олгоно (эсрэгтөрөгчийн болон удамшлын) Өвөрмөц чанар өндөр Мэдрэх чанар өндөр	Шинэ эд, эсхүл эс шаардагдана Хугацаа их зарна Тоноглогдсон лаборатори, эс өсгөвөрлөх туршлага шаардагдана Үнэ өртөг өндөр	Colitti нар, (2019)
Эсрэгтөрөгч илрүүлэх ☑☐☐	Эд (уушги, дэлэн, үений бүрхэвч) Иммунгистохими	Шинжлэх арга: вирус ялган авах болон ПГУ	6 хонь,6 ямаа	Энэ зорилгоор оношилгооны аргыг найдвартай баталгаажуулсан судалгаа нийтлэгдээгүй	Бусад шууд аргаас ялгарах давуу тал байхгүй	Тоноглогдсон лаборатори, бичил бүтцийн хувирлыг тогтоох туршлага шаардагдана Өргөн хүрээний урвалжит чанартай ИЭГб ашглагдана	Grego нар (2002)
ПГУ ☑☑☑	Цус (ЗЦДБЭ), эд	Шинжилсэн арга: үр дүн нь АГНТУ эсхүл ЕЛИЗА дүнтэй тохирч байв ОМч 94% (холимог эд+ ЗЦДБЭ), ОӨч 100% (Extramiana нар, 2002) Шинжлэх арга: бие бүтцийн эмгэг хувирал, вирус ялган авах (Colitti нар, 2019).	115 хонь (Испани): цус, сүүн дэх эс, зорилтот эд 16 хонь 26 ямаа	Аж ахуйгаас цуглуулсан сорьц, вирусийн өсгөвөр эсхүл омог, мөн эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрсэн хонь, ямааны сорьц ашиглан баталгаажуулах олон арван судалгаа хийгдсэн байна. Хэдийгээр эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрсэн хонь, ямааны сорьцын хувьд судалгаа бүрд хангалттай нотолгоо болох өгөгдөл байхгүй боловч эмнэл зүйн тохиолдлы, баталгаажуулахад (задлангийн эд) ПГУ-д суурилсан	Өвөрмөц чанар өндөр, (ялангуяа ампликоны олшруулалттай хосолбол) Мэдрэх чанар дунд	Өртөг өндөр Тоноглогдсон лаборатори шаардагдана Зарим заавар нь зөвхөн тодорхой өвөрмөц генийн хэвшилд (ж.нь: МаВи вирус төстэй) зориулагдсан байдаг	Extramiana нар (2002) Colitti нар (2019) Alvarez нар (2006) De Regge & Cay (2013) Shah нар (2004a)

				аргуудыг хэрэглэж болохыг бүгд зөвшөөрсөн байна.			
АГНТУ ☑☑☐	Ийлдэс p28, gp135	Энэ аргыг дархлааны тунадасжуулах урвалтай харьцуулсан ОМч 91%, ОӨч 100% (Knowles нар,1994) Энэ арга нь ийлдэс судлалын 6 аргын 4-ийнхтэй нь болон бодит цагийн ПГУ-ын үр дүнтэй тохирч байв.	218 ямааны ийлдэс (111 сөрөг, 117 эерэг) Эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрсэн ямааны талаар ямар нэг өгөгдөл байхгүй 51 эерэг, 502 сөрөг хонины ийлдэс 24 эерэг, 370 сөрөг ямааны ийлдэс	Энэ зорилгоор оношилгооны аргыг найдвартай баталгаажуулсан судалгаа нийтлэгдээгүй	Хэрэглэхэд хялбар Энгийн лабораторид хийж болно Өвөрмөц чанар өндөр, Мэдрэх чанар сайн (халдварын шинж тэмдэгтэй үед) Урвалж нь хямд, Худалдаанд гарсан	Хугацаа их зарна Худалдаанд гарсан эсрэгтөрөгчийг эсийн өсгөвөрт сайн дасгасан цөөн омгоос бэлтгэсэн	Knowles нар (1994)
ЕЛИЗА ☑☑☐	Ийлдэс Gag болон Env эсрэгтөрөгч (ТМ эсрэгтөрөгч)	Харьцуулан шинжилсэн арга: үе мөчний үрэвслийн индекс RIPA, WB (Bertoni нар, 1994) Харьцуулан шинжлэх арга: вирус ялган авах	190 Швейцар ямаа (108 эмнэл зүйн шинжтэй) 17 ямаа, 3 хонь (Итали)	Эх сурвалжаас лавлах	Хэрэглэхэд хялбар Мэдрэх чанар өндөр, Худалдаанд гарсан ТМ-эсрэг үүссэн эсрэгбие нь үе мөчний үрэвсэлтэй ямааны халдварын эмнэл зүйн үе шаттай нягт холбоотой болох нь тогтоогдсон.	Өвөрмөц чанар дунд Генийн хэвшил өвөрмөц ЕЛИЗА өөр угсаа гарлын халдварыг илрүүлэх мэдрэх чанар сул (А генийн хэвшлийн халдварт ялангуяа В генийн хэвшлийн эсрэгтөрөгч)	Bertoni нар, (1994) Colitti нар (2019)

Хавсралт 5: Ямааны үе/тархины үрэвсэл ба Маеди-висна
Шинжилгээний зорилго: Халдварын тархалт - тандалт

Шинжилгээний арга, түүний оноо	Дээжийн төрөл, илрүүлэх шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Туршилт шинжилгээ хийсэн популяци	Баталгаажуулалт	Давуу тал	Дутагдалтай тал	Лавлах эх сурвалж
ПГУ ☑☑☐	Цус (ЗЦДБЭ) Сүү (МЕС)	Шинжилсэн арга: ийлдэс судлалын хоёр арга болон вестерн блотын үр дүнтэй тохирч байв. ОМч 75,52%, ОӨч 100% (Schaer нар, 2022) Шинжилсэн арга: хослуулсан дээжид эсрэгбие илрүүлэх аргын үр дүнтэй тохирч байв. (Adjadj нар, 2019)	Европын хэд хэдэн улсад 221 хонь,69 ямаа, 396 хонь 231 ямааны цус, сүүний дээж (Бельги)	Эх сурвалжаас лавлах	Өвөрмөц чанар өндөр Мэдрэх чанар дунд	Үнэ өртөг өндөр Тоноглогдсон лаб шаардагдана Зарим заавар нь зөвхөн тодорхой өвөрмөц генийн хэвшилд (ж.нь: МаВи вирус төстэй) зориулагдсан байдаг Сүүний дээж шинжлэх ПГУ нь цусны дээж шинжлэх ПГУ-аас мэдрэх чанар бага,	Schaer нар, (2022) Adjadj нар, (2019)

						Цусны ПГУ нь мэдрэх чанарын хувьд эсрэгбие илрүүлэхээс бага	
АГНТУ ☑☑☑	Ийлдэс p28 болон/эсхүл gp135	Энэ аргыг дархлааны тунадасжуулах урвалтай харьцуулсан ОМч 91%, ОӨч 100% Энэ арга нь ийлдэс судлалын 6 аргын 4-ийнхтэй нь болон бодит цагийн ПГУ-ын үр дүнтэй тохирч байв. Хонь ОМч 35-100%, ОӨч 100%. Ямаа ОМч 75-87%, ОӨч 100%	218 ямааны ийлдэс (111 сөрөг, 117 эерэг) 51 эерэг, 502 сөрөг хонины ийлдэс 24 эерэг, 370 сөрөг ямааны ийлдэс	Эх сурвалжаас лавлах	Хэрэглэхэд хялбар Энгийн лабораторид хэрэглэж болно Өвөрмөц чанар өндөр Урвалж нь хямд Худалдаанд гарсан	Хугацаа их зарна Мэдрэх чанар сул Нийлүүлсэн ийлдэс эсхүл сүү шинжлэхэд тохирохгүй Худалдаанд гарсан эсрэгтөрөгчийг эсийн өсгөвөрт сайн дасгасан цөөн омгоос бэлтгэсэн,	Knowles нар, (1994) Michiels нар, (2018)
ЕЛИЗА ☑☑☑	Ийлдэс, сийвэн, сүү Gag болон Env эсрэгтөрөгч Генийн хэвшлийн нэг эсхүл олон эсрэгтөрөгч Шууд бус эсхүл өрсөлдөөнт	Энэ аргыг дархлааны тунадасжуулах урвал харьцуулсан ОМч 100%, ОӨч 96,4% Шинжилсэн аргын үр дүн ийлдэс судлалын 6 аргын 4-ийнхтэй нь болон бодит цагийн ПГУ-ын үр дүнтэй тохирч байв. Хонь ОМч 100% хүртэл, ОӨч 99,6% мЯмаа ОМч 100% хүртэл, ОӨч 100% хүртэл АГНТУ болон вестерн блотын аргатай харьцуулсан. ОМч 99,4%, ОӨч 99,3% Харьцуулан шинжилсэн арга: хослуулсан цусны ийлдсэнд эсрэгбие илрүүлэх Ямаа мRSe 98%, RSp 100% (K=0,98) Хонь RSe 97%, RSp 98% (K=0,95 Ийлдэс судлалын 2 арга, вестерн блот, угсраа ПГУ-ынхтай тохирч байв. ОМч 92,2%, ОӨч 98,9%	АНУ-д 200 ямааны ийлдэс (140 сөрөг , 60 эерэг) Бельгид 51 эерэг, 502 сөрөг хонины ийлдэс 24 эерэг, 370 сөрөг ямааны ийлдэс Европын янз бүрийн улсад 2336 хонь Европын янз бүрийн улсад 221 хонь,69 ямаа	Эх сурвалжаас лавлах	Хэрэглэхэд хялбар Мэдрэх чанар өндөр Худалдаанд гарсан Нийлүүлсэн ийлдэс эсхүл сүү шинжлэхэд шууд бус ЕЛИЗА тохирно	Өвөрмөц чанар дунд Нийлүүлсэн ийлдэс эсхүл сүү шинжлэхэд С-ЕЛИЗА тохирохгүй Генийн хэвшил өвөрмөц ЕЛИЗА өөр угсаа гарлын халдварыг илрүүлэх мэдрэх чанар сул (А генийн хэвшлийн халдварт ялангуяа В генийн хэвшлийн эсрэгтөрөгч)	Herrmann нар, (2003) Michiels нар, (2018) Saman нар, (1999) Brinkhof нар, (2010) Schaer нар, (2022)

БҮЛЭГ 41 (3.8.3)

ХАВЬТАЛ ХАЛДВАРТ СОХОР ДОГОЛ ӨВЧИН

А. УДИРТГАЛ

Хонь, ямааны хавьтал халдварт сохор догол өвчин 200 орчим жилийн өмнөөс мэдэгдсэн бөгөөд мал, амьтны дэлэн үрэвсэх, үе үрэвсэх, нүдний эвэрлэг болон салст бүрхэвч үрэвсэх зэрэг шинж тэмдгээр илэрнэ. Энэ өвчин Европын хагас бэлчээрийн мал аж ахуй, бог малын сүүний аж ахуйн бүс нутаг, голдуу Газрын дундад тэнгис, Ази, Хойд Африк, хаяа АНУ-д тохиолдоно. Энэ өвчин зонхилон *Mycoplasma agalactiae (Ma)*-аар үүсгэгдэнэ (Bergonier нар, 1997). Сүүлийн үед Испани, Францад *Ma*-аар үүсгэгдсэн хавьтал халдварт сохор догол өвчний халдвар хонинд нэмэгдэж, Пиренеин хойг болон түүний эргэн тойрны нутагт өвчний тохиолдлын тоо нэмэгдсэнийг мэдээлж, Корсикад шинэ дэгдэлт бүртгэгджээ (Chazel нар, 2010). Итали улсад жилдээ 50 гаруй дэгдэлт бүртгэгдсээр байгаа бөгөөд гол төлөв түүний хоёр арал нутагт гардаг байна[1]. Иран болон Монголд өвчний дэгдэлт байнга, цөөнгүй тохиолдож байна (Nicholas нар, 2008). Өмнөд Америк (Nascimento нар, 1986), *Австрали-Ази* (Cottew, 1971), өвчин тархаж байгаа Итали (Marogna нар, 2015) зэрэг олон улс оронд дэлэнгийн болон үений үрэвсэлтэй хонь, ямаанаас *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum (Mcc)* болон *M. mycoides subsp. Capri (Mmc) (*хуучнаар *M. mycoides subsp. mycoides LC* [LC = том колони])-ийг мөн ялган авсан байна.

Mcc, Mmc, M. putrefaciens (*Mp*)-ээр үүсгэгдсэн халдварын эмнэл зүйн шинж тэмдэг *Ma*-аар үүсгэгдсэн хавьтал халдварт сохор догол өвчний халдварынхаас ялгагдахааргүй, бараг адил илэрнэ. Үүнээс гадна *Mp* нь ямаанд *Ma, Mmc, Mcc-ын* халдварын үед илэрдэгтэй маш төстэй дэлэн, үений үрэвсэл үүсгэдэг (Rodriguez нар, 1994). Нэмж дурдахад 1999 онд Францын Тулуз хотноо болсон ЕХ-ны COST[2]-ын хивэгч амьтанд микоплазмаар үүсдэг өвчний асуудлаарх 826 дугаар судалгааны хөтөлбөрийн хавьтал халдварт сохор догол өвчний асуудал хариуцсан ажлын хэсгийн хуралдаанаар энэ дөрвөн микоплазмыг хавьтал халдварт сохор догол өвчний үүсгэгч гэж үзэх нь зүйтэй гэж тогтсон байна. Францад ямаанаас ялгасан нийт микоплазмын 80 гаруй хувийг *Mmc, Mcc, Mp,* харин 2 хүрэхгүй хувийг *Ma* эзэлдэг байна. Пиренейн болон Альпийн нуруу орчмын янгир, уулын ямаа (*Oreamnos americanus*) зэрэг зэрлэг хивэгчээс *Ma* болон *Mcc*-ийг ялган авчээ (Chazel нар, 2010; Verbsick нар, 2008). Илт эрүүл үхрээс *Ma* (Chazel нар, 2010) болон *Mcc* (Пинхо нар, 2009) ялган авсан тухай хаа нэг мэдээлсэн бол Катаниа нар (2016) бухын нүд, чих, тархи нугасны шингэнээс *Ma*-г ялган авсан байна.

Ma-аар үүссэн өвчний үед биеийн халуун аажмаар нэмэгдэх, тэжээлийн дуршил буурах, дэлэнгийн завсрын эдийн үрэвслийн улмаас хонины сүүний найрлага өөрчлөгдөж гарц нь буурах, улмаар 2-3 хоногийн дотор ширгэх (Bergonier нар, 1997) бөгөөд халдвар авсан малын 5–10 орчим хувьд доголох, нүдний эвэрлэг болон салст бүрхэвч үрэвсэх шинж тэмдэг илэрнэ. Өвчин цочмог явцтай үед халуурах нь элбэг бөгөөд заримдаа мэдрэлийн хямралын шинж тэмдэг дагалдаж магадгүй. Гэхдээ эдгээр шинж тэмдэг эндемик тархалттай нутагт ихэвчлэн ажиглагддаг цочмогдуу болон архаг явцтай халдварын үед ховор тохиолдоно. Хээлтэй мал хээл хаях нь бий. Уушгины гэмтсэн хэсэгт заримдаа *Ma* олддог (Loria нар, 1999) боловч уушгины үрэвсэл тэр бүр илэрдэггүй. Бактери цусаар тарах нь ялангуяа *Mmc* болон *Mcc*-ын халдварын үед түгээмэл тохиолдох учир үүсгэгчийг биеийн аль ч хэсгээс ялган авах боломжтой байдаг.

Mmc-ын халдварын улмаас үений, цээжний гялтангийн, уушгины, дэлэнгийн, нүдний салст болон эвэрлэг бүрхэвчийн үрэвсэл үүсэж болзошгүй. *Mmc* хивэгч амьтны микоплазм дундаас газарзүйн хамгийн өргөн тархалттай нь бөгөөд бог мал малладаг, хавьтал халдварт сохор догол болон ямааны годрон өвчин бүртгэгдсэн бүх улс, тивд тохиолдоно (DaMassa нар, 1983; Nicholas, 2002). Гэвч олон улс оронд микоплазмаар үүсгэгдсэн өвчнийг оношлох бодит боломж хангалтгүй байдаг учир *Mmc*-ийн халдварыг дутуу мэдээлсэн байх магадлалтай. *Mmc* нь ихэвчлэн ямаанд халдварладаг бөгөөд зарим тохиолдолд түүнийг уржлийн эмгэгтэй хонь, үений үрэвсэлтэй эсхүл амьсгалын замын өвчтэй үхрээс ялган авсан байна. *Mmc*-ийн халдварын тохиолдол ихэнхдээ үе үе, алаг цоог гарах бөгөөд сүргийн дотор өвчин орогнон алгуурхан тархах боломжтой, үүнээс гадна өвчнөөр тайван бүс нутагт энэ өвчин

[1] ДМАЭМБ-ын Дэлхийн мал, амьтны эрүүл мэндийн мэдээллийн систем (WAHIS)-ээс авсан мэдээлэл: https://wahis.oie.int/#/home

[2] Европын шинжлэх ухаан, техникийн судалгааны хамтын ажиллагаа

гарахад ишигний өвчлөл, хорогдол нэмэгддэг. Сицильд бүртгэгдсэн энэ өвчний дэгдэлтийн үеэр хорогдол 40 гаруй хувьтай байжээ (Agnello нар, 2012). Төллөсний дараа халдвартай уураг сүүгээр дамжин ишиг халдвар авах тул саалийн малд халдвар тархах нь нэмэгддэг. Үений үрэвсэл, уушгины үрэвсэл үүсэн цус үжих нь ишигний хорогдлыг ихэсгэдэг байна (Bergonier нар, 1997; DaMassa нар, 1983).

Хойд Африкт *Mcc* өргөн тархсан бөгөөд эмгэг төрүүлэх үүсгэгчийн чадвар өндөр боловч түүний илрэх давтамж цөөн байдаг (Bergonier нар, 1997). Хониноос илүүтэй ямаа өвчилдөг ба халуурах, цус үжих, дэлэн үрэвсэх, үе хүнд хэлбэрээр үрэвсэх шинж тэмдэг илэрч, богино хугацаанд үхэлд хүргэдэг (Bergonier нар, 1997; Bolske нар, 1988). Задлан шинжилгээгээр уушгины үрэвсэл илэрч болно. Өвчний үүсгэгчээр зориуд халдвар хийж туршихад үений хүнд хэлбэрийн эмгэг хувирал, улмаар түүнээс зайдуу байгаа үе тойрсон эдийг хамарсан арьсан дор их хэмжээний хаван үүсгэсэн нь ажиглагдсан байна (Bolske нар, 1988). Цусны үжилтэй хүнээс *Mcc*-ийг ялган авсан анхны тохиолдол 2015 онд бүртгэгдсэн байна (Seersholm нар, 2015).

Францын баруун нутгийн сүүний чиглэлийн ямаан сүрэгт *Mp* түгээмэл тохиолддог бөгөөд түүнийг эмнэл зүйн шинж тэмдэгтэй болон тэмдэггүй малаас ялган авч болдог ажээ (Mercier нар, 2001). АНУ-ын Калифорни мужид дэлэнгийн үрэвсэл болон хавьтал халдварт сохор догол өвчний өргөн тархалттай дэгдэлтийн улмаас *Mp*-ийн халдвар гарч ямаанд үений хүнд хэлбэрийн үрэвсэл үүсгэн түүнийг дагалдан хээл хаялт, түүнчлэн халуурах шинж тэмдэггүй хорогдол гарч байжээ (Bergonier нар, 1997). Испанид гарсан ишигний олон үе хамарсан үрэвслийн дэгдэлт голчлон *Mp*-ээс шалтгаалсан байна (Rodriguez нар, 1994).

Өмнөд Америкийн тэмээний овгийн амьтан, түүний дотор лама гөрөөс, альпака, викунагаас *Mmc, Mcc*-ийн эсрэгбие илэрсэн (гэхдээ *Ma*-ын эсрэгбие илрээгүй) боловч одоогоор микоплазмыг хараахан ялгаж аваагүй байна (Nicholas, 1998). Тэмээний овгийн эдгээр амьтан олон үений үрэвсэл, уушгины үрэвсэл зэрэг микоплазмаар үүсгэгдэг өвчинтэй төстэй хэд хэдэн өвчнөөр өвчилдөг тул цаашид *Mmc, Mcc* зэрэг микоплазмууд илрэх магадлалтай гэж үздэг.

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА ЗҮЙ

Хүснэгт 1. Хавьтал халдварт сохор догол өвчнийг оношлох шинжилгээний арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүйг тогтоох	Бодгаль халдваргүйг тогтоох	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах	Халдварын тархалт тогтоох – тандалт	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгч ялган таних						
Бичил биетнийг өсгөвөр, ялган таних	++	+++	+++	+++	–	–
Энгийн ПГУ	++	+++	–	+++	++	–
Бодит цагийн ПГУ	++	+++	–	+++	++	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ХХУ	+++*	+	+++	+++*	+++*	+++*
ЕЛИЗА	+++**	+	+++	+++**	+++**	+++**
Иммунблот	+	++	+	++	+	++

Түлхүүр үг:
+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
++ энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй;

* зөвхөн *Mcc, Mmc*-ийг илрүүлэхэд
*** зөвхөн Ma*-ыг илрүүлэхэд
ПГУ = полимеразагийн гинжин урвал;
ХХУ = хавсарга холбох урвал;
ЕЛИЗА = энзим холбоост дархлааны урвал.

1. Үүсгэгчийг ялган таних

1.1. Сорьц сонгох

Амьд мал, амьтнаас чухалчлан сонгох сорьцод дэлэнгийн үрэвсэлтэй эсхүл илт эрүүл харагдах эх малын сүү; ишигний өвчлөл, хорогдол их үед хамрын арчдас, гоождос; үе үрэвссэн тохиолдлоос үений шингэн; нүд өвчилсөн тохиолдлоос салст бүрхэвчийн арчдас, эсрэгбие илрүүлэх бол өвчилсөн болон өвчлөөгүй мал, амьтны цус тус тус орно (Nicholas & Baker, 1998). Нийлүүлсэн сүүтэй савнаас сорьц авах нь сүргийн түвшинд өвчин үүсгэгч микоплазмын халдварын байдалд хяналт-шинжилгээ хийх тохиромжтой арга юм. Ялзарсан юм шиг өвөрмөц үнэр сүүнээс үнэртэх нь ихэвчлэн тухайн сүрэгт *Mp*-ийн халдвар байгаагийн эхний шинж тэмдэг болдог. Чихний сувагт эмгэг төрүүлэгч микоплазм ихээр агуулагддаг болохыг мөн тогтоосон боловч түүнийг илрүүлэх практик ажилд энэ хэсэгт байрлах эмгэг үл төрүүлэх бусад микоплазм саад болдог (Nicholas & Baker, 1998). Өвчин цочмог явцтай бөгөөд микоплазм цусаар тархсан үед микоплазмыг цуснаас ялгаж болно. Үхсэн мал, амьтнаас авах сорьцод дэлэн, түүнтэй холбоотой тунгалгийн зангилаа, үений шингэн, уушгины эд (өвчтэй болон эрүүл эдийн зааг), цээжний хөндий/үнхэлцгийн шингэн зэрэг орно. Сорьцыг чийгтэй сэрүүн нөхцөл бүрдүүлэн оношилгооны лабораторид шуурхай илгээнэ. Дотор эрхтэн, үе, сүүнээс өвчин үүсгэгч бүх дөрвөн микоплазмыг харьцангуй хялбар ялгаж болох ба тэдгээр нь микоплазм өсгөвөрлөх ихэнх тэжээлт орчинд сайн ургаж, 3-4 хоногийн дотор дунд зэргээс том хэмжээтэй колони үүсгэнэ.

1.2. Микоплазм ялган таних

Микоплазмыг ялгахад ашигладаг нийтлэг аргыг өвчний бүх дөрвөн үүсгэгчид хэрэглэнэ (Nicholas & Baker, 1998). Өвчин үүсгэгч микоплазм ургуулах олон төрлийн тэжээлт орчин байдгийг мэдээлжээ. Пируват, изопропанол зэрэг органик хүчил агуулсан тэжээлт орчинд *Ma*-ын ургалтын эрчим нэмэгддэг нь ажиглагджээ (*Khan* нар, 2004). RPM тэжээлт орчин (*Khan* нар, 2004) дараах найрлагатай: дулааны аргаар идэвхгүйжүүлсэн гахайн ийлдэс 100 мл/литр, тусгай пептон 20 г/литр, хөрөнгийн ханд 5 г/литр, глицерин 5 г/литр, натрийн хлорид 5 г/литр, HEPES (N-2-hydroxyethylpiperazine, N-2-ethansulphonic acid) 9 г/литр, шинэхэн хөрөнгийн ханд 100 мл/литр, натрийн пируват 5 г/литр, 0.2%-ын фенолын улаан 12.5 мл, ампициллин (200,000 ОУН/мл). Нэг литр хүртэл нэрмэл ус хийж, шүүлтүүрээр ариутгана. Энэ шөлөн тэжээлт орчны pH-ийг 7.6 болгож тохируулна. Хатуу тэжээлт орчин бэлтгэхийн тулд 10 г агар No.1 (Lab M, Bury UK эсхүл түүнтэй дүйцэх чанарын) нэмж, ариутгасан Петрийн аяганд цутгана.

Эмнэл зүйн сорьцод бактерийн бохирдлыг бууруулах зорилгоор хавьтал халдварт сохор догол өвчин үүсгэдэггүй зарим микоплазмд хортой, тэднийг дарангуйлагч бодис болох цуу хүчлийн талли (250 мг/литр)-г зөөвөрлөх тэжээлт орчны найрлагад оруулах шаардлагатай бөгөөд харин микоплазм *in vitro* орчинд нэгэнт ургаж эхэлсэн бол энэ бодисыг хэрэглэхгүй. Цуу хүчлийн таллийн оронд колистин сульфат (37.5 мг/литр)-ыг хэрэглэж болно.

1.2.1. Шинжлэх аргачлал

i) Шингэн сорьц (сүү, үений гэрний шингэн, чихний сувгийн арчдас) эсхүл жижиглэж жигдрүүлсэн эдийн шингэнийг тохирох шөлөн орчноор аравтын шингэлэлтээр (10^1-10^6) шингэлнэ.

ii) Дээж тус бүрээс хэдэн дуслыг хатуу тэжээлт орчны гадаргууд тарааж тарих ба 10% (э/э)-ийг нь шингэн орчинд хийнэ.

iii) Арчдасыг шууд хатуу тэжээлт орчны гадаргууд татаж тарилт хийнэ.

iv) Тарилт хийсэн шөл (зөөлөн зайлж өгвөл илүү сайн) болон хатуу тэжээлт орчныг 5%-ийн CO_2 бүхий чийглэг агаарт 37˚C-д өсгөвөрлөнө.

v) Шөлний ургалт (жигд булингартах эсхүл сүүн цагаан өнгөөр илэрнэ) эсхүл өнгөний өөрчлөлтөөр илрэх pH-ийн өөрчлөлтийг өдөр бүр шалгаж, хатуу

тэжээлт орчинд “шарсан өндөг” шиг харагдах ердийн колони байгаа эсэхийг х35 өсгөлтөөр харж шалгана.

vi) 7 хоногийн дараа хэрэв микоплазмын ургалт илрэхгүй бол шөлний 10%-ыг шинэ шөлөнд хийж, 50 мкл-ийг нь хатуу тэжээлт орчны гадаргууд тарааж дамжуулан өсгөвөрлөнө.

vii) Өмнөх v шатыг давтах ба 21 хоногийн дараа микоплазм илрэхгүй бол үр дүнг сөрөг гэж үзнэ.

viii) Бактерийн бохирдол илэрвэл (хэт их булингартай харагдвал) бохирдсон шөлнөөс 1 мл-ийг авч 45 мкм-ийн шүүлтүүрээр шүүн ариутгаад шинэ шөлөн орчинд дахин хийнэ.

Эмнэл зүйн сорьц нэгээс олон зүйл микоплазмыг агуулсан байх нь олонтой тул биохими болон ийлдэс судлалын шинжилгээ, ялангуяа ургалт саатуулах шинжилгээ (УСШ), хальс үүсэлтийг саатуулах шинжилгээ (ХҮСШ) хийхийн өмнө колониос нэг ижил генотипийн өсгөвөр цэвэршүүлэн ялгасан байх шаардлагатай гэж үздэг. Гэвч нэг ижил генотипийн өсгөвөр цэвэршүүлэн ялгахад хугацаа их шаардах ба наад зах нь хоёр долоо хоног зарцуулна. Иммунфлуоресценцийн урвал (Bradbury, 1998), дархлааны цэгэн урвал (Poumarat, 1998) болон сүүлийн үед полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ)-ын (Б.1.5 дахь хэсгийг үз) аргаар холимог өсгөврөөс эмгэг төрүүлэгч микоплазмыг цаг хугацаа их заралгүйгээр илрүүлэх боломжтой учир нэг ижил генотипийн өсгөвөр цэвэршүүлэх шаардлагагүй болжээ.

1.3. Биохимийн шинжилгээ

Нэг ижил генотипийнөсгөврийн дигитонинд мэдрэх чанарыг эхэлж шалгах ба энэ нь шинжилж байгаа микоплазмыг далдлан ургаж чадах, хаа сайгүй тархсан бохирдуулагч болох ахолеплазмаас түүнийг зааглаж өгнө. Эмгэг төрүүлэгч дөрвөн микоплазмыг хооронд нь ялгаварлахад глюкоз (1%), аргинин (0.25), фенолфталеин диосфосфат (0.01%) агуулсан шингэн тэжээлт орчин, адууны ийлдэс эсхүл өндөгний шар агуулсан хатуу тэжээлт орчны гадаргууд ургуулж хальс болон толбо үүсэлтийг, казеин агар эсхүл бүлэгнүүлсэн ийлдэст агарын гадаргууд уураг задралтыг шалган шинжлэх нь хамгийн өгөөжтэй аргууд юм (Poveda, 1998). Гэвч микоплазмуудын эдгээр биохимийн шинж чанар өөрчлөгдөх нь ихсэх болсноор оношилгооны ач холбогдол буурч байна. *Mp*-ийг бусад микоплазмаас ялгах биохимийн хамгийн тодорхой шинж чанар нь шөлөн өсгөвөрт түүний ялгаруулдаг ялзарч муудсан юм шиг өвөрмөц үнэр юм. Хэрэг болохуйц бусад шинж чанарт шөлөн болон хатуу тэжээлт орчны гадаргууд *Ma*-аар, бага хэмжээгээр *Mp*-ээр үүсгэгдсэн хальс, толбо; казеин ба бүлэгнүүлсэн ийлдэстэй агарын гадаргууд үүссэн *Mcc* ба *MmmLC*-ийн уураг задралтын идэвхжил зэрэг орно.

1.4. Ийлдэс судлалын аргаар ялган таних

Ихэвчлэн өвөрмөц эсрэг ийлдэс ашиглан УСШ, ХҮСШ (Poveda & Nicholas, 1998) эсхүл шууд бус флюоресцент эсрэгбиеийн урвалаар (Bradbury, 1998) өсгөврийг ялган танина. Бичил таньцын хавтанд хийдэг цэгэн дархлааны урвал нь бусад ийлдэс судлалын аргаас хурдан, илүү бүтээмжтэй (Poumarat, 1998) зэрэг олон давуу талтай ч будагдалтын эрчмийг бодитой үнэлэх шаардлага гарна. *Ma*-ын тухайд ургалт сааталт бүх өсгөвөрт ажиглагдаггүй учраас хальс үүсэлтийг саатуулах шинжилгээ нь илүү найдвартай ба бас ийлдэс судлалын оношилгоонд ашиглаж болно. Хатуу тэжээлт орчинд өндөгний шарын 10%-ийн цийдмэг нэмэхэд микоплазмаас хальс үүсэх нь нэмэгдэнэ.

1.4.1. Шинжлэх аргачлал

i) 48 цаг ургуулсан нэг ижил генотипийн шөлөн өсгөврөөс наад зах нь хоёр шингэлэлт (10^{-1} ба 10^{-2})-ийг урьдчилан хатаасан хатуу тэжээлт орчны гадаргууд тарьж, 50 мкл өсгөврийг “дусал урсгах” аргыг ашиглан аяганы налууг дагуулан урсгана. (Poveda & Nicholas, 1998). Илүүдэл шингэнийг сорууураар зайлуулна.

ii) Аягыг хаттал хүлээнэ. 90 мм-ийн голчтой аяга бүрд хоёроос гурван дуслыг хоорондоо аль болохоор зайтай дусаана.

iii) 30 мкл эсрэг ийлдэс шингээн хатааж урьдчилж бэлтгэсэн шүүлтүүрийн цаасан зээрэнцгүүдийг хооронд нь сайтар тусгаарлан (наад зах нь 30 мм) өсгөвөрт наана.

iv) Аягыг микоплазм өсгөвөрлөхтэй адил тогтмол хэмд байлгасны дараа, цайвар дэвсгэр дээр барьж нүдээр харж өдөр бүр шалгана.

1.4.2. Үр дүнг үнэлэх

Цаасан зээрэнцгээс микоплазмын ургалтын зах хүртэлх саатуулалтын бүс 2 мм-ээс их байвал чухал ач холбогдолтойд тооцно. Сул эсрэг ийлдэс эсхүл холимог өсгөвөрт хэсэгчилсэн саатуулалт тохиолдоно. Лабораторийн цоолтуур эсхүл түүнтэй адилтгах хэрэгслээр агарт 6 мм голчтой үүр гарган 60 мкл эсрэг ийлдэс хийж шинжилбэл урвал илүү хүчтэй явагдана (Poveda & Nicholas, 1998).

Хатуу тэжээлт орчны гадаргууд ургасан колонийг өвөрмөц эсрэг ийлдсээр үйлчлэх замаар шууд бус флюоресцент эсрэгбиеийн урвал явуулна. Угаах шатны дараа гомолог эсрэг ийлдэс колонид холбогдсон хэвээр үлдэх ба түүнийг колони дээр флюоресцеинтэй коньюгатласан глобулины эсрэгбие нэмж угаасны дараа эпифлюоресценцийн микроскопоор харж баталгаажуулна (Bradbury, 1998). Уг шинжилгээний хяналтад эерэг ба сөрөг нь тогтоогдсон хяналтын бичил биетүүд, сөрөг хяналтын ийлдэс орно. Гэвч дархлаа судлалын цэгэн урвалын адил будагдалтын эрчмийг бодитой үнэлэх шаардлага гарна.

Ийлдэс судлалын шинжилгээнд зориулсан эсрэг ийлдсийг төрөл бүрийн *Mycoplasma* зүйлд багтах омгийн хэвшлийн эсрэг бэлтгэдэг ба эдгээр эсрэг ийлдсийг ашиглан ихэнх хээрийн өсгөврийг хялбархан ялгаж тогтоосон байна. Илүү олон омгийг шинжилж үзэхэд зарим нь эдгээр эсрэг ийлдэстэй урвалд муу орж байсан бол микоплазмын зүйлийг төлөөлөх бусад омгуудын эсрэг ийлдэстэй урвалд сайн орж байжээ. Микоплазмын зүйл доторх эсрэгтөрөгчийн бүрэлдэхүүн өөрчлөгдөх нь *Mp*-ийн хувьд мэдээлэгдээгүй ч *Ma, Mcc*-ын омогт ямар нэг хэмжээгээр тохиолддог байна. Тиймээс оношилгооны лабораторид тухайн зүйлийн бүх омгийг ялган тогтоохын тулд хэд хэдэн төрлийн эсрэг ийлдэстэй байх шаардлагатай.

1.5. Нуклейн хүчлийг таних арга

1.5.1. Полимеразагийн гинжин урвалын арга

ПГУ-ын шинжилгээг олон лабораторид тогтмол ашигладаг бөгөөд мэдрэх чанар өндөр арга юм. Энэ урвалаар эмгэгт дээж шинжлэхэд үр дүн нь эерэг гарсан тохиолдолд цаашид иж бүрэн судалгаа явуулах, эрт сэрэмжлүүлэх, хариу арга хэмжээг шуурхай авах боломж олгодог. Гэхдээ өсгөвөрлөх арга микоплазмыг илүү өндөр мэдэрч илрүүлдэг учраас нийлүүлсэн сүүний савнаас авсан дээж ПГУ-аар сөрөг гарвал эцсийн хариу гэж үздэггүй. Генийн өөр өөр дараалалд суурилсан *Ma*-д өвөрмөц бөгөөд мэдрэх чанараар ижил төстэй хэд хэдэн ПГУ аргын боловсруулсан байна (Dedieu нар, 1995; Subrahamaniam нар, 1998; Tola нар, 1997a). Эдгээр аргыг хамар, нүдний салст бүрхэвч, үе, эдийн сорьцод шууд хэрэглэж болох ба сүүний сорьцыг шинжлэхэд хэдийгээр зарим тодорхойгүй саатуулагч бодис саад болж болзошгүй ч өсгөвөрлөх аргаас мэдрэх чанараар илүү гэж мэдээлжээ. (Tola нар, 1997a). ПГУ-аар микоплазмын өсгөвөр шинжлэхэд илүү найдвартай байх ба тохиромжтой орчинд микоплазмыг 24 цаг баяжуулан өсгөвөрлөхөд бактерийн бохирдолтой байсан ч ПГУ-ын илрүүлэлт маш их сайжирна (Nicholas, 2002). Сүүнээс *Ma* илрүүлэхэд баригч эсрэгбие бүхий дархлааны соронзонт ПГУ хэрэглэвэл өсгөвөрлөх аргаас илүү хурдан үр дүн гаргана (Sanna нар, 2014). Гельд тунадасжуулан үелүүлэх электрофорез болон микоплазмд өвөрмөц праймерт суурилсан ПГУ нь бог малын дийлэнх микоплазм, түүний дотор хавьтал халдварт сохор доголын бүх үүсгэгчийг тэдгээрийн гельд нүүн үелэх хэв маягаар нь ялган тогтоох чадвартай юм (McAuliffe нар, 2005). Изотермал ПГУ арга хэрэглэж болох ба *Ma*-г илрүүлэхэд зориулсан арга бий (Rekha нар, 2015).

ПГУ-аар эерэг дүн үзүүлсэн тохиолдолд түүнийг ялангуяа өмнө нь хавьтал халдварт сохор догол өвчнөөр тайван байсан нутагт стандарт аргаар микоплазмыг ялган таньж тогтоох замаар баталгаажуулна.

Mmc (Bashiruddin, 1998), *Mcc* (Monnerat нар, 1999) *Mp* (Nicholas нар, 2008; Peyraud нар, 2003)-д тус тусад нь зориулсан ПГУ аргыг боловсруулсан байна. Мөн түүнчлэн *Ma*, *Mcc, Mmc*-ыг нэгэн зэрэг илрүүлэх мультиплекс аргыг боловсруулжээ (Greco нар, 2001). Силлара нар (2015) *Mmc* болон *Mcc*-ыг хооронд нь ялгаварлах зорилгоор *lpdA* генд суурилсан нуклейн хүчлийн таслагдах хэрчмийн уртын полиморфизм ПГУ аргыг боловсруулсан байна.

1.5.2. Бодит хугацааны ПГУ

Шинжилгээний хурд, мэдрэх чанар, дээж боловсруулалтын хувьд давуу бодит хугацааны, хурдавчилсан хэд хэдэн ПГУ аргыг *Ma*-ыг илрүүлэхэд зориулан боловсруулсан байна (Lorusso нар, 2007). Дөрвөн зүйл микоплазмыг нэгэн зэрэг илрүүлэх бодит хугацааны мультиплекс аргыг саяхан боловсруулжээ (Becker нар, 2012).

1.5.3. Нуклейн хүчлийн молекулыг харьцуулах шинжилгээ

Микоплазм илрүүлэхэд нуклейн хүчлийн молекулыг харьцуулах шинжилгээ ашигладаг. *23 rRNA* ген болон *tuf* генийн бай мужийг төлөөлөх пробыг ашиглан хавьтал халдварт сохор догол өвчний дөрвөн эмгэг төрүүлэгчийг багтаасан нийт 37 зүйлийн микоплазмыг ялган тогтоох аргыг Ишни нар (2012) боловсруулжээ. Энэ арга нийтлэгдэх үед *Ma* болон үхэрт эмгэг төрүүлэгч, удмын ойр хамааралтай *M.Bovis*-ын хооронд солбицох урвал ажиглагдсаныг тэмдэглэжээ. Шинжилгээ хийхэд хялбар, гарах үр дүн баялаг, өртөг бага байдгаараа энэ арга ПГУ-аас давуу талтай.

1.5.4. Шингэнийг лазераар ионжуулан масс спектрометрээр хэмжих (ШЛИМСХ)

Бактери (Randall нар, 2015), түүний дотор микоплазмын зүйлүүд болон хавьтал халдварт сохор догол өвчин үүсгэгч бичил биетнийг ялган тогтооход ШЛИМСХ аргыг ашиглана (Pèreyre нар, 2013). Бичил биетнийг эхлээд өсгөвөрлөх шаардлагатай ба заримдаа холимог өсгөвөрөөс зөвхөн давамгайлж ургасан зүйлийг ялган тогтооно.

1.5.5. Шинжлэх аргачлал

Ma илрүүлэхэд зориулсан дэлгэрэнгүй ПГУ аргад хэд хэдэн лабораторийн хүрээнд үнэлгээ хийсэн бөгөөд (Bashiruddin нар, 2005) харин *Ma* болон бусад хавьтал халдварт сохор догол өвчин үүсгэгчийг илрүүлэх энэ бүлэгт дурдсан молекул түвшний бусад аргад дээр дурдсан хэмжээний үнэлгээ хийгээгүй учир дэлгэрэнгүй оруулаагүй болно.

GAUVRC1-L	CTC-AAA-AAT-ACA-TCA-ACA-AGC
GAUVRC1-R	CTT-CAA-CTG-ATG-CAT-CAT-AA

i) Микоплазмын өсгөвөр эсхүл эмгэгт дээжээс тохирох аргаар ДНХ-г ялгаж авна (Bolske нар, 1988).

ii) ПГУ-ын 50 мкл холимгийг дараах байдлаар бэлтгэнэ: 1 мкл дээжийн ДНХ, тус бүр 30 пмоль праймер, тус бүр 1 мМ дезоксинуклеотид триосфат (dNTP), pH 8.3 бүхий 10 mM Трис/HCl, 1.5 mM $MgCl_2$, 50 мМ KCl, 1.25 мМ U *Taq* ДНХ полимераза.

iii) Холимгийг дулаан сэлгэгчид хийн 35 мөчлөгөөр дараах горимоор ажиллуулна: 94˚С-д 30 секунд, 50˚С-д 30 секунд, праймер холбогдох шат 72˚С-д 1 минут байна.

iv) ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг 0.7% агарозын гельд 110 В-д 2 цаг электрофорезоор гүйлгэн этидиум бромидоор будаж харна. 1.7 kb хэрчим илэрвэл *Ma* байгааг илтгэнэ.

2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ

2.1. Энзим холбоост дархлааны урвал

Хэт авиагаар эсхүл Твин-20-оор боловсруулсан эсрэгтөрөгч ашиглан энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА)-аар ийлдэс дэх *Ma*-ын эсрэгбие илрүүлэх нь ХХУ-аас илүү

мэдрэх чанартай болохыг тогтоожээ (Bergonier нар, 1997). ЕЛИЗА урвалд ижил гарлын эсрэгбие эсхүл G уургийн коньюгат ашигласнаар уг урвал амьтны төрлөөс хамааран өвөрмөц бус байдгийг арилгасан байна (Lambert нар, 1998). Эдгээр коньюгатыг ашигласнаар олон зүйлийн хөхтөн амьтны, түүний дотор тэмээний овгийн амьтны ийлдсийг шинжлэх боломж бүрджээ.

Ma-ыг илрүүлэх хоёр төрлийн ЕЛИЗА цомог худалдаанд гарсан бөгөөд эхний цомог нь дээж дэх эсрэгтөрөгч болох нэгдмэл уургийг онилж холбогдоод илрүүлэх бол (мэдрэх чанар 54%, өвөрмөц чанар 100%), нөгөө цомог нь бүхэл эстэй холбогдон илрүүлнэ (мэдрэх чанар 84%, өвөрмөц чанар хонинд 96%, ямаанд 90%) (Poumarat нар, 2012). Үүнээс гадна өөр өөр омгийн хариу урвалыг ижил түвшинд илрүүлэх чадвар ялгаатай байсан байна. Судалгааны зорилгоос хамааран шинжилгээний аргыг сонгох ба өөрөөр хэлбэл өвчин эндемик тархалттай бүс нутагт халдварын тархалтыг судлахад мэдрэх чанар багатай цомог хангалттай бол эрүүл бүс нутагт өвчнийг илрүүлэхэд мэдрэх чанар илүү өндөр цомог шаардлагатай болно.

Өвчин үүсгэдэг бусад гурван микоплазмын тухайд ЕЛИЗА аргыг өргөн хэрэглэдэггүй.

2.2. Хавсарга холбох урвал

Ma-г илрүүлэхэд зориулсан стандарт хавсарга холбох урвал (ХХУ)-ыг хавьтал халдварт сохор догол өвчний хам шинж үзүүлдэг бусад микоплазмыг илрүүлэхэд ашиглана (Bergonier нар, 1997). Бичил биетнийг угааж, тунгалагшлаар нь стандартчилан хэт авианы аргаар эсхүл натрийн лаурил сульфат ашиглан задалж дараа нь диализд оруулж эсрэгтөрөгч бэлтгэнэ. Ийлдсийг 60˚С-д 1 цаг идэвхгүйжүүлэн хүйтэнд хонуут эсхүл 37˚С-д 3 цаг бэхжүүлсэн бичил таньцын хавтанд шинжилгээ хийнэ. Цус задлуурыг нэмж хяналтын эсрэгтөрөгч бүрэн задарсны дараа урвалыг уншина. Ийлдсийн 1/40 ба түүнээс дээш шингэлэлтэд хавсарга холбогдсон тохиолдолд дараах микоплазмд эерэг дүнтэй гэж үзнэ: *Ma, Mcc, Mm*c. ХХУ-г сургийн түвшинд шинжилгээ хийхэд хэрэглэх ба аль болохоор цочмог өвчтэй болон өвчлөөд эдгэрсэн малтай сүрэг тус бүрээс арваас доошгүй малын ийлдсийн дээж авч шинжилнэ.

Ma-ыг ийлдсээр 1/20 хүртэл шингэрүүлэн хэрэглэх ХХУ-д эрүүл сургийн ийлдэс урвалд ордог бол бусад хоёр эсрэгтөрөгчтэй бага урвалд ордог. Гэвч *Ma*-ийн халдвартай сүргээс авсан 1/80 шингэлэлтэд гомолог хариу урвал өгч байгаа ийлдэс нь эерэг босго болох 1/40 хүртэл шингэлэлттэй бусад хоёр эсрэгтөрөгчтэй солбицох урвалд орж болно. Чанар муутай ийлдсийг ХХУ-аар шинжлэхэд төвөгтэй учир боломжтой бол ЕЛИЗА аргаар шинжлэхийг чухалчилна.

2.3. Иммунблотын урвал

Ma-г илрүүлэх иммунблот аргыг мөн боловсруулсан бөгөөд Итали улсад түүнийг өвчний дэгдэлтийг баталгаажуулах шинжилгээ гэж үздэг (Nicholas, 1998; Tola нар, 1997b). *Ma*-ын эсрэгбие агуулсан ийлдэс 80 ба 55 кДа орчимд тод зурвас үлдээдэг бол эрүүл сургийн малын ийлдэст ямар ч зурвас илрэхгүй эсхүл янз бүрийн хэмжээтэй бүдэг зурвас ажиглагдана. Ийлдсийг 1/50 хүртэл шингэлж эерэг ба сөрөг ийлдсийн хоорондын ялгагдах байдлыг сайжруулдаг (Nicholas, 1998).

Нөгөө талаас Франц улсад *Ma*-д ийлдсийн эерэг урвалтай сүргээс авсан ийлдэс нь 1/5 шингэлэлтэд 80, 48, 40, 30 кДа гэсэн 4 зурвас үзүүлж байвал эерэг гэж үзсэн бөгөөд шингэний дархлааны хариу урвал газар зүйн ялгаатай болохыг харуулж байна.

В. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

Хавьтал халдварт сохор догол өвчнөөс урьдчилан сэргийлэх *Ma*-ын вакциныг Европ тивийн Газрын дундад тэнгисийн орнууд, баруун Азид өргөн хэрэглэж байна. Нийтээр хүлээн зөвшөөрсөн нэг ч вакцин байхгүй бөгөөд вакцин бэлтгэх, түүнийг үнэлэн шалгах стандарт аргыг боловсруулаагүй байна.

1. Хавьтал халдварт сохор догол өвчний вакцин

1.1. Халдварт *Mycoplasma agalactiae*-ын идэвхгүйжүүлсэн вакцин

Европт *Ma*-ын амьд вакцин хэрэглэхийг зөвшөөрдөггүй, гол нь ихэнхдээ формалинаар үхүүлсэн бичил биетэн ашиглах, түүнчлэн тосон эмульстэй хөнгөн цагааны усан исэл зэрэг хүчлүүр ашиглахад анхаарна. Идэвхгүйжүүлэлтийн өмнө бэлдмэлийн таньц маш өндөр (нэг мл-т 10^8–10^{10} колони үүсгэх нэгж) байх ба лабораторийн омгоос гаргаж авна. *Ma, Mmc, Mcc* гурвуулыг агуулсан бэлдмэл зэрэг зарим бүтээгдэхүүн худалдаанд гарсан боловч тэдгээрийн үр нөлөөний талаарх мэдээлэл хомс байна. Формалинаар идэвхгүйжүүлсэн тосон суурьтай вакциныг сааж байгаа хонинд туршихад дархлаа төрүүлэх, сэргийлэх, мөн түүнчлэн *Ma* дамжин халдварлахаас хамгаалдаг нь тогтоогдсон байна (Greco нар, 2002). Гэхдээ худалдаанд гарсан ижил төрлийн бүтээгдэхүүн хэрэглэсний дараа хавьтлын замаар халдвар хийж туршихад дархлаа төрүүлэх идэвх дээрх жижиг хэмжээний туршилтаар илрээгүй.

Хавьтал халдварт сохор догол өвчний хам шинж үзүүлдэг бусад дөрвөн микоплазмын аль нэгээр халдвар авах зарим тохиолдолд вакцины үүсгэх дархлааны хамгаалалт дутмаг байж болно (Gil нар, 1999). Өвчин үүсгэгч бүх дөрвөн зүйлийн микоплазм агуулсан, формалинаар идэвхгүйжүүлсэн, сапонин, хөнгөн цагааны усан исэл хүчлүүртэй, олон цэнт вакцин үр дүнтэй байгааг урьдчилсан туршилт харуулжээ (Ramirez нар, 2001).

Фенол эсхүл сапонинаар идэвхгүйжүүлсэн вакцин нь зориуд хийсэн халдвараас формалин, натрийн гипохлорид эсхүл дулааны аргаар идэвхгүйжүүлсэн вакцинтай харьцуулахад илүү сайн хамгаалж байжээ (Tola нар, 1999).

1.2. Халдварт *Mycoplasma agalactiae*-ын амьд, сулруулсан вакцин

Турк улс *Ma*-ын амьд, сулруулсан вакциныг олон жилийн турш хэрэглэж ирсэн бөгөөд идэвхгүйжүүлсэн вакциныг бодвол эм хонийг хургатай нь илүү сайн хамгаалж байгааг мэдээлсэн байна (Nicholas, 2002). Гэвч микоплазм биеэс ялгарснаар ойр хавьтал бүхий малд халдвар дамжуулж болзошгүй. Амьд вакциныг саалийн малд хэрэглэж болохгүй ба түүнийг хоорондоо нийлэх, ойртох өндөр магадлалтай бүх сүрэг малыг нэг ижил цаг үед вакцинжуулахаар төлөвлөсөн бүс нутагт хэрэглэнэ.

2. Халдварт *Mycoplasma mycoides subsp. capri*-ийн вакцин

Хэдийгээр Газрын дундад тэнгисийн олон улс орон болон Азид идэвхгүйжүүлсэн вакциныг өргөн хэрэглэдэг гэж үздэг ч (Bergonier нар, 1997) *Mmc*-ийн вакцины олдцын талаар сүүлийн үед хэвлэгдсэн мэдээлэл бага байгаа нь тус вакцины үйлдвэрлэл, хэрэглээ тухайн улс орны хэмжээнээс хэтрээгүй байгааг харуулна (Marogna нар, 2015). Энэтхэг улсад эсрэгбиеийн хүчтэй хариу урвал өдөөж, тодорхой хамгаалалт үзүүлдэг сапонинжуулсан вакцины талаар мэдээлсэн байна (Sunder нар, 2002).

3. *Mycoplasma mycoides capri* дэд хэвшил ба *M. putrefaciens*

Хэдийгээр *Mcc* болон *Mp*-ийн халдварын уршиг их байж болох ч тэдгээрийн тархалт харьцангуй бага бөгөөд эдгээр халдвараас хамгаалах вакцинжуулалтын талаар хийсэн бодитой ажил бага эсхүл огт хийгдээгүй байна.

Эш татсан эх сувралжийн жагсаалт

AGNELLO S., CHETTA M., VICARI D., MANCUSO R., MANNO C., PULEIO R., CONSOLE A., NICHOLAS R.A. & LORIA G.R. (2012). Severe outbreaks of polyarthritis in kids caused by *Mycoplasma mycoides* subspecies *capri* in Sicily. *Vet. Rec.*, **170**, 416.

AGNONE A., LA MANNA M., SIRECI G., PULEIO R., USTICANO A., OZDEMIR U., NICHOLAS RAJ., CHIARACANE V., DIELI, F., DI MARCO V. & LORIA G.R. (2013). A comparison of the efficacy of commercial and experimental vaccines for contagious agalactia in sheep. *Small Rumin. Res.,* **112**, 230–234.

BASHIRUDDIN J. (1998). PCR and RFLP methods for the specific detection of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC. *In:* Mycoplasma Protocols, Miles R.J. & Nicholas R.A.J., eds. Humana Press, Totowa, USA, pp 167–178.

BASHIRUDDIN J.B., FREY J., HELTANDER KÖNIGSSON M., JOHANSSON K.E., HOTZEL H., DILLER R., DE SANTIS P., BOTHELLO A., AYLING R.D., NICHOLAS R.A.J., THIAUCOURT F. & SACHSE K. (2005). Evaluation of PCR systems for the identification and differentiation of *Mycoplama agalactiae* and *Mycoplasma bovis*: A collaborative trial. *Vet. J.,* **169**, 268–275.

BECKER C.A., RAMOS F., SELLAL E., MOINE S., POUMARAT F. & TARDY F. (2012). Development of a multiplex real-time PCR for contagious agalacta diagnosis in small ruminants. *J. Microbiol. Methods*, **90**, 73–79.

BERGONIER D., BERTHOLET X. & POUMARAT F. (1997). Contagious agalactia of small ruminants: current knowledge concerning epidemiology, diagnosis and control. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.,* **16**, 848–873.

BOLSKE G., MSAMI H., HUMLESLO N.E, ERNO H. & JOHNSSON L. (1988). *Mycoplasma capricolum* in an outbreak of polyarthritis and pneumonia in goats. *Acta Vet. Scand.,* **29**, 331–338.

BRADBURY J.M. (1998). Identification of mycoplasmas by immunofluorescence. *In:* Mycoplasma Protocols, Miles R.J. & Nicholas R.A.J., eds. Humana Press, Totowa, USA, 119–125.

CATANIA S., GOBBO F., ZCHIAVON E. & NICHOLAS R. (2016). Severe otitis and pneumonia in adult cattle with mixed infection of *Mycoplasma bovis* and *Mycoplasma agalacatiae. Vet. Rec. Case Rep.,* **4**, e000366 doi:10.1136/vetreccr-2016-000366.

CHAZEL M., TARDY F., LE GRAND D., CALAVAS D. & POUMARAT F. (2010). Mycoplasmoses of ruminants in France: recent data from the national surveillance network. *BMC Vet. Res.,* **6**, 32.

CILLARA G., MANCA M.G., LONGHEU C. & TOLA S. (2015). Discrimination between *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* and *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum* using PCR-FLP and PCR. *Vet. J.,* **205**, 421–423.

COTTEW G.S. (1971). Characterisation of mycoplasmas isolated from sheep with pneumonia. *Aust. Vet*. J. **47**, 591–596.

DAMASSA A.J., BROOKS D.L. & ADLER H.E. (1983). Caprine mycoplasmosis: widespread infection in goats with *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (large-colony type). *Am. J. Vet. Res*., **44**, 322–325.

DEDIEU L., MADY V. & LEFEVRE P. C. (1995). Development of two PCRs for the identification of mycoplasmas causing contagious agalactia. *FEMS Microbiol. Lett.,* **129**, 243–250.

GIL M.C., HERMOSA DE MENDOZA M., REY J., ALONSO J.M. POVEDA J.B. & HERMOSA DE MENDOZA J. (1999). Aetiology of caprine contagious agalactia syndrome in Extramudura, Spain. *Vet. Rec.,* **144**, 24–25.

GRECO G., CORRENTE M., BUONOVOGLIA D., ALIBERTI A. & FASANELLA A. (2002). Inactivated vaccine induces protection against *Mycoplasma agalactiae* infection in sheep. *Microbiologica,* **25**, 17–20.

GRECO G., CORRENTE M., MARTELLA V., PRATELLI A. & BOUNOVOGLIA D. (2001). A mulitiplex PCR for the diagnosis of contagious agalactia of sheep and goats. *Mol. Cell. Probes,* **15**, 21–25.

KHAN L.A., LORIA G.R., RAMIREZ A.S., NICHOLAS R.A.J., MILES R.J. & FIELDER M.D. (2004). Biochemical characterisation of some non-fermenting, non-arginine hydrolysing mycoplasmas of ruminants. *Vet. Microbiol.*, **109**, 129–134.

LAMBERT M., CALAMEL M., DUFOUR P., CABASSE E., VITU C. & PEPIN V. (1998). Detection of false-positive sera in contagious agalactia with a multiantigen ELISA and their elimination with a protein G conjugate. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **10**, 326–330.

LORIA G.R., SAMMARTINO C., NICHOLAS R.A.J &. AYLING R.D. (1999). *In vitro* susceptibility of field isolates of *Mycoplasma agalactiae* to oxytetracycline, tylosin, enrofloxacin, spiramycin and lincomycin-spectinomycin. *Res. Vet. Sci.,* **75**, 3–7.

LORUSSO A., DECARO N., GRECO G., FASANELLA A. & BUONOVOGLIA D. (2007). A real-time PCR assay for detection and quantification of *Mycoplasma agalactiae*. *J. Appl. Microbiol*., **103**, 918–923.

MAROGNA G., BARBATO A., FIORI A. & SCHIANCHI G. (2015). Produzione, uso ed efficacia sul campo di un vaccino stabulogeno contro *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* nelle capre. *Large Anim. Rev.* Suppl 1., 5, Anno 19, 104– 106.

MCAULIFFE L., ELLIS R., LAWES J., AYLING R.D. & NICHOLAS R.A.J (2005). 16S rDNA and DGGE: a single generic test for detecting and differentiating *Mycoplasma* species. *J. Med. Microbiol*., **54**, 1–9.

MERCIER P., LENFANT D., POUMARAT F. & PERRIN G. (2001). Prevalence of mycoplasma infection within French milking caprine herds. *In:* Mycoplasmas of Ruminants: Pathogenicity, Diagnostics, Epidemiology and Molecular Genetics, Vol. 5, Poveda J.B., Fernandez A., Frey J. & Johansson K.-E., eds. European Commission, Brussels, Belgium, 130–133.

MONNERAT M.P., THIAUCOURT F., POVEDA J.B., DE LA FE C., NICOLET J. & FREY J. (1999). Genetic and serological analysis of lipoprotein lppA in *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* LC and *Mycoplasma mycoides* subsp. c*apri. Clin. Diagn. Lab. Immunol.,* **6**, 224–230.

NASCIMENTO E.R., NASCIMENTO M.G.F., FREUNDT E.A. & ANDERSEN H. (1986). Isolation of *Mycoplasma mycoides* from outbreaks of caprine mycoplasmosis in Brazil. *Brit. Vet. J*., **142**, 246-257

NICHOLAS R.A.J. (1998). Surveillance for contagious agalactia in Great Britain. *In:* Mycoplasmas of Ruminants: Pathogenicity, Diagnostics, Epidemiology and Molecular Genetics, Vol. 2, Leori G., Santini F., Scanziani E. & Frey J., eds. European Commission, Brussels, Belgium, 95–97.

NICHOLAS R.A.J. (2002). Improvements in the diagnosis and control of diseases of small ruminants caused by mycoplasmas. *Small Rumin. Res.,* **45**, 145–149.

NICHOLAS R., AYLING R. & MCAULIFFE L. (2008). Contagious agalactia. *In: Mycoplasma* Diseases of Ruminants. CABI, Wallingford, UK, pp 98–113.

NICHOLAS R.A.J. & BAKER S.E. (1998). Recovery of mycoplasmas from animals. *In:* Mycoplasma Protocols, Miles R.J. & Nicholas R.A.J. eds. Humana Press, Totowa, USA, 37–44.

PÈREYRE S., TARDY F., RENAUDIN H., CAUVIN E., DEL PRÁ NETTO MACHADO L., TRICOT A., BENOIT F., TREILLES M, & BÉBÉAR C. (2013). Identification and subtyping of clinically relevant humanand ruminant mycoplamsas by use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J. Clin. Microbiol.,* **51**, 3314–3323.

PEYRAUD A., WOUBIT S., POVEDA J.B., DE LA FE C., MERCIER P. & THIAUCOURT F. (2003). A specific PCR for the detection of *Mycoplasma putrefaciens*, one of the agents of the contagious agalactia syndrome of goats. *Mol. Cell. Probes,* **17**, 289–294.

PINHO L.A., THOMPSON G.B., MACHADO M.A., SILVA E.P., SANTOS A.G., GONZÁLEZ R.N. & CARVALHEIRA J.G. (2009). Isolation of *Mycoplasma capricolum* subspecies *capricolum* from a dairy calf. *Vet. Rec.*, **164**, 216–217.

POUMARAT F. (1998). Identification of mycoplasmas by dot immunobinding on membrane filtration (MF Dot). *In:* Mycoplasma Protocols, Miles R.J. & Nicholas R.A.J., eds. Humana Press, Totowa, USA, 113–118.

POUMARAT F., LE GRAND D., GAURIVAUD P., GAY E., CHAZEL M. & BERGONIER F. (2012). Comparative assessment of two commonly used commercial ELISAs for the serological diagnosis of contagious agalactia of smalll ruminants caused by *Mycoplasma agalactiae*. *BMC Vet. Res.*, **8**, 109.

POVEDA J.B. (1998). Biochemical characteristics in mycoplasma identification. *In:* Mycoplasma Protocols, Miles R.J. & Nicholas R.A.J., eds. Humana Press, Totowa, USA, 69–78.

POVEDA J.B. & NICHOLAS R.A.J. (1998). Serological identification of mycoplasmas by growth and metabolic inhibition tests. *In:* Mycoplasma Protocols, Miles R.J. & Nicholas R.A.J., eds. Humana Press, Totowa, USA, 105– 111.

RAMIREZ A.S., DE LA FE C., ASSUNCAO P., GONZALEZ M. & POVEDA J.B. (2001). Preparation and evaluation of an inactivated polyvalent vaccine against *Mycoplasma* spp on infected goats. *In:* Mycoplasmas of Ruminants: Pathogenicity, Diagnostics, Epidemiology and Molecular Genetics, Vol. 5, Poveda J.B., Fernandez A., Frey J. & Johansson K.-E., eds. European Commission, Brussels, Belgium, 154–157.

RANDALL L.P., LEMMA F., KOYLASS M., ROGERS J., AYLING R.D., WORTH D., KLITA M., STEVENTON A., LINE K., WRAGG P., MUCHOWSKI J., KOSTRZEWA M. & WHATMORE A.M. (2015). Evaluation of MALDI-ToF as a method for the identification of bacteria in the veterinary diagnostic laboratory. *Res. Vet. Sci*., **101**, 42–49.

REKHA V., RANA R., THOMAS P., VISWAS K.N., SINGH V.P., AGARWAL R.K., ARUN T.R., KARTHIK K. & SOPHIA I. (2015). Development of loop-mediated isothermalamplification test for the diagnosis of contagious agalactia in goats. *Trop. Anim. Health Prod.*, **47**, 581–587.

RODRIGUEZ J.L., POVEDA J.B., GUTIERREZ C., ACOSTA B. & FERNANDEZ A. (1994). Polyarthritis in kids associated with *Mycoplasma putrefaciens*. *Vet. Rec.,* **135**, 406–407.

SANNA G., LECCA V., FODDAI A. & TOLA S. (2014). Development of a specific immunomagnetic capture-PCR for rapid detection of viable *Mycoplasma agalactaie* in sheep milk samples. *J. Appl. Microbiol.*, **117**, 1585–1591.

SCHNEE C., SCHULSE S., HOTZEL H., AYLING R.D., NICHOLAS R.A.J., SCHUBERT E, HELLER M., ERICHT R. & SACHSE K.

(2012). A novel rapid DNA microarray assay enables identification of 37 mycoplasma species and highlights multiple mycoplasma infections. PLoS ONE, **7**, e33237.

SEERSHOLM F.V., FISCHER A., HELLER M., JORES, J. SACHSE K., MOURIER T. & HANSEN A.J. (2015). Draft genome Sequence of the First Human Isolate of the Ruminant Pathogen *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum. Genome Announc*., **3**, e00583-15.

SUBRAHAMANIAM S., BERGONIER D., POUMARAT F., CAPUAL S., SCHLATTER Y., NICOLET J. & FREY J. (1998). Species identification of *Mycoplasma bovis* and *Mycoplasma agalactiae* based on the uvrC gene by PCR. *Mol. Cell. Probes*, **12**, 161–169.

SUNDER J., SRIVASTAVA N.C. & SINGH V.P. (2002). Preliminary trials on development of vaccine against *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* type LC infection in goats. *J. Appl. Anim. Res.,* **21**, 75–80.

TATAY-DUALDE J., SÁNCHEZ A., PRATS-VAN DER HAM M., GÓMEZ-MARTIN A., CORRALES J.C., DE LA FE C., CONTRERAS A. & AMORES J. (2015). Sensitivity of two methods to detect *Mycoplasma agalactiae* in goat milk. *Ir. Vet. J.,* **68**, 21.

TOLA S., ANGIOI A., ROCCHIGIANI A.M., IDINI G., MANUNTA D., GALLERI G. & LEORI G. (1997a). Detection of *Mycoplasma agalactiae* in sheep milk samples by polymerase chain reaction. *Vet. Microbiol*., **54**, 17–22.

TOLA S., MANUNTA D., COCCO M., TURRININ F., ROCCHIGIANI A.M., IDINI G., ANGIOI A. & LEORI G. (1997b). Characterisation of membrane surface proteins of *Mycoplasma agalactiae* during natural infection. *FEMS Microbiol. Lett.,* **154**, 355–362.

TOLA S., MANUNTA D., ROCCA S., ROCCHIGIANI A.M., IDINI G., ANGIOI P.P. & LEORI G. (1999). Experimental vaccination against *Mycoplasma agalactiae* using different inactivated vaccines. *Vaccine*, **17**, 2764–2768.

VERBSICK G., GONZALEZ M., GALIAN J., CUBERO M.J., MARTIN P. & LEON-VIZCAINO L. (2008). Epidemiology of Mycoplasma agalactiae infection in free-ranging Spanish ibex (*Capra pyrenaica*) in Andalusia, southern Spain. *J. Wildlife Dis.,* **44**, 369–380.

*
* *

ЖИЧ: Хавьтал халдварт сохор догол өвчнийг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори бий.
(Дэлгэрэнгүй мэдээллийг ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас авна уу:
https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

Хавьтал халдварт сохор догол өвчнийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудтай холбогдож авна уу.

ЖИЧ: 1990 ОНД АНХ, 2018 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

БҮЛЭГ 42 (3.8.4)

ГОДРОН ӨВЧИН (ЯМААНЫ УУШГИ ГЯЛТАНГИЙН ХАВЬТАЛ ХАЛДВАРТ ҮРЭВСЭЛ)

А. УДИРТГАЛ

Ямааны хавьтал халдварт уушги гялтангийн үрэвсэл буюу ямааны годрон өвчин (ЯГӨ) ямаанд *Mycoplasma capricolum*-ын *capripneumoniae* (*Mccp*) дэд зүйлээр үүсдэг, Африк, Азийн олон улсад тохиолддог хүнд явцтай өвчин юм. Өвчний цочмог хэлбэрийн үед нэг талын уушги гялтангийн ийлдэс-ширхгэнцэрт үрэвсэл үүсэж цээжний хөндийд шингэн ихээр хуримтлагдана (Thiaucourt, 2018; Thiaucourt & Bolske, 1996). Годрон өвчнийг бас пригоупнемони контэйжус каприн (Франц), боу-фрида (Алжир), аву виви (Судан) гэж бас нэрлэнэ.

Ангилал зүйн үүднээс авч үзвэл анх *Mccp* нь “микоидесийн кластерт” (Manso-Silvan нар, 2007) багтаж байсан бөгөөд 1993 онд (Leach нар, 1993) дэд зүйл болохыг нь хүлээн зөвшөөрчээ. Үүсгэгчид хамгийн ойр хамааралтай *Mycoplasma capricolum*-ын *capricolum* дэд зүйл болон *M. leachii* нь *Mccp*-тай солбицох урвалд орж болзошгүй *M. mycoides*-ийн дэд зүйл болох *capri* эсхүл *mycoides* зэрэг микоидсын кластерийн бусад гишүүд ч эдгээртэй ижил төстэй шинж чанар агуулна. *Mccp* нь өсгөвөрлөхөд нэн төвөгтэй, шингэн тэжээлт орчинд бага зэргийн нэлэнхий булингар үүсгэх эсхүл хатуу тэжээлт орчинд 5-15 хоногийн дараа колони үүсэж болно. Үүсгэгчийг ялган авах оролдлого ихэнхдээ амжилт олдоггүй учир түүнийг ПГУ гэх мэт молекулын өвөрмөц аргаар илрүүлэх нь илүү хялбар байна (Woubit нар, 2004).

Энэ өвчний талаар анх 1873 онд Алжир улсад тодорхойлон бичжээ. Тун удалгүй 1881 онд авчирсан Ангор ямаагаар дамжин Өмнөд Африкт нэвтэрсэн байна. Халдвар авсан ямааг устгах, хавьталтай байсныг нь уламжлалт вакцинжуулах аргыг хослуулах бодлого хэрэгжүүлэн уг өвчнийг устгажээ (Hutcheon, 1889). Энэ бичил биетнийг Кени улсад анх удаа ялган авч түүгээр годрон өвчин үүсдэг болохыг тогтоосон (MacMartin нар, 1980; MacOwan & Minette, 1976) ба улмаар Чад, Эритрей, Этиоп, Нигер, Оман, Судан, Танзани, Тунис, Турк, Уганда, Арабын Нэгдсэн Эмират, саяхан Мавритан (Srivastava нар, 2010), БНХАУ (Chu нар, 2011), Тажикстан (Amirbekov нар, 2010), Саудын Арабд (El Deeb нар, 2017) үүсгэгчийг ялган авсан байна. ЯГӨ нь Европын эх газар нутагт 2004 онд буюу Турк улсын Европ тивд харьяалагдах газар нутагт энэ өвчний дэгдэлт батлагдаж зарим сүргийн ишиг, бие гүйцсэн ямааны 25 хүртэлх хувь нь хорогдож байсан тэр үеэр анх бүртгэгджээ (Ozdemir нар, 2005). Гэвч энэ өвчний жинхэнэ тархалт тодорхойгүй бөгөөд годрон өвчин амьсгалын замын бусад өвчнүүдтэй андуурагдах нь элбэг, бас энэ өвчний үүсгэгчийг ялган авахад хэцүү байдаг учраас ЯГӨ-ий тархалт *Mccp*-г ялган авсан улс орнуудын эзлэх нутгаас хамаагүй өргөн хүрээнд тархсан байж болзошгүй.

Ямаа, хонь холилдсон сүрэгт ЯГӨ дэгдэхэд хонь мөн халдвар авах боломжтой нь хониноос *Mccp* үүсгэгчийг ялган авснаар (Bolske нар, 1995), эмнэл зүйн шинжээр өвчилсөн хонинд эсрэгбие илрүүлснээр батлагджээ. *Mccp*-ийг мөн эрүүл хониноос ялган авсан (Litamoi нар, 1990) ба хонь өвчний эх үүсвэр болдог эсэхийг тогтоох шаардлагатай.

Катар улсын зэрлэг амьтны хамгаалалтын бүс нутагт байсан зэрлэг хивэгч амьтанд ЯГӨ анх батлагджээ. Өвчнөөр зэрлэг ямаа (*Capra aegagrus*), Нюбиан янгир (*Capra ibex nubiana*), Ларистан Муфлон (*Ovis orientalis laristanica*), Геренук (*Litocranius walleri*) өвчилж өвчлөл, хорогдлын хувь багагүй байсан байна (Arif нар, 2005). Мөн энэ өвчин Арабын Нэгдсэн Эмират улсад зээрэнд бүртгэгджээ. Төвд гөрөөс (*Pantholops hodgsonii*) (Yu нар, 2013), Арабын орикс гөрөөс (*Oryx leucoryx*) (Chaber нар, 2014) зэрэг олон тооны зэрлэг хивэгч амьтан мэдрэмтгий болох нотолгоо улам бүр нэмэгдсээр байна. Элсний хар сүүлт зээрд (*Gazella Marica*) хорогдлын түвшин 70% хүртэл хүрч, халдварын цааш дамжин тархалтыг (R_0) 2.3 гэж тогтоожээ (Lignereux нар, 2018).

ЯГӨ хүнд халдварлахгүй. *Mccp*-ээр хүн халдварлах эрсдэлтэй эсэх мэдээлэл байхгүй. Энэ гарын авлагын 1.1.4 *Биоаюулгүй ажиллагаа ба биохамгаалал: Мал эмнэлгийн лаборатори, амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандарт* бүлэгт тодорхойлсон эрсдэлийн дүн шинжилгээнд тулгуурлан биотусгаарлалтын арга хэмжээг тодорхойлно.

Ямаанд адил төстэй шинж тэмдэг үзүүлдэг хэд хэдэн зүйлийн микоплазм халдварладаг учраас хээрийн нөхцөлд годрон өвчнийг ялгаварлан оношлох хэцүү байж болох юм. Гэвч зөвхөн нэг талын уушгийг хамарч гялтан хальс нь илт үрэвсэж цээжний хөндийд шингэн ихээр хуримлагдах маягаар эмгэгшил нь амьсгалын замаас хэтрэхгүй бол годрон өвчинд сэжиглэж болно. ЯГӨ мөн бог малын мялзан өвчин, цусан халдвар өвчинтэй андуурагдаж боолзошгүй.

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Ямаанд амьсгалын эрхтний өвчин, годрон өвчин ялангуяа энзоот байдлаар дэгдэхэд түүнийг оношлоход хүндрэлтэй. Годрон өвчнийг микоидисийн кластерт багтдаг бусад микоплазмаар үүсдэг эмнэл зүй, эмгэг бие бүтцийн хам шинжүүдээс болон хонь бас мэдрэмтгий байдаг бог малын мялзан өвчин, уушгины эдийн эмгэг өөрчлөлтийн тархалтаар ялгаварлах боломжтой цусан халдвар болон халдварт сохор догол өвчнөөс ялгаварлах шаардлагатай (Nicholas & Churchward, 2011; Thiaucourt & Bolske, 1996). *Mccp*-ээр үүсдэг годрон өвчин мэдрэмтгий ямаанд хавьтлаар нас, хүйс харгалзахгүй амархан халдварлах ба харин хонинд халдварлах нь ховор, үхэрт огт халдварлахгүй.

M. mycoides subsp. *capri* (*Mmc*) зэрэг бусад микоплазм задлан шинжилгээгээр ч ЯГӨ гэж андуурам эмгэг хувирал үүсгэнэ. Гэвч *Mmc* нь ихэвчлэн үений үрэвсэл, дэлэнгийн үрэвсэл, нүдний эвэрлэг бүрхэвчийн үрэвсэл зэрэг бусад шинж тэмдгээр илэрнэ. Mmc хавьтал халдварт сохор догол өвчний (3.8.3 дугаар бүлэг үзэх) нэг үүсгэгч бөгөөд *in vitro* нөхцөлд ургадаг учраас *Mccp*-тэй үл андуурагдана.

Хүснэгт 1. Эдүгээ ЯГӨ-ийг оношлоход хэрэглэж байгаа лабораторийн арга, түүний зорилго

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүйг тогтоох	Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах	Халдварын тархалт тогтоох - тандалт	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгчийг илрүүлэх [а]						
In-vitro өсгөвөр[б]	–	–	–	++	–	–
Молекул шинжилгээ (ПГУ)	–	–	–	+++	–	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ХХУ	–	–	+	++	+	–
Латекс НУ	+	+	–	+++	+	–
Ө-ЕЛИЗА	+++	++	–	++	+++	+++

Түлхүүр үг:
+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
++ = энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй
ПГУ = полимеразагийн гинжин урвал;
ХХУ = хавсарга холбох урвал
Ө-ЕЛИЗА = энзим холбоост дархлааны өрсөлдөөнт урвал.
[а]Үүсгэгчийг ялган таних төрөл бүрийн шинжилгээг эмнэл зүйн нэг ижил сорьцод хийхийг зөвлөдөг.
[б]Ялган авсан бичил биетнийг молекулын, биохимийн, дархлаа судлалын баталгаажуулах аргаар шинжилнэ.

1. Үүсгэгчийг илрүүлэх

1.1. Уушгины шүүрэл, дардаст түрхэц эсхүл зүсмэгийг микроскопоор дурандах

Эмгэг бичил бүтцийн хувьд *Mccp* нь уушгины дэлбэнгийн дотор тал болон уушгины завсрын эдийг хамарсан хаван бүхий уушгины завсрын эдийн үрэвсэл үүсгэдэг онцлогтой (Kaliner & MacOwan, 1976). *In vivo* нөхцөлд гэмтсэн эд эсхүл цээжний хөндийн шингэнээс бэлтгэсэн шүүдэс эсхүл эдийн цийдмэгийг микроскопоор бараан дэвсгэр дээр харахад

үүсгэгч нь салбарласан утаслаг хэлбэртэй харагдана. Үүнээс гадна уушгины гэмтсэн хэсгийн огтлолын гадаргуугийн түрхцийг Мей-Грюнвад-Гимзийн аргаар будаж гэрлийн микроскопоор шалгана. Ямааны бусад микоплазм богино утаслаг эсхүл коккбацилл хэлбэртэй байна. Дурдсан эдгээр аль ч аргаар яг оносон онош тогтоохгүй.

1.2. Молекул шинжилгээгээр ялган тогтоох, хэвшил тогтоох: полимеразагийн гинжин урвал

Mccp-ийг өвөрмөцөөр ялган тогтоох хоёр янзын полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ)-ыг тодорхойлон нийтэлжээ. Эхнийх нь микоидесийн кластерт ордог микоплазмын рРНХ-ийн 16S генийг олшруулахад суурилна (Bascunana нар, 1994). ПГУ-ын бүтээгдэхүүнд ампликоныг ялган тогтоохын тулд энзимээр таслагдах хэрчмийн шинжилгээнд оруулна. Хоёрдох нь (Woubit нар, 2004) дор үзүүлсэн праймерийн дарааллыг (Mccp-spe-F/R) тусгайлан олшруулахад үндэслэгдэнэ.

Mccp-spe-Хөтлөх: 5’-ATC-ATT-TTT-AAT-CCC-TTC-AAG-3’

Mccp-spe-Буцаах: 5’-TAC-TAT-GAG-TAA-TTA-TAA-TAT-ATG-CAA-3’

ПГУ-ын нөхцөл нь: эхний денатурацын шат 94°C-д 2 минут, дараа нь 94°C-д 30 секундээр 35 мөчлөг, 47°C-д 15 секунд, 72°C-д 15 секунд, сүүлийн уртасгалтын шат 72°C-д 5 минут байна. Олшруулалтын үр дүнд 316 хос суурь урттай бүтээгдэхүүн гарна.

Эдгээр праймерийг тоон үзүүлэлт бүхий ПГУ-д ашиглаж болно (Lorenzon нар, 2008).

Дулаан сэлгэгчгүйгээр хээрийн нөхцөлд явуулж болох ПГУ (Liljander нар, 2015), бодит цагийн урвуу транскрипцт, нэг шатат мултиплекс ПГУ-ыг (Settypalli нар, 2016) *Mccp*-ийг илрүүлэхэд мөн ашиглаж болно.

Эдгээр ПГУ-аар уушгины эд, цээжний хөндийн шингэн, үүний дотор шүүлтүүрийн цаасанд шингээсэн шингэн зэрэг эмнэл зүйн сорьцоос дээж бэлтгэн шууд шинжилж болно (Bölske нар, 1996). *Mccp*-ийг өсгөвөрлөх хэцүү учраас ЯГӨ-ийг оношлоход ПГУ-ыг сонгон хэрэглэдэг. Гэхдээ *Mccp*-ийг өсгөвөрлөн ялган авах нь онош баталгаажуулах арга хэвээр байна. Генийн олон локусын дарааллаар нь хэвшил тогтоох аргаар (Manso-Silván нар, 2007) микоидсын кластерийн бүх микоплазмын удам зүйн байршлыг нарийн тогтоож болно.

1.3. Эдийн дээжид эсрэгтөрөгч илрүүлэх гельд тунадасжуулах урвал

Mccp-ийн нийлэгжүүлж гаргадаг эсрэгтөрөгчийн чанартай полисахаридад өвөрмөц ижил гарлын эсрэгбие (ИГЭБ) (WM-25) гарган авчээ (Rurangirwa нар, 1987c). Энэхүү ИГЭБ-нь *Mccp*-ийн гаргадаг полисахаридтай агарын гельд дархлааны тунадасжих урвалд орж ЯГӨ-ий үүсгэгчийг, ялангуяа тээвэрлэлтийн явцад сорьц муудаж өсгөвөрлөх боломжгүй болсон үед ялган тогтооход хэрэглэнэ. ЯГӨ-өөр өвчилж өнгөрсөн ямааны ийлдэс хэрэв тунадасжуулж чадаж байвал ИГЭБ-ийг орлуулан хэрэглэж болно. Тунадасжуулах урвал нь бүрэн өвөрмөц байж чадахгүй бөгөөд ялангуяа *M. leachii*-тэй солбицох урвалд орно. Хандалж авсан гадна талын полисахаридийн шинж чанарыг цөмийн соронзон үелзүүрийн аргаар тогтоож *Mccp* болон *M. leachii* дэх β(1→2)-глюкопиранозе (глюкан) нэг ижил полимер болохыг ялган тогтоосон байна (Bertin нар, 2015).

1.4. Микоплазмыг ялган авах

1.4.1. Сорьц сонгох

Задлан шинжилгээнээс уушгины гэмтсэн хэсэг, ялангуяа хөвсгөр болон нягтарсан хэсгийн заагаас, цээжний хөндийн шингэн, голчийн тунгалгийн зангилаанаас сорьц авна. Хэрэв бичил амь судлалын шинжилгээг яаралтай хийх боломжгүй бол авсан сорьцыг эсхүл бүтэн уушги аваад –20°C-д харьцангуй удаан (сараар) хугацаагаар хадгалж болох ба ингэхэд микоплазмын амьдрах чадвар бага зэрэг алдагдана. Температур нэмэгдэхийн хэрээр микоплазмын амьдрах чадвар буурах тул сорьцыг аль болохоор сэрүүн нөхцөл бүрдүүлж тээвэрлэнэ. Уушгины сорьцыг хөлдөөгөөд бусад лабораторид илгээж болно.

1.4.2. Сорьц боловсруулах

Арчдасыг 2-3 мл тэжээлт орчинд дүрж зайлна. Эдийн сорьцыг хайчаар жижиглээд 1 г эдийг 9 мл тэжээлт орчинд хийж хүчтэй сэгсрэх эсхүл сайтар няцалж өгнө. Эдийн сорьцыг нунтаглахгүй. Цийдмэгийг ихэвчлэн микоплазмын тэжээлт орчинд бэлтгэх ба хэрэв бактери судлалын шинжилгээ хамт хийхээр бол мах пептоны шөл зэрэг бактери судлалд хэрэглэдэг өндөр чанарын тэжээлт орчин хэрэглэж аль ч шинжилгээ хийхэд тохирох цийдмэг бэлтгэнэ. Цээжний хөндийн шингэн эсхүл эдийн цийдмэг, арчдасыг микоплазмын сонгон авсан тэжээлт орчинд наад зах нь гурваас арав дахин (10^{-4} нийтлэг) дараалан шингэлнэ. Хийсэн шингэлэлтээсээ хатуу тэжээлт орчинд татан тарилт бас хийх хэрэгтэй.

1.4.3. Микоплазмын тэжээлт орчин

Mccp бичил биетнийг өсгөвөрлөхөд МакАунь, Минед нарын хэрэглэсэн (MacOwan & Minette, 1976), ямааны мах, элэгний шөл, ийлдэс орсон тэжээлт орчныг “ямааны мах, элэг” (VFG) хэмээн нэрлэдэг. Тэжээлт орчны өөр тохирох хувилбар нь Хейфликсийн өөрчилсөн WJ, Ньювингийн өөрчилсөн триптозын шөл (Kibor & Waiyaki, 1986) юм. *Mccp*-ийг анхлан ялган авах, эсрэгтөрөгч үйлдвэрлэх аль алинд нь 0.2%-ийн (эсхүл 0.8% хүртэл) натрийн пуриватаар баяжуулсан тэжээлт орчин илүү сайн тохирч байсан байна (Mohan нар, 1990; Thiaucourt нар, 1992).

i) ЯГӨ-ий тэжээлт орчин

а. Автоклавдаж бэлтгэсэн хэсэг (121°C-д 15 минут)

PPLO (уушги гялтан хальсны үрэвсэл төст бичил биетэн) шөл, кристал ягаан агуулаагүй (21 г); ионгүйжүүлсэн ус (700 мл).

б. Мембран шүүлтүүрээр шүүж бэлтгэсэн хэсэг

56°C-д 30 минут идэвхгүйжүүлсэн адууны (гахай эсхүл илжиг байж болно) ийлдэс (200 мл); хөрөнгийн шинэ хандмал (100 мл); глюкоз (0.5 г/мл ариун уусмал) (2 мл); натрийн пируват (0.5 г/мл ариун уусмал) (8 мл).

Б хэсгийг А хэсэгт үжилгүй аргаар нийлүүлнэ. Анхдагч уусмалыг бохирдохоос хамгаалж ампицилин (0.1 г/литр) болон цуу хүчлийн тали (250 mг/литр) нэмж болно. Тэжээлт орчны эцсийн pH 7.4–7.6 байна.

ii) ЯГӨ-ий өөрчилсөн тэжээлт орчин

а. Автоклавдаж бэлтгэсэн хэсэг (121°C-д 15 минут)

PPLO шөл, кристал ягаан агуулаагүй (17.5 г); ионгүйжүүлсэн ус (650 мл).

б. Мембран шүүлтүүрээр шүүж бэлтгэсэн хэсэг

56°C-д 30 минут идэвхгүйжүүлсэн адууны (гахай эсхүл илжиг байж болно) ийлдэс (250 мл); хөрөнгийн шинэ хандмал (100 мл); глюкоз (4 мл); натрийн пируват (8 мл); 5% цуу хүчлийн талли (4 мл); ампицилин (250); 0.5% фенолын улаан (4 мл). Идэмхий натри эсхүл давсны хүчлээр pH-ийг 7.8-д тааруулна. Б хэсгийг А хэсэгт үжилгүй аргаар нийлүүлнэ.

1.4.4. Тэжээлт орчин бэлтгэх, хадгалах, чанарыг шалгах

Тэжээлт орчны зарим бүрэлдэхүүн хэсгийг ялангуяа ийлдэс, хөрөнгийн ханд, ионгүйжүүлсэн усыг мккоплазмын тэжээлт орчинд нийлүүлэхийн өмнө өсөлт идэвхжүүлэх нөлөөтэй эсэхэд хяналт шинжилгээ хийнэ. Тандан илрүүлэх зорилготой энэ ажилд цөөн зорчуулсан хээрийн өсгөврийг ашиглана.

Шөлөн тэжээлт орчныг хэрэглэхийн өмнө –25°C-д 6 сараас багагүй хугацаагаар хадгалж болох ба харин эцэслэн жижиглэн савлах хүртэл пенициллин эсхүл түүнтэй адилхан үйлчлэлтэй бодисыг нэмэхгүй байх хэрэгтэй. Шөлөн тэжээлт орчныг тун шил (1.8 мл эсхүл 2.7 мл) эсхүл эргэддэг таглаатай цодонд (4.5 мл) жижиглэн савлаад 4°C-д 3 долоо хоног хүртэл хадгална. Хатуу тэжээлт орчныг агароз (0.9% [ж/э]), Нобел агар (1.5% [ж/э]), цэвэршүүлсэн агараар хийвэл хамгийн сайн (0.6% [ж/э]) болно. Агарыг Петрийн аяганд 6-8 мм зузаан цутгаад хэрэглэх үедээ аль болохоор шинэ байлгах, хэрэглэхийн өмнө 4°C-д 2 долоо хоногоос

хэтрүүлэлгүй хадгалах хэрэгтэй. Бүх тэжээлт орчны чанарыг шалгах ба жижигхэн тарилтаас *Mycoplasma* spp-ыг ургуулж чаддаг бах хэрэгтэй. Сэжигтэй дээжийг лавлагааны омогтой хамт ургуулж зөв өсгөвөрлөж байгаа эсэхээ хянана.

1.4.5. Өсгөвөрлөлт

Өсгөврийг 37°C-д ургуулна. Аягатай өсгөврийг 5% CO_2 бүхий 95% агаар эсхүл N_2 чийгтэй агаарт эсхүл чийг үүсгэгч бүхий лааны сав ашиглан өсгөвөрлөнө. Өсгөврийг агааргүй нөхцөлд өсгөвөрлөж болно.

Шөлөн өсгөврийн өнгө өөрчлөгдөх, хөвмөл зүйл үүсэх зэрэг бичил биетэн өсгөвөрлөгдөж байгаагийн илрэлийг өдөр бүр шалгана. Их булингартах нь бактериар бохирдсоны шинж бөгөөд ийм өсгөврийг сэлгэн өсгөвөрлөхийн өмнө 0.45 мкм сүвтэй мембран шүүлтүүрээр шүүнэ. Шөлөн орчны өсгөврийг сэлгэн өсгөвөрлөхдөө өмнөх эзлэхүүний аравны нэг хэмжээгээр шинэ шөлөн орчинд суулгах эсхүл агартай орчинд бичил амь судлалын гогцоогоор татан тарилт хийнэ.

Аягатай өсгөврийг 1-3 хоног тутамд нэвт болон оймол гэрэлтүүлэгтэй стерео микроскоп (×5–50 өсгөдөг) ашиглан шалгана. Хэрэв 15 хоногийн хугацаанд сөрөг байсан бол өсгөврийг устгана. Тусдаа байгаа колонийг оруулан зүсэж авсан агарын блокыг агарт (блокын дээд талыг доош харуулан дарж суулгах) аль эсхүл шөлөн тэжээлт орчинд шилжүүлж сэлгэн өсгөвөрлөнө. Үүний оронд нэг колони бүхий агарыг Пастерийн сорууруар аваад шинэ шөлөн тэжээлт орчинд хийж болно.

Өсгөврийг хувилах, цэвэршүүлэхдээ хэлбэр зүйн хувьд өөр харагдаж байгаа төрөл тус бүрийг төлөөлөх дан колонийг дахин давтан шилжүүлэх арга хэрэглэнэ. Колонийн хэлбэр нь хэрэглэсэн тэжээлт орчин, микоплазмын зүйл, түүнийг зорчуулсан. түвшин, өсгөврийн насжилтаас хамаарна.

Зорчуулалтын эхэн үед микоплазмын олон зүйл сонин хэлбэртэй, ихэвчлэн жижиг, төвгүй, сарнимал колони үүсгэдэг. Үүнд ихэнхдээ тэжээлт орчны тохиромж нөлөөлнө. Зорчуулах тусам *M. ovipneumoniae*-аас бусад өсгөвөр нь ердийн “шарсан өндөг” шиг колонийн хэлбэр үүсгэх ба колони нь төвгүй байна. *M. mycoides* subsp. *capri*-ийн колониуд 3 мм хүртэл голчтой байдаг.

Сэлгэн өсгөвөрлөхийн өмнө шөлөн орчны өсгөврийг 0.45 мкм сүвтэй шүүлтүүрээр шүүх нь эсийн бөөгнөрлийг арилган цэвэршүүлэх ач холбогдолтой.

Бактерийн L-хэлбэрт сэжиглэм өсгөврийг антибиотик болон таллийн ацетат ороогүй микоплазмын хатуу тэжээлт орчинд 3-5 удаа зорчуулж бактерийн хэлбэртээ эргэн сэргэж байгаа эсэхийг шалгана.

Эхний өсгөвөрлөлтөд ашигласан шөлөн тэжээлт орчинд 7 хоногтоо ургалт илрэхгүй байвал таамгаар сэлгэн өсгөвөрлөнө.

Дээж тус бүрийн шөлөн орчны өсгөврийг, үүний дотор таамгаар хийсэн нэг сэлгээ өсгөврийг наад зах нь 3 долоо хоног шалгасны дараа өсгөвөрлөхөө зогсооно. Шөлөнд таньцлалт хийхдээ хэрэв бүрэн (10–10 хүртэл) хийж байгаа бол үр дүнг мөн 3-4 долоо хоногт нь уншиж шилжүүлсэн эзлэхүүн тус бүрийн өнгө өөрчлөгдөх нэгжээр илэрхийлнэ. Аяган дээрх ургалтыг нэг мл тутмын колони үүсэх нэгж (КҮН)-ээр илэрхийлнэ.

1.5. Микоплазмыг ялган тогтоох

Микоплазмыг ялган тогтоох оролдлого хийхээс өмнө зэрлэг омгийг 3 удаа зорчуулахаас гадна хувилахыг эрхэмлэнэ.

1.5.1. Полимеразагийн гинжин урвал

Бичил биетнийг өсгөвөрлөсний дараа *Mccp* мөн эсэхийг ПГУ-аар 1 хоногийн дотор баталгаажуулна. Энэ бүлгийн Б.1.2-ыг үзэх.

ЯГӨ-ий молекул эпидемиологийн судалгаанд ПГУ болон дараалал тогтоох шинжилгээг ашиглана. *Mccp*-ийн омгуудын багцыг төлөөлөх таван бүлгээс бүрдэх

хоёр үндсэн шугамын вирусийг илрүүлдэг олон локусын дараалал тогтоох (ОЛДТ) шинжилгээ (Manso-Silvan нар, 2011) нэвтэрч байна.

Mccp-ийн омгуудыг ялган тогтооход ПГУ (болон дараалал тогтоох арга) нь хурдан, найдвартай учраас түүнийг бусад аргаас түлхүү хэрэглэж байна. Гэвч бохирдлоос хамгаалахын тулд ПГУ-ыг маш их болгоомжтой хэрэглэх хэрэгтэй (2.1.2. *Халдварт өвчний оношилгоонд гарсан биотехнологийн дэвшил* бүлгээс лавлах). *Mccp*-ийн бүтэн геномын дараалал тогтоох нь хэвшил тогтоох шалгарсан арга юм. Зарим *Mccp*-ийн геномын мэдээлэл нийтэд аль хэдийн нээлттэй болсон (Chen нар, 2017; Dupuy & Thiaucourt 2014; Falquet нар, 2014) бөгөөд ирэх жилүүдэд илүү их мэдээлэл хуримтлагдана.
(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/neighbors/521?&genome_assembly_id=300226).

1.5.2. Биохимийн сорил

Биохимийн сорилоор өсгөврийг мадаггүй танихгүй ба зөвхөн генетикийн аргаар л ялган тогтооно.

Нийтлэг хэрэглэдэг нь глюкоз задлах (*Mccp:* эерэг), арганины усжин задрах (*Mccp:* сөрөг), хальс болон толбо үүсэх (*Mccp:* сөрөг), агаартай болон агааргүй нөхцөлд хлорт тетразол ангижрах (*Mccp:* +/++), фосфатын идэвх (*Mccp:* сөрөг), ийлдэс усжин задрах (*Mccp:* сөрөг), дигитонинд мэдрэг байдлын (*Mccp:* эерэг) сорил юм.

1.5.3. Ийлдэс судлалаар ялган тогтоох

Хэт дархлаат ийлдэс бэлтгэхэд хэрэглэх микоплазмын эсрэгтөрөгч нь голдуу тэжээлт орчны бүрэлдэхүүн хэсгээс бохирдсон байдаг. Үүсгэгчийг ялган тогтоох ийлдэс судлалын шинжилгээ хийхэд эдгээр бохирдуулагчийн нөлөөгөөр идэвхжсэн эсрэгбиеүүд хуурамч эерэг урвал өгдөг. Ийм асуудал гаргахгүйн тулд эсрэгтөрөгч бэлтгэхэд хэрэглэх тэжээлт орчныг эсрэг ийлдсэнд шингээх (хөлдөөн хатаасан 10 мг тэжээлт орчныг 1 мл эсрэг ийлдсэнд), эсхүл эсрэгтөрөгч болгон ашиглах микоплазмыг нэг удмын амьтны гаралтай бүрэлдэхүүн хэсэг бүхий тэжээлт орчинд ургуулах, ж.нь. ямааг дархлаажуулахын тулд VFG тэжээлт орчинд өсгөвөрлөнө.

1.5.3.1. Өсөлт саатуулах урвал

Өсөлт саатуулах урвал (ӨСУ) нь хэрэглэх шинжилгээнүүдээс хамгийн энгийн бөгөөд илүү өвөрмөц арга юм. Хатуу тэжээлт орчин дээрх үүсгэгчийн ургалтыг өвөрмөц хэт дархлаат ийлдсээр шууд саатуулах ба гадаргуугийн эсрэгтөрөгчийг давамгайлан илрүүлнэ.

Mccp нь ийлдэс судлалын хувьд маш адилхан шинж чанартай бөгөөд шинжилж байгаа омгийн эх үүсвэрээс үл хамааран эсрэг ийлдэс омгийг колони үлдээлгүйгээр өргөн бүс үүсгэн саатуулах нь ажиглагдана (Jones & Wood, 1988). *Mccp* нь *M. leachii* (PG50), *M. equigenitalium, M. primatum*-тэй ӨСУ-д олон гарлын эсрэгбие хэрэглэсэн нөхцөлд солбицох урвалд ордог учир ӨСУ-д хэрэглэх *Mccp*-д өвөрмөц ИГЭБ гарган авсан байна (Rurangirwa нар, 1987c). Энэхүү ИГЭБ болох WM25-нь өсөлт саатуулах зээрэнцгийн шинжилгээнд хэрэглэхэд *Mccp*-д өвөрмөц бөгөөд *M. agalactiae* болон ямаа өвчлүүлдэг микоидсын кластерд ордог бусад микоплазмыг үгүйсгэдгийг-ялгаварладгийг мэдээлжээ. Харин энэ урвалжаар үхрийн 7 бүлгийг (үндсэндээ ямаанд тохиолддоггүй) үгүйсгэхгүй бөгөөд колонийг шууд бус флюресценцийн аргаар шинжилж ялгаварлана. Бас *Mccp* өсгөврийн багахан хэсэг нь ямаанд хэдийгээр ховор боловч заримдаа олддог *Mcc*. *Mycoplasma leachii* омгийн эсрэг ийлдэстэй ӨСУ-д солбицох урвалд ордог. “Өвөрмөц” эсрэг ийлдэс хэрэглэн ӨСУ тавихад үхрийн зарим омгийг буруу ялган тогтоодог учраас урвалын үр дүнг боловсруулахдаа болгоомжтой хандах хэрэгтэй.

- **Шинжилгээний аргачлал**

i) Логарифмын өсөлтийн фазын хоёрдугаар үе дэх шөлөн өсгөврийг 3-10 дахин шингэлж хэрэглэх ба шингэлэлт нь агар дээрх өсгөврийн өсөлтийн эрчмээс хамаарна.

ii) Аягатай агарыг 37°C-д 30 минут хатаана.

iii) 6-7 мм голчтой ариутгасан цаасан зээрэнцгийг шингэлээгүй нэг дусал (10–20

мкл) эсрэг ийлдсээр норгоно. Зээрэнцгийг нойтноор нь хэрэглэж болох ба нойтон зээрэнцгийг –20°C-д хадгалах ба бас хөлдөөн хатаагаад (Dighero нар, 1970) 4°C-д хадгалж болно.

iv) Өсгөврийн шингэлэлт бүрд зориулсан тус тусдаа аяганд хэрэв аяга 5 см голчтой бол 1 мл, 10 голчтой бол 2.5 мл сорууруар хийнэ. Хийсэн өсгөврөө аяганд нэгэн жигд тараагаад илүүдлийг нь авна.

v) Аягыг 20–30°C-д 15–20 минут, боломжтой бол татах шүүгээнд тавьж аяганы гадаргуу хуурай болтол хатаана. Үлдэц чийг хангалттай бол хөлдөөн хатаасан зээрэнцэг агарын гадаргууд наалдана.

vi) Төрөл бүрийн эсрэг ийлдэс (анх авсан сорьцын эх үүсвэр, биохимийн шинж чанар, колонийн хэлбэр зүйг харгалзан сонгоно) шингээсэн хэд хэдэн зээрэнцгийг агартай аяганд болгоомжтой байрлуулна: ЯГӨ-ий тохиолдлоос гаргасан өсгөврийг Mccp, *M. mycoides* subsp. *capri* болон *M. ovi-pneumoniae*-ийн эсрэг ийлдсээр илрүүлэлт хийнэ. Аяганд 1.5% дигитонин агуулсан зээрэнцгийг бас байрлуулна.

vii) Аягыг 2-6 хоног 37°C дулаан тогтоогуурт байлгана. Эхлээд 27°C-д хонуут байлгахад шинжилгээний мэдрэх чанар дээшилнэ. Дигитон хэрэглэхэд бичил биетний өсөлт саатаж байгаа нь ерөнхийдөө илэрхий байхад эсрэг ийлдсээр өсөлт нийтэд нь саатуулахаас илүүтэй өсөлтийг дарангуйлах учир өсөлт саатуулах урвалын дүнг үнэлэхэд хэцүү бөгөөд өсөлтийг дарангуйлах нь микоплазмын зүйл, колонийн нягт, эсрэг ийлдсийн идэвхээс хамаарна. ‘Breakthrough’ колониуд саатлын бүсэд ажиглагдах нь элбэг. Зээрэнцгийн эргэн тойронд тунадасжилтын зурвас хараяа харагдана. Саатуулах урвал эерэг бол саатуулалтын бүс 2 мм ба түүнээс дээш байна.

2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ

Хонь, ямаанд цээжний гялтан, уушгины үрэвслийн дэгдэлтийн шалтгааныг ялган тогтооход ийлдэс судлалын шинжилгээг өргөн хэрэглэдэггүй. Эдүгээ ийлдэс судлалын гурван арга хэрэглэж байна: ХХУ, латекс наалдуулах урвал, өвөрмөц ИГЭБ бүхий энзим холбоост дархлааны өрсөлдөөнт урвал (“4.52” Ө-ЕЛИЗА). Цэвэршүүлээгүй эсрэгтөрөгчийн бэлдмэл ашиглан явуулдаг ХХУ зэрэг шинжилгээ хийхэд солбицох урвал үзүүлдэг микоидесийн кластерт багтах микоплазмаар ямаа халдварлах нь элбэг. Үүнээс гадна ХХУ богино хугацаагаар илрээд арилдаг IgM-ийг ихэвчлэн илрүүлнэ. Ийм учраас ХХУ хэрэглэхийг зөвлөдөггүй.

Mccp-аар туршилтын халдвар хийсэн амьтны ийлдсийг ХХУ-аар шинжлэхэд эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрснээс хойш 7-9 дэх хоногоос эхлэн ийлдэсний урвал эерэгжиж 22-30 хоногт дээд цэгтээ хүрээд дараа нь түргэн буурсан байна. Туршилтын ажлын эдгээр дүнгээс үзвэл ийлдэс судлалын шинжилгээг бодгаль амьтны түвшинд бус харин сүргийн түвшинд хэрэглэх, боломжтой бол ийлдсийн хос дээжийг 3-8 долоо хоногийн зайтай авч шинжлэх хэрэгтэй:

2.1. Хавсарга холбох урвал (MacOwan & Minette, 1976)

Эсрэгтөрөгч бэлтгэхийн тулд 109 КҮН/мл-ээс дээш өндөр таньцтай 2 литр өсгөврийг 5°C-д 12,000 *g*-аар 1 цаг хурилдуурдана. 0.5–1.0 мл хэмжээгээр хувааж –20°C-д хадгалахын өмнө тунадсыг физиологийн уусмалаар уусган сэргээгээд гурван удаа угаана.

Дээрх аргаар боловсруулсан ариун шөл нь хяналтын эсрэгтөрөгч болох ба харин хөлдөөн хатаасан шөлийг 200 мг/мл-д уусган сэргээхэд хоёрдох хяналтын эсрэгтөрөгч болно. Шинжилгээ хийхийн өмнө эсрэгтөрөгчийг 1/60-аар шингэлж мөстэй устай саванд бага хүчдэлийн хэт богино авиагаар үйлчлүүлнэ. Дараа нь түүнийг 1250 *g*-аар 30 минут хурилдуурдаж эсийн элдэв үлдцийг зайлуулаад –20°C-д хадгална. Эсрэгтөрөгчийг 2-3 долоо хоног хадгалсны дараа дахин хурилдуурдана.

2.1.1. Шинжилгээний аргачлал

Бичил таньцын хавтанд хийх шинжилгээг дугуй U ёроолтой үүр бүхий бичил таньцын хавтанд 0.025 мл эзлэхүүнтэй, цус задлах хавсрагын гурван дундаж тунг агуулсан дараах байдлаар хийх ба 1.5% (э/э) эцсийн төвшүүрлэгтэй хонины цусны улаан эс

i) Дор дурдсанаар хольж 37°C дулаан тогтоогуурт 45 минут байлгана:

а. 1/2 шингэлэлтээс эхлээд хоёр дахин шингэлсэн шинжлэх 25 мкл ийлдэс (56°C-д 30 минут дулаанаар идэвхгүйжүүлсэн);

б. хоёр нэгж эсрэгтөрөгч агуулсан 25 мкл эсрэгтөрөгч (эсрэгтөрөгчийн шингэлэлтийг эерэг нь тодорхой ийлдэс ашиглан шатрын хөлгөн таньцлалтаар тогтооно). Эсрэгтөрөгчийн нэг нэгж нь лавлагааны эерэг ийлдэстэй хамгийн өндөр таньц өгөх эсрэгтөрөгчийн хамгийн өндөр шингэлэлтийг илэрхийлнэ.

в. 25 мкл хавсарга (3 цус задлах нэгж).

ii) 1.5% (э/э) эцсийн төвшрүүлэгтэй хонины мэдрэгжүүлсэн улаан эс 25 мкл-ийг хольж хавтанг 37°C дулаан тогтоогуурт 45 минут байлгана

iii) Хавтанг 4°C-д 1 цаг байлгаж эвдрээгүй хонины улаан эсийг тунаана.

iv) Үр дүнг унших: хавсаргыг 50% холбох, ө.х. 50% цус задлах ийлдсийн хамгийн өндөр шингэлэлтийг таньц гэж үзнэ.

2.1.2. Хяналт

Бүх ХХУ-д хэд хэдэн хяналт шаардлагатай:

i) Цусны улаан эсүүд гэнэт задрахгүй гэдгийг баталгаажуулахын тулд илрүүлэгч системийг (Цусны улаан эс + гемолизин) дангаар нь хэрэглэх

ii) Эсийг задлахад хангалттай хүрэлцэх хавсарга байгааг харуулахын тулд илрүүлэгч систем зөвхөн хавсаргын хамт хэрэглэх

iii) Эсрэгтөрөгч дангаараа эсийг задлахгүй гэдгийг харуулахын тулд илрүүлэгч системийн хавсаргагүйгээр зөвхөн эсрэгтөрөгчтэй хамт хэрэглэх

iv) Ийлдэс дангаараа эсийг задлахгүй гэдгийг харуулахын тулд илрүүлэгч системийн хавсаргагүйгээр зөвхөн ийлдэстэй хамт хэрэглэх

v) Эсрэгтөрөгчийн хавсаргын эсрэг үйлчлэлийг илрүүлэхийн тулд илрүүлэгч системийг хавсарга, эсрэгтөрөгчийн хамт хэрэглэх

vi) Ийлдсийн хавсаргын эсрэг үйлчлэлийг илрүүлэхийн тулд илрүүлэгч системийг хавсарга, ийлдэстэй хамт хэрэглэх

Жич: олон микоплазм, ялангуяа микоидесийн кластерт ордог микоплазм ХХУ-д солбицох урвалд орох ба ЯГӨ-өөр тайван улс эсхүл бүсэд ХХУ-аар эерэг гарсан тохиолдолд нэмэлт шинжилгээ хийнэ. Сэжигтэй ийлдсийг янз бүрийн микоплазмын зүйлээр ялангуяа *M. capricolum*, *M. mycoides*-ийн *mycoides* дэд зүйл, *M. leachii* болон *M. mycoides*-ийн *capri* дэд зүйлээр бэлтгэсэн эсрэгтөрөгчтэй зэрэгцүүлэн шинжилнэ. Хамгийн өндөр таньцтай эсрэгтөрөгч нь тухайн амьтан/сүрэгт халдварласан үүсгэгчийн зүйлийг заана.

2.2. Латекс наалдуулах урвал

Mccp-ийн ялгаруулсан, өсгөврийн дээд шингэнд агуулагдах полисахаридаар мэдрэгжүүлсэн латексийн бөмбөлгийг тавиур шилний наалдуулах урвалд (Rurangirwa нар, 1987а) хэрэглэнэ. Энэ урвалыг нэг дусал бүтэн цус ашиглан хээрийн нөхцөлд хийх боломжтой учраас өвчний дэгдэлтийн голомтод хэрэглэхэд маш их ач холбогдолтой.

Энэ урвал ийлдсэнд IgM байдаг өвчний эхэн үед мэдрэмтгий. Харин түүний өвөрмөц чанарыг сайн тогтоогоогүй. *Mccp*-ийн полисахарид *M. leachii* and *M. capricolum* subsp. *capricolum* (Bertin нар, 2015)-ын ялгаруулдаг, мөн бусад бактерид байж магадгүй полисахаридтай адилхан учраас солбицох урвал тохиолдож болзошгүй.

2.3. Энзим холбоост дархлааны өрсөлдөөнт урвал

Өвөрмөц бөгөөд мэдрэмтгий болох нь батлагдсан Ө-ЕЛИЗА боловсруулжээ (Thiaucourt нар, 1994). Энэ шинжилгээний аргын хэлбэрийг өөрчилж үүрнийх нь ханыг урьдчилан бүрсэн хавтан, 4/52 ИГЭБ-ийг оруулаад хэрэглэхэд бэлэн урвалж бүхий цомог болгожээ. Энэ цомог анх нийтлэгдэхдээ урвалын хагас-саатуулалтын зарчимтай байсан бол одоо цэвэр өрсөлдөөнт урвалын зарчимтай болов. Урвалын босго утгыг уг урвалын 55%-ийн саатлын хувиар тогтоох, өвөрмөц чанар 99.9% байхаар шинэ цомогт дахин

баталгаажуулалт хийсэн байна. Энэ нь ЯГӨ-ий халдвартай сүрэгт эерэг ийлдсийг илрүүлэх боловч бодгаль амьтны тухайд жинхэнэ мэдрэх чанар ямар байхыг тогтоогоогүй байна. Энэ урвал маш өвөрмөц учраас шинжилгээ хийсэн сүрэгт өвчилж өнгөрсөн амьтныг зориуд түүвэрлэж сүргийн түвшний статусыг үнэлэхэд хэрэглэж болох ба энэ нь өвөрмөц чанарын ямар нэг асуудалгүйгээр мэдрэх чанарыг ихээхэн өсгөнө. Франц улс дахь ДМАЭМБ-ын лавлагааны лабораторид энэхүү Ө-ЕЛИЗА-ийн хэмжлийн алдааг саатлын хувийн ±8 гэж тогтоожээ.

Вакцинжуулснаас хойш 1 болон 2 сарын дараа хэмжигдэх ийлдэс дэх эсрэгбиеийн хэмжээ эсрэгтөрөгч болон сапонины агууламжтай -хувь тэнцүү байдаг учраас энэ аргыг ЯГӨ-ий вакцины чанарыг үнэлэхэд ашиглаж болно. Гэвч Ө-ЕЛИЗА-ийн таньц болон хамгаалах дархлааны хоорондын шүтэлцээг одоохондоо тогтоогоогүй байна (Peyraud нар, 2014).

В. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

1. Оршил

Өвчтэй амьтныг нядалж устгах, ойр хавьталтай бүх ямаанд зориуд өвчин халдварлуулах замаар Өмнөд Африкт ЯГӨ-тэй тэмцэж түүнийг аль 1889 онд амжилттай устгаж байжээ. Тэр үед цээжний хөндийн шингэн эсхүл өвчилсөн уушгины цийдмэг агуулсан бэлдмэлийг арьсан дор тарьж зориудын халдвар хийдэг байв. Амьд *Mccp*-ийг өмнө нь халдвар авч байгаагүй ямааны арьсан дор тарихад үхрийн цээж өвчинд зориудын халдвар хийх үед ажиглагддаг шиг үрэвслийн хүчтэй хариу урвал илэрдэггүй байна. Энэ чанар нь чухамдаа цэвэршүүлээгүй бэлдмэл хэрэглэн уг өвчнийг устгах хөтөлбөрийг амжилттай хэрэгжүүлэхэд хувь нэмэр болсон байж болзошгүй юм. Гэхдээ энэ өвчнийг устгахад нядалж устгах болон зориудын халдвар хийх аргын аль нь хэр зэрэг хувь нэмэр болсныг тогтоогоогүй аж.

Амьд вакцин зохион бүтээж тэдгээрийн дархлаа төрүүлэх идэвхийг тогтоох цөөвтөр туршилтын ажил хийсэн байна. Сапонинийг идэвхгүйжүүлэгч бодис болон хүчлүүрээр ашиглан идэвхгүйжүүлсэн вакцин хийхэд судалгааны ажил төвлөрчээ (Rurangirwa нар, 1987b). Эсрэгтөрөгчийн хамгийн оновчтой тунг *Mccp*-ийн уургийн 0.15 мг, сапониных 3 мг гэж тогтоосон байна. Анхны судалгаа туршилтад нэг мл-д 3 мг сапонин агуулсан шингэлэгчээр хэрэглэхийнхээ яг өмнө уусган сэргээсэн өтгөрүүлж хөлдөөн хатаасан эсрэгтөрөгч хэрэглэв. Энэ аргачлал өтгөрүүлсэн эсрэгтөрөгчийн хүчинтэй хугацааг маш ихээр уртасгаж (>14 сар) 12 сараас илүү хугацаагаар хамгаалдаг болгоно.

Өсгөвөрлөгдөхдөө *Mccp* хэцүү учраас ЯГӨ вакцин үйлдвэрлэхэд зардал их гарна. *Mccp*-ийг өсгөвөрлөхөд маш баяжмал тэжээлт орчин хэрэглэх мөртөө өсгөврийн гарц бага, үйлдвэрлэлийн явцад цэвэршүүлэлт хийдэг, амьд вакцинтай харьцуулахад идэвхгүйжүүлсэн вакцинд их хэмжээний эсрэгтөрөгч шаардагдана.

ЯГӨ-ий вакцин аюулгүй байх ёстой. Амьд *Mccp* вакцин хэрэглэсний дараах урвал үзүүлдэггүй нь энэ төрлийн вакцины давуу тал юм. Сапонин агуулсан идэвхгүйжүүлсэн вакцины тухайд сапонины хүндрэх төлөвтэй үрэвсэл үүсгэдэг нөлөөг шалган баталгаажуулах хэрэгтэй бөгөөд энэ чанар үйлдвэрлэгчээс, бас тухайн цувралаас хамаарна. Сапонинд урвал үзүүлж болзошгүй учраас хээлтэй амьтныг вакцинжуулахгүй байх хэрэгтэй.

Сапонинт хүчлүүрээр дархлааны хариу урвал өдөөгдөх учраас ийлдэс судлал, ялангуяа өвөрмөц Ө-ЕЛИЗА урвалыг вакцины цувралын чанарын шалгалтад, аль эсхүл вакцинжуулалтын цогц ажилд хийх ийлдсийн хяналт-шинжилгээний ажилд хэрэглэж болно (Peyraud нар, 2014). Эдгээр хяналт шалгалтын ажлыг вакцины цөөхөн үйлдвэрлэгч хийдэг. 2018 онд вакциныг шинжлэн найрлагыг тогтоох масс спектрофотометрийн шинэ аргыг боловсруулжээ. Энэ нь *Mccp*-д өвөрмөц пептидийг тэжээлт орчны бүрэлдэхүүн хэсэгт байж болох бусад эх үүсвэрийн пептидтэй харьцуулан тоон үзүүлэлтээр тодорхойлдог ажээ (Thiaucourt нар, 2018).

ЯГӨ-ий вакцины үр нөлөө нэг жилээс багагүй хугацаанд үргэлжлэн, вакцинжуулсан амьтныг эмнэл зүйн шинж үзүүлэн өвчлөхөөс хамгаална.

Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зарчмын талаарх 1.1.8 дугаар бүлэгт мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зааварчилгааг оруулав. Энэ хэсэгт болон 1.1.8 дугаар бүлэгт оруулсан зааварчилгаа нь ерөнхий агуулгатай учир тухайн улсын болон бүс нутгийн шаардлагыг нэмж оруулж болно.

2. Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны тодорхойлолт, вакцинд тавих наад захын шаардлага

2.1. Эх омгийн шинж чанар

2.1.1. Үндсэн эх омгийн биологийн шинж чанар

Mycoplasma capricolum-ийн *capripneumoniae* дэд зүйлүүд нэгэн төрөлд багтах тул энэ зүйлийн аливаа өсгөврийг хэрэглэж болно. Омгийн сонголт нь ихэвчлэн өсгөвөржилтийн шинж чанараас: түргэн ургадаг, өтгөрүүлэх, цэвэршүүлэхэд хялбар байдал гэх мэт зүйлээс хамаарна.

2.1.2. Чанарын шалгуур (ариун чанар, цэвэршилт, гаднын зүйл агуулаагүй байх)

Эх бэлдэц дараах чанартай байх ёстой:

i) Цэвэршилт

Эх бэлдцээс санамсаргүй сонголтоор *Мсср* 10 колони сонгож эдгээр 10 колонийн ялгагдах шинж чанарыг жишээ нь өвөрмөц ПГУ хэрэглэн (бусад шинжилгээний өвөрмөц чанар хангалтгүй байж болно) баталгаажуулна. *Мсср* омгууд өсгөвөрлөгдөхдөө муу учир аливаа бохирдуулагчид *Мсср*-ээс түргэн ургах магадлалтай бөгөөд ийм нөхцөлд *Мсс* -ийг энэ аргаар илрүүлнэ.

ii) Аюулгүй чанар

Ердийн үед мэдрэмтгий ямааны ярьсан дор *Мсср*-ыг тарихад үрэвслийн хариу урвал илэрдэггүй. Ийм учраас эх омгийн аюулгүй чанарыг тогтоох (хэрэв хэрэгтэй бол) хэцүү.

iii) Үр нөлөө
Сонгосон омгоор үйлдвэрлэсэн вакцинууд стандарт аргачлалын дагуу үйлдвэрлэн өмнө нь халдварт өртөж байгаагүй мэдрэмтгий ямаанд тарьсан нөхцөлд хамгаалах дархлаа үүсгэх ёстой.

2.1.3. Вакцины омог болгон баталгаажуулах

ЯГӨ-д туршилтыг загварчлахад тохирох лабораторийн амьтан байдаггүй тул эх омгийг вакцины омог болгон баталгаажуулах ажлыг наад зах нь нэг удаа мэдрэмтгий ямаанд гүйцэтгэнэ. Вакциныг стандарт аргачлалаар бэлтгэж мэдрэмтгий ямаанд тарина. Вакцинжуулснаас хойш 3 сарын дараа вакцинжуулсан болон өмнө нь халдварт өртөөгүй ямааг ЯГӨ халдвартай ямаатай хамт байлгана. Туршилтын бүлгийн ямааны 90-ээс доошгүй хувь нь статистикийн хувьд магадлалтай хамгаалагдана гэж тооцно.

Хэрэв идэвхгүйжүүлэх үйл явц эсхүл эцсийн вакцины байгаа байдал нь вакцины хамгаалалтыг нотлон харуулсан үеийнхээсээ өөр байгаа бол хэрэглээнд гаргахаар эцэслэсэн шинэ вакцины дархлаа төрүүлэх чанарыг нэмэлт шалгалт шинжилгээгээр тогтооно.

2.2. Үйлдвэрлэх арга

2.2.1. Аргачлал

Хамгаалах дархлаа үүсгэдгийг нь тогтоогоод хөлдөөн хатаасан үндсэн эх омгийг жижиг жижгээр тасалж олон хэсэг болгоод вакцин үйлдвэрлэхэд зориулсан ажлын эх омгийг эхэлж бэлтгэнэ. *Мсср*-ийн омгийг хангалттай ургуулж л байвал тэжээлт орчинд тавих өөр өвөрмөц шаардлага тавьдаггүй. Үндсэн эх омгийг хэрэглээний вакцины цуврал үйлдвэрлэх хүртэл таваас цөөн удаа зорчуулсан байх хэрэгтэй (энд нэг зорчуулалт нь өсгөврийн 1/200 шингэлэлттэй тэнцэнэ).

Мсср эсийг өтгөрүүлсэн, цэвэршүүлсэн байх ёстой. Энэ үе шатны ажилд тусгайлсан шаардлага тавьдаггүй учир үйлдвэрлэгч эцсийн бүтээгдэхүүнийг цэвэр, тэжээлт орчны гаралтай гаднын зүйлгүй байлгаж чадах аргыг сонгож болно. Жишээ нь өсгөврийг өндөр хурдаар (> 12,000 *g*) 20 минут хурилдуурдаж тунашийг угаах зорилгоор тохирох хэмжээний ариун ФБУ-аар уусган сэргээж *Мсср*-ийг дахин тунаана.

Угааж өтгөрүүлсэн *Mccp* эсрэгтөрөгчийг уургийн агууламжийг тохируулахын тулд шингэлж хөлдөөн хатаана. Вакциныг уусган сэргээхдээ цодон тус бүр дэх агуулагдахуунд уургийн эцсийн хэмжээ тун нэг бүрд 0.15 мг байхаар тохируулна. Энэ үе шатад өтгөрүүлсэн эсрэгтөрөгчийн эхний идэвхгүйжүүлэлтийг хийж болно.

Хөлдөөн хатаасан вакциныг тун нэг бүрд 3 мг сапонин агуулсан шаардагдах хэмжээний шингэлэгчээр уусган сэргээж хэрэглээнд гаргах вакцин бэлэн болно. Сапонин нь *Mccp*-ийг идэвхгүйжүүлэх бодис болон хүчлүүрээр ашиглагдана.

Жич: Эсрэгтөрөгчийн агууламж, шинж чанар, эсхүл хүчлүүрийн төрөлд өөрчлөлт оруулсан үйлдвэрлэлийн аливаа аргачлалыг шинээр баталгаажуулж бүртгүүлэх шаардлагатай

2.2.2. Найрлагад орох орцод тавих шаардлага

Өвөрмөц шаардлага байхгүй. Ерөнхий шаардлагыг тархи сархиатах дамжин халдварладаг өвчний бага зэрэг эрсдэлтэй улсаас гарал үүсэлтэй биологийн бүтээгдэхүүнд онцгой анхаарах 1.1.8 дугаар бүлгээс лавлана уу.

2.2.3. Явцын хяналт

Өсгөврийг фазын тодосгогч микроскопоор дурандах зэрэг хурдавчилсан аргаар *Mccp*-ийн ургалтын цэвэршилтийг шалгана. Энэ шалгалтаар эсийн ханатай бактериар бохирдсон эсэхийг тогтооно (микоплазм нь бараг үл анзаарагдам жижигхэн саарал толбо харагдах бол эсийн ханатай бактери том, тод харагдана).

Өтгөрүүлсэн *Mccp*-ийн эцсийн бүтээгдэхүүнд тэжээлт орчноос гаралтай бохирдуулагч байхгүй болохыг *Mccp* эсрэгтөрөгч болон үйлдвэрлэл ашиглах тэжээлт орчныг шингэлээд хамтад нь хяналт болгон SDS-PAGE (натрийн додецил сульфат полиакриламидын гель электрофорез)-ээр шинжилж тогтооно. Тэжээлт орчин бохирдуулагчгүй байсан бол уургийн агууламж нь бохирдолтой бус харин микоплазмын эсрэгтөрөгчтэй холбогдоно.

Өтгөрүүлсэн бүтээгдэхүүн дэх микоплазмын эсрэгтөрөгчийн хэмжээг гаднын гаралтай уураг бага байгаа нөхцөлд түүн дэх уургийн агууламжаар нь тогтоож болно. Шинжилгээ хийхдээ үхрийн альбумины стандарт эсхүл *Mccp*-ийн лавлагаа эсрэгтөрөгчийг хамт шинжилдэг бол ж.нь бицинхонины хүчилт уургийн шинжилгээ зэрэг шаардлага хангасан аль ч шинжилгээний арга хэрэглэж болно.

Mccp өтгөрүүлсэн эсрэгтөрөгчийн эцсийн найрлагыг тогтооход масс спектрометрийн арга хэрэглэж болно (Thiaucourt нар, 2018). Өтгөрүүлсэн эсрэгтөрөгчид үлдэж хоцорсон тэжээлт орчны бохирдуулагч бодисыг энэ аргаар илрүүлэн тоон утгаар тогтооно. Вакцинд түүний дархлаа төрүүлэх чанарыг үл бууруулах ямар хэмжээгээр байвал гаднын уургийн бодис байхыг зөвшөөрөх эсэх талаар бүтээгдэхүүнээ бүртгүүлэх /баталгаажуулах өргөдөлдөө тодорхойлж өгөх нь вакцин үйлдвэрлэгчийн үүрэг юм.

Эсрэгтөрөгчийг сапонинаар идэвхгүйжүүлсний дараа ариун чанарыг *Mccp*-ийг өсгөвөрлөхөд тохирсон тэжээлт орчинд суулгаж шалгана.

2.2.4. Эцсийн бүтээгдэхүүний цувралын шалгалт

i) Ариун чанар

Вакциныг төлөөлж чадах хэд хэдэн цодон шилтэй вакцинд ариун чанарыг шалгах стандарт аргачлалыг 1.1.9. *Мал эмнэлгийн зориулалтаар хэрэглэх биологийн материалын ариун чанар, бохирдолгүй болохыг шалгах* бүлгээс харж болно.

ii) Аюулгүй чанар

Лиценз олгохын өмнөх шалгалтаар вакцин аюулгүй болох нь нотлогдсон, вакциныг бүртгүүлэхэд өргөдөлд энэ нотолгоог зөвшөөрсөн, үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаандаа 1.1.8 дугаар бүлгийн дагуу зөвшөөрөл авсан нөхцөлд

цувралын аюулгүй чанарыг зорилтот амьтанд шалгах (ЦАБЗАШ) шинжилгээ хийхгүй байж болно.

Шаардлага гарвал хэсэг газрын болон тогтолцооны аливаа хэвийн бус гаж урвалыг илрүүлэх ЦАБЗАШ хийнэ. Тухайн цувралыг хэрэгцээнд гаргахын тулд ийлдсийн шинжилгээгээр сөрөг урвалтай, гурваас доошгүй тооны эрүүл ямаанд вакцины зөвлөсөн тунгаар олгоно. Туршилтын ямаанд вакцинжуулалтын улмаас хэсэг газрын болон тогтолцооны хариу урвал илэрч байгаа эсэхийг 14-өөс цөөнгүй хоног ажиглана. Вакцинаас шалтгаалсан аливаа гаж урвал илэрвэл түүнд үнэлгээ өгч тухайн цувралыг хэрэгцээнд үл тэнцүүлнэ. Вакцин хэрэглэх заалттай амьтанд дархлаа төрүүлэх идэвхийн шалгалт хийж байгаа бол энэ шалгалтын хугацаанд хийсэн аюулгүй чанарын ажиглалтыг энд тодорхойлсон цувралын аюулгүй чанарын шалгалт хийж байгаа нэг хувилбарт тооцож болно.

iii) Цувралын идэвх

ЯГӨ-ийг олон амьтанд шинээр үүсгэхэд тохиолдох бэрхшээлийн улмаас цуврал бүрийн дархлаа төрүүлэх идэвхийг мэдрэмтгий амьтанд шалгах нь амьдралд нийцгүй байдаг. Иймд цувралыг хэрэгцээнд гаргахад амьдралд хэрэгжих боломжтой, амьтны тавлаг байдлыг харгалзсан шалгалтын шууд бус шинжилгээний аргыг ашиглаж болно.

Өмнө нь халдвар авч байгаагүй гурван ямааг аюулгүй чанарын шалгалтад зориулан вакцин олгож *Mccp*-ийн эсрэгтөрөгчийн эсрэг ийлдсэнд өвөрмөц эсрэгбие өндөр таньцтайгаар хуримтлагдаж байгаа эсэхийг вакцинжуулснаас хойш 2 сараас доошгүй хугацаанд нотлон харуулна. Гэвч вакцинжуулалтын дараа үүссэн ийлдсэн дэх эсрэгбие нь дархлааны хамгаалалтын түвшинтэй хэр зэрэг шүтэлцээтэй болохыг ЯГӨ-д хэрэглэж байгаа ийлдэс судлалын шинжилгээгээр тогтоох эсэх талаар үнэлгээ хийгээгүй байна.

Гэхдээ ийлдсийн шинжилгээгээр өвөрмөц эсрэгбие хангалттай түвшинд байгааг харуулснаар уг шалгаж байгаа вакцинд шаардлага хангах эсрэгтөрөгч агуулагдаж вакцинжуулсан амьтанд дархлааны хариу урвал үүсгэж байгааг нотолно. Одоогоор ийлдсийн урвалын эрэгжилтийг тогтооход вестерн блотын шинжилгээг (Abdo el nar, 1998) хэрэглэж болно. Өөр хувилбар аргад ХХУ эсхүл дан эпитопд өвөрмөц эсрэгбие илрүүлэх Ө-ЕЛИЗА оруулж болох юм.

Полисахаридын эсрэгбие илрүүлдэг учир латекс наалдуулах урвал хэрэглэж болохгүй. Энэ полисахарид микоидесийн бүлгийн бусад миккоплазмд агуулагддаг ба полисахарид агуулсан вакцины шаардлага байхгүй юм (полисахаридын эсрэг хамгаалах үр нөлөөтэй байж болох дархлааны хариу урвал байдгийг тогтоосон нь одоогоор үгүй).

2.3. Албан ёсны зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага

2.3.1. Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаа

Вакциныг бүртгүүлэхийн тулд үйлдвэрлэх, түүний чанарыг шалгах (B.2.1 ба B.2.2 хэсгийг үзэх) шинжилгээнд холбогдох бүх дэлгэрэнгүй мэдээллийг эрх бүхий байгууллагад илгээнэ. Энэхүү мэдээллийг үйлдвэрлэлийн ердийн цувралын 1/3-аас багагүй хэмжээтэй вакцины дараалсан гурван цуврал шалгаж бэлтгэнэ.

Явцын хяналт нь үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны нэг хэсэг болно.

2.3.2. Аюулгүй чанарын шаардлага

i) Вакцин хэрэглэх заалттай болон үл хэрэглэх амьтанд аюулгүй байх чанар

Эрх бүхий байгууллагаас вакциныг бүртгүүлэх зөвшөөрөл авахын тулд мэдрэмтгий найман ямаанд туршилтын цуврал вакциныг зөвлөсөн замаар олгож in-vivo туршин түүний хэсэг газар болон тогтолцоонд үзүүлэх хорон чанарыг шалгаж үзнэ. Вакцинжуулсны дараах 14-өөс доошгүй хоногийн хугацаанд ямаанд хэсэг газрын болон тогтолцооны хариу урвалыг шалгана.

Вакцин хэрэглэсэнтэй холбоотой гэж үзэх аливаа гаж хариу урвалд дүгнэлт хийж тийм вакциныг тухайн улсын эрх бүхий мал эмнэлгийн байгууллага хүлээн зөвшөөрчихөөс сэргийлнэ. Вакцинд сапонин агуулагдах тул түр зуур халуурах, мөн түүнчлэн тарьсан хэсэгт хавдах урвал өгч болзошгүй.

ii) Сэрэмжлүүлэг

Mccp нь хүний биед эмгэг үүсгэхгүй. Вакцин сапонин агуулах учраас түүнийг санамсаргүйгээр өөртөө тарьчих тохиолдолд хэсэг газрын цочрол үүсгэж магадгүй.

2.3.3. Үр нөлөөнд тавих шаардлага

Худалдаанд гаргах вакциныг бүртгүүлэхдээ стандарт аргын дагуу үйлдвэрлэсэн, хамгийн бага хэмжээний эсрэгтөрөгч агуулсан эсхүл хамгийн бага хамгаалах идэвх бүхий цуврал (цувралууд)-ын үр нөлөөг (хамгаалалт) баталгаажуулах хэрэгтэй ба худалдаанд гаргах дараагийн цуврал бүрийг хэрэглээнд нийлүүлэхээс өмнө түүнийг шалгаж үр нөлөөний шалгалтад өмнө оруулсан цуврал (цувралууд)-ын үзүүлсэн дархлаа тогтоох идэвхийн утгатай ижилхэн идэвхтэй байгааг тогтоож байх хэрэгтэй.

Вакцинжуулсан амьтанд амьд эмгэг төрүүлэгч шууд халдварлуулж түүнээс хэрхэн хамгаалж байгааг вакцинжуулаагүй хяналтын амьтантай харьцуулж вакцины үр нөлөөг үнэлнэ.

Вакцинжуулснаас хойш 3 сарын дараа зориудаар халдвар хийсэн ямааг өмнө нь вакцинжуулсан болон халдвар авч байгаагүй амьтантай хамт байлгаж вакцины үр нөлөөг хавьтлаар халдварлуулах аргаар шалгаж үнэлгээ өгнө. Хамгаалалтын хувийг эмнэл зүйн шинж тэмдгийн илрэл (халуурсан өдрүүд), устгасан амьтны эмгэг хувирал, хяналтын бүлгийн амьтан өвчилж эхэлснээс хойших 1-2 сард ажиглагдсан шинж тэмдгийг үндэслэн тогтооно. Хамгаалалтын хувь наад зах нь 90% (± 10) байх ёстой.

Mccp эсрэгтөрөгч тогтвортой шинж чанартай тул эмгэг төрүүлэгч хээрийн аливаа омгийг хэрэв хяналтын бүлгийн амьтанд эмгэг үүсгэдэг нь батлагдвал вакцины хамгаалалтыг тогтооход ашиглаж болно.

2.3.4. DIVA (халдвар авсан, вакцин тарьсан мал ялган илрүүлэх) стратегид нийцэх вакцин

Одоо байгаа ЯГӨ-ий вакцинд хэрэглэхгүй.

2.3.5. Дархлааны үргэлжлэх хугацаа

Зориудын халдвар хийх эсхүл өөр бусад шинжилгээгээр тухайн вакцины дархлааны үргэлжлэх хугацааг вакцины хамгаалалтын тогтоосон хугацааны төгсгөл үеэр нотлон харуулахыг вакцинд зөвшөөрөл олгох ажлын нэг хэсэг болгон үйлдвэрлэгчээс шаардана. Сапонин агуулсан ЯГӨ-ий вакцины тухайд энэ хугацааг 1 жилээр тооцно.

2.3.6. Тогтвортой чанар

Тухайн вакцины бүх шинж чанар тогтвортой байгаа эсэхийг вакцины хүчинтэй хугацааны төгсгөл үеэр нотлон харуулахыг вакцинд зөвшөөрөл олгох ажлын нэг хэсэг болгон үйлдвэрлэгчээс шаардана. Хадгалах температурыг зааж өгөх бөгөөд хөлдөөх эсхүл тасалгааны хэмд байлгахад гэмтэж мууддаг бол зохих анхааруулга өгсөн байх хэрэгтэй.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

ABDO EL M., NICOLET J., MISEREZ R., GONCALVES R., REGALLA J., GRIOT C., BENSAID A., KRAMPE M. & FREY J. (1998). Humoral and bronchial immune responses in cattle experimentally infected with Mycoplasma mycoides subsp. mycoides small colony type. *Vet. Microbiol*., **59**, 109–122.

AMIRBEKOV M., MURVATULLOEV S. & FERRARI G. (2010). Contagious caprine pleuropneumonia detected for the first time in Tajikistan. *EMPRES Transboundary Animal Diseases Bulletin*, **35**, 20–22.

ARIF A., SCHULZ J., THIAUCOURT F., TAHA A. & HAMMER S. (2005). An outbreak of contagious caprine pleuropneumonia at Al Wabra Wildlife Preservation, State of Qatar. *J. Zoo Wildl. Med*., **38**, 93–96.

BASCUNANA C.R., MATTSSON J.G., BOLSKE G. & JOHANSSON K.E. (1994). Characterization of the 16S rRNA genes from *Mycoplasma* sp. strain F38 and development of an identification system based on PCR. *J. Bacteriol*., **176**, 2577–2586.

BOLSKE G., JOHANSSON K.-E., HEINONEN R., PANVUGA P.A. & TWINAMASIKO E. (1995). Contagious caprine pleuropneumonia in Uganda and isolation *Mycoplasma capricolum* subspecies *capripneumoniae* from goats and sheep. *Vet. Rec.,* **137**, 594.

BOLSKE G., MATTSSON J.G., BASCUNANA C.R., BERGSTROM K., WESONGA H. & JOHANSSON K.E. (1996). Diagnosis of

contagious caprine pleuropneumonia by detection and identification by PCR and restriction enzyme analysis. *J. Clin. Microbiol*., **34**, 785–791.

BERTIN C., PAU-ROBLOT C., COURTOIS J., MANSO-SILVÁN L., TARDY F., POUMARAT F., CITTI C., SIRAND-PUGNET P., GAURIVAUD P. & THIAUCOURT F. (2015). Highly dynamic genomic loci drive the synthesis of two types of capsular or secreted polysaccharides within the *Mycoplasma mycoides* cluster. *Appl. Environ. Microbiol*., **81**, 676–687.

CHABER A., LIGNEREUX L., QASSIMI M.A., SAEGERMAN C., MANSO-SILVAN L., DUPUY V. & THIAUCOURT F. (2014). Fatal transmission of contagious caprine pleuropneumonia to an Arabian oryx (*Oryx leucoryx*). *Vet. Microbiol*., **173**, 156– 159.

CHEN S., HAO H., ZHAO P., THIAUCOURT F., HE Y., GAO P., GUO H., JI W., WANG Z., LU Z., CHU Y. & LIU Y. (2017). Genome-Wide Analysis of the First Sequenced *Mycoplasma capricolum* subsp. *capripneumoniae* Strain M1601. *G3* (*Bethesda*), **7**, 2899–2906.

CHU Y., GAO P., ZHAO P., HE Y., LIAO N., JACKMAN S., ZHAO Y., BIROL I., DUAN X. & LU Z. (2011). Genome Sequence of *Mycoplasma capricolum* subsp. *capripneumoniae* strain M1601. *J. Bacteriol.,* **193**, 6098–6099.

DIGHERO M.W., BRADSTREET C.M.P. & ANDREWS B.E. (1970). Dried paper discs for serological identification of human mycoplasmas. *J. Appl. Bacteriol*., **33**, 750–757.

DUPUY V. & THIAUCOURT F. (2014). Complete Genome Sequence of *Mycoplasma capricolum* subsp. *Capripneumoniae* Strain 9231-Abomsa. *Genome Announc.*, **2**. pii: e01067-14. doi: 10.1128/genomeA.01067-14

EL DEEB W., ALMUJALLI A.A., ELJALII I., ELMOSLEMANY A. & FAYEZ M. (2017). Contagious caprine pleuropneumonia: The first isolation and molecular characterization of *Mycoplasma capricolum* subsp. *capripneumoniae* in the Kingdom of Saudi Arabia. *Acta Tropica*, **168**, 74–79.

FALQUET L., LILJANDER A., SCHIECK E., GLUECKS I., FREY J. & JORES J. (2014). Complete Genome Sequences of Virulent *Mycoplasma capricolum* subsp. capripneumoniae Strains F38 and ILRI181. *Genome Announc*., **2**. pii: e01041-14. doi: 10.1128/genomeA.01041-14

HUTCHEON D. (1889). Contagious pleuropneumonia in goats at Cape Colony, South Africa. *Vet. J.,* **29**, 399–404.

JONES G.E. & WOOD A.R. (1988). Microbiological and serological studies on caprine pneumonia in Oman. *Res. Vet. Sci*., **44**, 125–131.

KALINER G. & MACOWAN K.J. (1976). The pathology of experimental and natural contagious caprine pleuropneumonia in Kenya. *Vet. Med*. [B], **2**, 652–661.

KIBOR A.C. & WAIYAKI P.G. (1986). Growth of mycoplasma F38 in medium B (modified Hayflick) and Newing's typtose medium. *Bull. Anim. Health Prod. Afr*., **34**, 157–159.

LEACH R.H., ERNO H. & MACOWAN K.J. (1993). Proposal for designation of F38-type caprine mycoplasmas as *Mycoplasma capricolum* subsp. *capripneumoniae* subsp. nov. and consequent obligatory relegation of strains currently classified as *M. capricolum* (Tully, Garile, Edward, Theodore & Erno, 1974) to an additional new subspecies, *M. capricolum* subsp. *capricolum* subsp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol*., **43**, 603–605.

LIGNEREUX L., CHABER A.L., SAEGERMAN C., MANSO-SILVAN L., PEYRAUD A., APOLLONI A. & THIAUCOURT F. (2018). Unexpected field observations and transmission dynamics of contagious caprine pleuropneumonia in a sand gazelle herd. *Prev. Vet. Med*., **157**, 70–77.

LILJANDER A., YU M., O'BRIEN E., HELLER M., NEPPER J.F., WEIBEL D.B., GLUECKS I., YOUNAN M., FREY J., FALQUET L. & JORES J. (2015). Field-applicable Recombinase Polymerase Amplification Assay for Rapid Detection of *Mycoplasma capricolum* subsp. *capripneumoniae*. *J. Clin. Microbiol*., **53**, 2810–2815.

LITAMOI J.K., WANYANGU S.W. & SIMAM P.K. (1990). Isolation of *Mycoplasma* biotype F38 from sheep in Kenya. *Trop. Anim. Health Prod.*, **22**, 260–262.

LORENZON S., MANSO-SILVÁN L. & THIAUCOURT F (2008). Specific real-time PCR assays for the detection and quantification of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC and *Mycoplasma capricolum* subsp. *capripneumoniae*. *Mol. Cell. Probes*, **22**, 324–328.

MACMARTIN D.A., MACOWAN K.J. & SWIFT L.L. (1980). A century of classical contagious caprine pleuropneumonia: from original description to aetiology. *Br. Vet. J*., **136**, 507–515.

MACOWAN K.J. & MINETTE J.E. (1976). A mycoplasma from acute contagious caprine pleuropneumonia in Kenya. *Trop. Anim. Health Prod*., **8**, 91–95.

MANSO-SILVÁN L., DUPUY V., CHU Y. & THIAUCOURT F. (2011). Multi-locus sequence analysis of *Mycoplasma capricolum* subsp. *capripneumoniae* for the molecular epidemiology of contagious caprine pleuropneumonia. *Vet. Res.,* **42**, 86.

MANSO-SILVÁN L., PERRIER X. & THIAUCOURT F. (2007). Phylogeny of the *Mycoplasma mycoides* cluster based on analysis of five conserved protein-coding sequences and possible implications for the taxonomy of the group. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.,* **57**, 2247–2258.

MOHAN K., MILES R.J. & WADHER B.J. (1990). Growth and biochemical characteristics of mycoplasmas isolated from the lungs of Nigerian goats. *Zentralbl. Bakteriol*. (Suppl.), **20**, 841–843.

NICHOLAS R. & CHURCHWARD C. (2011). Contagious caprine pleuropneumonia: new aspects of an old disease. *Transbound. Emerg. Dis.,* **59**, 189–196.

OZDEMIR U., OZDEMIR S., MARCH J., CHURCHWOOD C. & NICHOLAS R.A.J. (2005). Outbreaks of CCPP in the Thrace region of Turkey. *Vet. Rec*., **156**, 286–287.

PEYRAUD A., POUMARAT F., TARDY F., MANSO-SILVAN L., HAMROEV K., TILLOEV T., AMIRBEKOV M., TOUNKARA K., BODJO C., WESONGA H., NKANDO I., JENBERIE S., YAMI M., CARDINALE E., MEENOWA D., JAUMALLY M., YAQUB T., SHABBIR M., MUKHTAR N., HALIMI M., ZIAY G., SCHAUWERS W., NOORI H., RAJABI A., OSTROWSKI S. & THIAUCOURT F. (2014). An international collaborative study to determine the prevalence of contagious caprine pleuropneumonia by monoclonal antibody- based cELISA. *BMC Vet. Res.*, **10**, 48.

RURANGIRWA F.R., MCGUIRE T.C., KIBOR A. & CHEMA S. (1987a). A latex agglutination test for field diagnosis of caprine pleuropneumonia. *Vet. Rec*., **121**, 191–193.

RURANGIRWA F.R., MCGUIRE T.C., KIBOR A. & CHEMA S. (1987b). An inactive vaccine for contagious caprine pleuropneumonia. *Vet. Rec*., **121**, 397–402.

RURANGIRWA F.R., MCGUIRE T.C., MUSOKE A.J. & KIBOR A. (1987c). Differentiation of F38 mycoplasmas causing contagious caprine pleuropneumonia with a growth-inhibiting monoclonal antibody. *Infect. Immun*., **55**, 3219–3220.

SETTYPALLI T.B.K., LAMIEN C.E., SPERGSER J., LELENTA M., WADE A., GELAYE E., LOITSCH, A., MINOUNGOU G., THIAUCOURT F. & DIALLO A. (2016). One-Step Multiplex RT-qPCR Assay for the Detection of *Peste des petits ruminants virus*, *Capripoxvirus*, *Pasteurella multocida* and *Mycoplasma capricolum* subspecies (ssp.) *capripneumoniae*. *PloS one*, 11, e0153688.

SRIVASTAVA A.K., MEENOWA D., BARDEN G., CHURCHWARD C., AYLING R.D., SALGUERO F.J. & NICHOLAS R.A.J. (2010). Contagious caprine pleuropneumonia in Mauritius. *Vet. Rec*., **167**, 304–305.

THIAUCOURT F. (2018). Contagious caprine pleuropneumonia, update. *In:* Infectious Diseases of Livestock, Coetzer J.A.W., Thomson G.R., MacLachlan J., Michel A. & Botha C., eds. Anipedia, Gauteng, South Africa. http://www.anipedia.org/resources/contagious-caprine-pleuropneumonia/985

THIAUCOURT F. & BOLSKE G. (1996). Contagious caprine pleuropneumonia and other pulmonary mycoplasmoses of sheep and goats. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz*., **15**, 1397–1414.

THIAUCOURT F., BOLSKE G., LIBEAU G., LE GOFF C. & LEFEVRE P.-C. (1994). The use of monoclonal antibodies in the diagnosis of contagious caprine pleuropneumonia (CCPP). *Vet. Microbiol*., **41**, 191–203.

THIAUCOURT F., GUERIN C., MADY V. & LEFEVRE P.-C. (1992). Diagnostic de la pleuropneumonie contagieuse caprine: améliorations récentes. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz*., **11**, 859–865.

THIAUCOURT F., PIBLE O., MIOTELLO G., NWANKPA N. & ARMENGAUD J. (2018). Improving Quality Control of Contagious Caprine Pleuropneumonia Vaccine with Tandem Mass Spectrometry. *Proteomics*, 18(17): e1800088.

WOUBIT S., LORENZON S., PEYRAUD A., MANSO-SILVAN L. & THIAUCOURT F. (2004). A specific PCR for the identification of *Mycoplasma capricolum* subsp. *capripneumoniae*, the causative agent of contagious caprine pleuropneumonia (CCPP). *Vet. Microbiol*., **104**, 125–132.

YU Z., WANG T., SUN H., XIA Z., ZHANG K., CHU D., XU Y., XIN Y., XU W., CHENG K., ZHENG X., HUANG G., ZHAO Y., YANG S., GAO Y. & XIA X. (2013). Contagious caprine pleuropneumonia in endangered tibetan antelope, China, 2012. *Emerg. Infect. Dis*., **19**, 2051–2053.

*
* *

ЖИЧ: Ямааны годрон өвчнийг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори бий
(ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас мэдээлэл авна уу:
https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

Ямааны годрон өвчнийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудтай холбогдож авна уу.

ЖИЧ: 1991 ОНД АНХ, 2021 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

БҮЛЭГ 43 (3.8.7)

ХОНИНЫ ТӨМСГИЙН ХЭТНИЙ ҮРЭВСЭЛ (*BRUCELLA OVIS*)

А. УДИРТГАЛ

1. Өвчний тодорхойлолт

Brucella ovis нь зөвхөн хонинд өвчин үүсгэх бөгөөд хуцын төмсгийн хэт үрэвсэх хамгийн нийтлэг шалтгааны нэг болох ба харин эм хонь сувайрах, хээл хаях, хурга нялх үедээ хорогдох нь ховор тохиолдоно.

2. Өвчин үүсгэгч

Brucella ovis болон *B. canis* нь байгалиасаа барзгар төлөвт байдаг болох нь одоогоор тогтоогдоод байгаа *Brucella*-ийн хоёр зүйл юм. *Brucella ovis* нь оксидаза болон уреазын сорилд сөрөг дүн өгдгөөс бусдаар *Brucella*-ийн бусад зүйлтэй хэлбэр зүй, будагдалт, өсгөвөрлөгдөх байдлаараа адилхан юм. Бүх *Brucella* зүйл болон био хэвшлийн бичил амь судлал, ийлдэс судлалын шинж чанарыг 3.1.4 *Брyцеллез* (Brucella abortus, B. melitensis, B. suis) бүлэгт дэлгэрэнгүй өгүүлэв.

3. Өвчний тодорхойлолт

Brucella ovis хонинд халдварлах бөгөөд хуцад үржлийн эрхтэн эмгэгших (төмсгийн хэтийн үрэвсэл, төмсөг болон төмсгийн хэтний үрэвсэл), үргүйдэх, эм хонинд сувайрах, ихэс үрэвсэх, хээл хаях шинж тэмдгээр илрэх ба нялх төлийн хорогдлыг ихэсгэнэ. *Brucella ovis* ихэвчлэн халдвар авсан хуцын үрийн шингэнээр гадагш ялгарна. Эм хонины үржлийн эрхтнээр дамжин халдвар тархах нь хамгийн түгээмэл боловч хуцаас хуцад дамжин халдварлах нь бас элбэг тохиолдоно (Blasco, 1990; 2010). Хагас эрчимжсэн мал аж ахуйд (Европын Газар дундын тэнгисийн улс орнуудад хамгийн нийтлэг) хуцыг ихэвчлэн бөөнд нь нэг дор байрлуулдаг учир хээлтүүлгийн бус үеэр хуцаас хуцад шууд дамжин халдварлах нь нэлээд элбэг тохиолдох ба хошного, үржлийн эрхтнийг долоох зэрэг хэд хэдэн замаар дамждаг гэж үздэг.

Үүнээс гадна *B. ovis* халдвартай эм хонины үтрээний ялгадсаар гадагш ялгарснаас эм хониноос хуцад, сүүгээр ялгарснаас эхээс хурганд халдварлаж болзошгүй тул эдгээр нь халдварыг тодорхойлогч механизм байж болох юм. Иймээс халдварын эпидемиологид эм хонины оролцоо байгааг анхааран үзэж үүнийг халдвартай сүрэгт *B. ovis*-ыг устгах ажилд харгалзах хэрэгтэй (Blasco, 2010; Grilló нар, 1999).

Энэ өвчин Америк тивийн болон Европын улс орнууд, мөн түүнчлэн Австрали, Шинэ Зеланд, Өмнөд Африкт бүртгэгдсэн ба хонины аж ахуй эрхэлдэг ихэнх улс оронд тохиолддог байх магадлалтай.

Хуцын төмсгийг барилан үзэж үржлийн эрхтний гэмтлийг (өрөөсөн төмсгийн эсхүл аль алиных нь хэт үрэвссэн, төмсөг болон төмсгийн хэт аль аль нь үрэвссэн) илрүүлэх нь тухайн сүрэгт халдвар байгааг илтгэж болох юм. Гэвч *B. ovis*-оор халдварласан бүх хуцын үржлийн эрхтнийг барилахад мэдэгдэхээр гэмтэлгүй байдаг учраас эмнэл зүйн шинжээр оношлох аргын мэдрэх чанар муу байдаг (Blasco, 1990). Үүнээс гадна хуцад үржлийн эрхтний гэмтэл бусад олон төрлийн бактериар үүсгэгдэж болдог тул эмнэл зүйн оношилгоо мөн өвөрмөц чанараар муу байдаг. *Actinobacillus seminis*, *A.actinomycetemcomitans*, *Histophilus ovis*, *Haemophilus* spp., *Corynebacterium pseudotuberculosis ovis*, *B.melitensis*, *Chlamydia abortus, Pasteurella* spp. зэрэг эмгэг төрүүлэгчид хуцад дээр дурдсан гэмтлийг илүүтэй үүсгэдэг мэдээ байна (Bulgin & Anderson, 1983; Garcia-Pastor нар, 2009; Livingstone & Hardy, 1964). Үүнээс гадна хуцын төмсөгт барилах аргаар илэрч байгаа гэмтлийн олон тохиолдол ариун, бэртлээс үүдэлтэй амин дархлааны хариу урвалаас үүссэн түр зуурын зангилаа байдгийг онцлох хэрэгтэй.

Хэдийгээр *B.ovis*-ыг зориуд халдварлуулж туршихад үхэр, ямаа, буга мэдрэмтгий болох нь батлагдсан боловч ердийн нөхцөлд халдвартай хуцтай ойр хавьталд өсгөсөн улаан бугад л энэ байдал тохиолджээ.

4. Хүнд халдварлах эрсдэл ба биоаюулгүй ажиллагааны шаардлага

Өнөөг хүртэл хүн өвчилсөн тохиолдол бүртгэгдээгүй ба *B. ovis*-ыг хүнд халдварладаггүйд тооцогддог. Гэвч *B. melitensis*-ийн халдвар *B. ovis*-ынхтой хамт оршдог нутагт сорьцтой харьцахдаа болгоомжтой байж лабораторид битүүмжлэл сайтай саванд хийж лабораторид илгээх хэрэгтэй (цааш дэлгэрүүлэн энэ гарын авлагын 3.1.4 *Бруцеллез* (*Brucella abortus, B. melitensis* болон *B. suis*) болон 1.1.3 *Биологийн материалыг тээвэрлэх* бүлгийг үзэх). Амьд өсгөвөр эсхүл халдвар/бохирдолтой байж болох аливаа материал ашиглан хийх лабораторийн ажлыг биологийн эрсдэлийн шинжилгээгээр тогтоосон биоаюулгүйн болон тусгаарлалтын зохих түвшинд гүйцэтгэнэ (1.1.4 Биоаюулгүй ажиллагаа ба биохамгаалал*: Мал эмнэлгийн лаборатори, туршилтын амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандарт* бүлгийг үзэх).

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. *Brucella ovis-ын* халдварыг оношлох шинжилгээний арга

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүйг тогтоох	Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох [а]	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх[б]	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах[в]	Халдварын тархалтыг тогтоох - тандалт [г]	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгчийг ялган тогтоох [д]						
Будах арга	–	–	–	+	–	–
Өсгөвөр	–	–	–	+++	+/++[d]	–
ПГУ[f]	–	–	–	+/++	+/++	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ХХУ	+++	+++	+++	++	++	++
Шб-ЕЛИЗА	+++	+++	+++	++	++	+++
АГНТУ	++	++	+++	++	++	++

Түлхүүр үг:
+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
++ = энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй;
ПГУ = полимеразагийн гинжин урвал;
ХХУ = хавсарга холбох урвал;
Шб-ЕЛИЗА= энзим холбоост дархлааны шууд бус урвал;
АГНТУ =агарын гельд нэвчин тунадасжих урвал.

(а) Зөвхөн *Brucella ovis* халдваргүй сүрэг, улс, бүсэд хэрэглэнэ.

(б) Халдвартай сүрэгт өвчнийг устгах бодлогын үр дүнг сайжруулах зорилгоор оношилгооны мэдрэх чанарыг нэмэхийн тулд шинжилгээг зэрэгцүүлэн хийж, өөрөөр хэлбэл ийлдэс судлалын наад зах нь хоёр аргыг, жишээ нь ХХУ (эсхүл АГНТУ) болон Шб-ЕЛИЗА аргыг зэрэгцүүлэн хэрэглэхийг зөвлөдөг.

(в) Өвчний тархалт бага эсхүл бараг өвчингүй болсон бүсэд ийлдэс судлалын шинжилгээний эерэг дүнгийн урьдчилан таамагласан утга маш бага байж болно. Ийм нөхцөлд эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулахад ихэнхдээ үүсгэгчийг ялган тогтоох шаардлага гарна. Халдвартай сүрэгт ийлдэс судлалын аливаа шинжилгээ эерэг дүн үзүүлбэл эмнэл зүйн тохиолдол батлагдсан гэж үзэх боломжтой. [d]Халдвартай сүрэгт ийлдэс судлалын аливаа шинжилгээний ямар ч эерэг дүнг халдварынх гэж үзнэ. Өвчний тархалт бага эсхүл бараг өвчингүй болсон бүсэд ийлдсийн шинжилгээгээр эерэг урвал үзүүлсэн бодгаль амьтанд өсгөвөрлөх аргаар (болон эсхүл ПГУ) баталгаажуулна. Өвчнөөр тайван улс, бүсэд ийлдэс судлалын илрүүлэх болон баталгаажуулах аль аль аргаар (цуврал шинжилгээ, ө.х. Шб-ЕЛИЗА болон ХХУ) эерэг дүн үзүүлсэн бол сэжигтэй гэж үзэх ба өсгөвөрлөх аргаар (болон эсхүл ПГУ) баталгаажуулна)

. (г) Үүсгэгчийг ялган таних төрөл бүрийн шинжилгээг эмнэл зүйн нэг ижил сорьцод хийхийг зөвлөдөг

(д) Хуурамч эерэг урвал илэрч болзошгүй.

1. Үүсгэгчийг ялган тогтоох

1.1. Сорьц авах

Амьд амьтнаас *B.ovis*-ыг ялган авахад үрийн шингэн, үтрээний арчдас, сүүнээс авсан сорьц хамгийн тохиромжтой. Үтрээний арчдас, сүүний сорьц цуглуулах зааврыг 3.1.4 дүгээр бүлэгт оруулав. Үр авахдаа хуцны үрийг цахилгаанаар өдөөж гадагшлуулсны дараа шамархайн хөндийгөөс бойтуураар авна. Өөр нэг хувилбар нь бруцеллез өвчингүй эм хонинд өвчний сэжигтэй хуц харайлгаж үтрээнээс нь шууд үрийн шингэний арчдас авч болно. Эмнэл зүйн шинж тэмдэгтэй эсхүл шинж тэмдэггүй халдвартай хуц *B.ovis*-ийг хэдэн жилийн турш үрийн шингэнээр ялгаруулна (Blasco, 2010). Хээл хаясан эсхүл дутуу төллөсний дараа авсан үтрээний арчдас, сүүний дээж халдвартай эм хониноос *B.ovis* ялгахад хамгийн тохиромжтой дээж юм.

Задлан шинжилгээний дараа *B. ovis*-ыг ялган авах хамгийн өндөр магадлалтай эрхтэнүүдэд хуцны төмсгийн хэт, үрийн булцуу, үр дамжуулах суваг, цавины тунгалгийн зангилаа, эм хонины үтрээ, аарцаг болон дэлэнгийн дээд тунгалгийн зангилгаа орно. Гэсэн хэдий ч мэдрэх чанарыг дээд зэргээр нэмэгдүүлэхийн тулд бусад эрхтэн болон тунгалгийн зангилааг (дэлүүний, толгойн, далны, гуяны өмнөх, төмсөг орчмын тунгалгийн зангилаа) хамруулан бүрэн үзлэг хийнэ (Blasco, 2010). Үхсэн хурга, түүнчлэн ихэст мөн үзлэг хийнэ. Зулбасан эсхүл амьгүй гарсан хурганы жинхэнэ ходоодны агуулагдахуун, уушгинаас үүсгэгчийг өсгөвөрлөхөд хамгийн тохиромжтой.

Өсгөвөр хийх сорьцыг хөргөж аль болохоор удаалгүй өсгөвөр хийх лабораторид хүргэнэ. Өвчин үүсгэгч тасалгааны хэмд 48–72 цаг амьд байх боловч хэрэв өсгөвөр хийх ажлыг хойшлуулах шаардлагатай бол эдийн сорьцыг хөргөх эсхүл бүр хөлдөөвөл үүсгэгч илүү удаан амьд байна.

1.2. Будах арга

Эмнэл зүйн шинж тэмлэг үзүүлэн өвчилсөн амьтны үрийн шингэн эсхүл үтрээний түрхцийг Штампын аргаар будсаны дараа шалгах (Alton нар, 1988) (3.1.4-р бүлгийг үзэх) бөгөөд халдвар авсан олон амьтанд хэв шинжит коккбацилл харагдана. Штампын аргаар будсан сэжигтэй эдийн (хуцын үржлийн эрхтний зам, цавины тунгалгийн зангилаа, ихэс, хээлийн жинхэнэ ходоодны агуулагдахуун болон уушги) түрхцийг шалгаж богино хугацаанд урьдчилсан онош тавих боломжтой. Гэвч ийм сорьцод хэлбэр зүй болон будагдах шинж чанараараа ижил төстэй бусад бактери (*B. melitensis*, *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus*) бас байж болох тул туршлага дутмаг шинжээчдэд онош тавихад нь хүндрэл учруулна. Ийм учраас дурандах шинжилгээний үр дүнг ямагт бичил биетнийг өсгөвөрлөж баталгаажуулна.

1.3. Өсгөвөр

Өвөрмөц чанарт сайтай учраас хонины шингэн болон эдийн дээжээс *B. ovis*-ыг ялгаж тогтоох нь түүнийг шууд оношлох хамгийн шалгарсан арга бөгөөд хэрэв эерэг бол тухайн амьтан эсхүл сүрэгт *B. ovis-ын* халдвар байгаагийн маргаангүй нотолгоо болно. Үрийн шингэн, үтрээний арчдас, сүүний сорьцыг тохирох тэжээлт орчин бүхий аяганд шууд тараан тарилт хийгээд 5–10% CO^2 бүхий агаартай нөхцөлд 37°C ± 2°C-д өсгөвөрлөнө. Өсгөврийн аяганд тарихын өмнө эдийг дэвтээн зөөлрүүлж бага хэмжээний давсны эсхүл фосфатын буфержүүлсэн давсны ариун уусмал (ФБУ)-д хийн няцлагч эсхүл хэрчигчээр нунтаглана. Нунтаглан жигдрүүлсэн эдийн хэмжээ их байх тусам, оношлох нэг дээжийг өсгөврийн олон аяганд тарих тусам эцсийн оношилгооны мэдрэх чанар өндөр байна гэдгийг анхаарах нь чухал юм.

Ургалт ихэвчлэн 3–4 хоног өсгөвөрлөсний дараа харагдах боловч 7 хоног өнгөрөх хүртэл өсгөврийг сөрөг гэж үзэж хаяж болохгүй. Өсгөвөрлөснөөс хойш 3-4 хоногийн дараа *B.ovis-ын* колониуд (0.5–2.5 мм) харагдаж эхлэх ба барзгар төлөвтэй, дугуй, гялалзсан, гүдгэрдүү хэлбэртэй байна.

Хонины эсхүл үхрийн 10%-ийн цусны ариун ийлдсээр баяжуулсан цустай агарын суурь эсхүл хонины ариун 5–10%-ийн цус нэмсэн цустай агар зэрэг сонгомол бус тэжээлт орчинд *Brucella ovis* -ийг ялган авч болно. Гэвч 4–7 хоног өсгөвөрлөн үүсгэгчийг анх ялгах хугацаанд зэрэгцээд мөөгөнцөр, коммесиал (харилцан ашигтай) болон орчны бактери сонгомол бус тэжээлт орчинд хэт их ургадаг учир үүсгэгчийг ялган таньж нарийн оношлох ажлыг удаашруулна. Ийм учраас *B.ovis* -ийн халдварыг бактери судлалын аргаар мадаггүй

оношлоход сонгомол тэжээлт орчин маш чухал ач холбогдолтой. *Brucella*-ийн гөлгөр омгийг ялган авахад өргөн хэрэглэдэг Феролын өөрчилсөн сонгомол тэжээлт орчин (3.1.4 дүгээр бүлгийг үзэх) *B. ovis*-ын ургалтыг саатуулах тул түүнийг хэрэглэж болохгүй (Marin нар, 1996). Төрөл бүрийн сонгомол тэжээлт орчны мэдээлэл байгаа ч Диэй Мардинзийн (mTM) өөрчилсөн тэжээлт орчныг (Marin нар, 1996) *B. ovis*-ыг өсгөвөрлөхөд амжилттай хэрэглэж байна. Товчхондоо энэ тэжээлт орчныг GC тэжээлт орчныг суурь болгон (АНУ, Дифко 38 г/литр) гемоглобин (10г/литр), колистин метан сульфонат (7.5 мг/литр), ванкомицин (3 мг/литр), нитрофурантоин (10 мг/литр), нистатин (100,000 олон улсын нэгж [ОУН]/литр = 17.7 мг), амфотерицин Б (2.5 мг/литр) нэмээд бэлтгэж болно. Дараах байдлаар ажлын уусмал бэлтгэнэ:

А уусмал: GC тэжээлт орчны суурьд 500 мл нэрмэл ус нэмээд тэжээлт орчныг нам гал дээр тасралтгүй хутган болгоомжтой халааж 120°C-д 20 минут автоклавд ариутгана.

Б уусмал: гемоглобиныг 500 мл цэвэршүүлсэн устай хольж бөөн үүсгэлгүйгээр ус аажуухан нэмнэ. Ууссаны дараа соронзон хутгагчаар хутгаад 120°C-д 20 минут автоклавд ариутгана.

Антибиотикийн уусмал (шинээр бэлтгэнэ): Колистин, нистатин, ванкомицинийг метанол усны (1/1) холимогт хийж холино. Бас нитрофурантойныг 1 мл 0.1 M NaOH ариун уусмалд холино. Амфотерицин Б-ийн 10 мг/мл нөөц уусмал бэлтгэхдээ эхлээд ариун 1 мл диметил сульфоксидод (C_2H_6OS, шинжилгээний ангиллын) 10 мг амфотерицин Б-г уусгаад дээр нь 9 мл ариун ФБУ (10 mM, pH 7.2 ± 0.1) нэмж бэлтгэнэ. Хэрэглээд үлдсэн нөөц уусмалыг 5°C ± 3°C-д 5 хоног хадгалж болно. Антибиотикийн бүх уусмалыг өсгөврийн тэжээлт орчинд нэмэхийн өмнө 0.22 мкм шүүлтүүрээр шүүнэ. Дээрхээс үр дүнгээр арай тааруу ч антобиотикийн дараах хувилбарыг хэрэглэхэд тохиромжтой: ванкомицин (3 мг/литр); колистин (7.5 мг/литр); нистатин (12,500 ОУН/литр); нитрофурантоин (10 мг/литр).

Автоклавд ариутгасны дараа А болон Б уусмал хоёулыг тасралтгүй хутгасаар температурыг (45–50°C) тогтворжуулна. А уусмалыг Б уусмалд хийж бөмбөлөг үүсгэлгүйгээр холино. Тасралтгүй холих явцдаа антибиотикийн уусмалыг болгоомжтой нэмээд ариун аягануудад хуваарилан хийнэ. Бэлтгэсэн аягануудыг удаан хугацаагаар хадгалж болохгүй ба тэжээлт орчныг ямагт шинэ бэлтгэнэ.

Гэвч mTM орчинд гемоглобиныг үндсэн бүрэлдэхүүн хэсэг болгон нэмдгээс тунгалаг биш байх бөгөөд үүний улмаас колонийн хэлбэр зүйг шууд харж шалгахад тохиромжгүй юм. *Brucella*-ийг урьдчилан ялган таних магадгүй хамгийн өргөн хэрэглэгддэг аргачлал болж байдаг энэ аргын хувьд дээрх шинж чанар нь түүний практик хэрэглээнд сөрөг нөлөөтэй (Alton нар, 1988). Үүнийг харгалзан сүүлийн үед шинэ төрлийн тэжээлт орчныг цустай агарын суурийг үндсэн бүрэлдэхүүн хэсэг болгон аваад тугалын 5%-ийн ариун цус болон ванкомицин (20 мг/литр), колистин метанесулфонат (7.5 мг/литр), нитрофурантойн (10 мг/литр), нистатин (100,000 ОУН/литр), амфотерицин Б (4 мг/литр) антибиотикуудыг нэмж зохион бүтээсэн (СИТА гэсэн нэртэй) байна. Антибиотикийн энэ холимгийг mTM тэжээлт орчин бэлтгэхэд дээр зааснаар бэлтгэж болно. Энэхүү шинэ СИТА орчин ихэнх бохирдуулагч бичил биетний ургалтыг саатуулах боловч *Brucella* зүйлийг ургуулна. Үүнээс гадна СИТА орчин *Brucella*-ийн бүх зүйлийг ялган авахад mTM орчноос давуу, хээрийн сорьцоос *Brucella*-ийн гөлгөр төлөвтэй зүйлийг ялган авахад mTM болон Феролын тэжээлт орчны аль алинаас илүү мэдрэмтгий учраас *Brucella*-ийг ялган авахад хамгийн тохиромжтой сонгомол тэжээлт орчин болж байна (De Miguel нар 2011).

Хэрэглэж байгаа бүх тэжээлт орчны чанарыг лавлагаа омог ашиглан шалгаж шаардлага хангаж байгаа эсэхийг тогтооно.

1.4. Ялган тогтоох, хэвшил тогтоох

Brucella ovis-ын колони цус задлахгүй. Колони нь дугуй, гүдгэр, тэгш захтай, ташуу гэрэлд барзгар харагддаг акрифлавины сорилд эерэг дүн үзүүлнэ (Alton нар, 1988). *B.ovis*-ыг 5–10% CO_2-тэй агаарын орчинд өсгөвөрлөх шаардлагатай. *B.ovis* уреазын идэвхгүй, нитратыг нитрит болгон ангижруулахгүй, оксидазад сөрөг байна. Мөн H_2S үүсгэхгүй, метилийн ягаантай нөхцөлд ургадаггүй боловч тионины стандарт төвшрүүлэгтэй нөхцөлд ихэвчлэн ургана. Шинжилгээний ердийн шингэлэлт (RTD) эсхүл 10^4 RTD-тэй байхад өсгөвөр Тбилис (Tb), Вейбриж (Wb), Изатнагар (Iz1) бүлгийн *Brucella*-фагаар задрахгүй, харин R/C фагаар задарна (Alton нар, 1988). Ихэнх лаборатори *Brucella*-ийг зүйлийн болон биохэвшлийн түвшинд бүрэн ялган тогтоох хангалттай тоног төхөөрөмжөөр хангагдаагүй байдаг бөгөөд урьдчилан ялган тогтооход практик хөтөлбөр-арга барил шаардлагатай. Ялган авсан *B.*

ovis-ын ихэнх өсгөврийг тэдгээрийн ургах өвөрмөц шинж чанар, ойсон ташуу гэрлийн тусгалд шууд харагдах байдал, Грам эсхүл Штампын аргаар будагдах байдал, каталаза, оксидаза, уреаза, акрифлавинын сорилд үндэслэн зөв ялган тогтоох боломжтой. Хэдий тийм ч *Brucella*-ийг ялган тогтоох, хэвшил тогтоох чиглэлээр туршлагажсан лавлагаа лабораторид мадаггүй ялган тогтоохыг зөвлөдөг.

Полимеразагийн гинжин урвал, бусад сүүлийн үед боловсруулсан молекул шинжилгээ нь *Brucella*-ийн зүйлийг (3.1.4 дүгээр бүлгийг үзэх) илрүүлэх, ялган тогтоох нэмэлт хэрэгсэл болж оношилгооны олон лабораторид тогтмол хэрэглэгдэх болов. Маш хурдан өсөж үрждэг бичил биетнээр бохирлогдсон эсхүл үхсэн *B. ovis* агуулсан үрийн сорьц байвал ПГУ-ыг шууд онош тогтоох нэмэлт арга болгон хэрэглэх үндэслэл болно. *B. ovis*-ын халдвартай хуцын үрийн сорьцоос бэлтгэсэн стандарт өсгөвөрт хэд хэдэн аргачлалаар ПГУ тавихад мэдрэх чанарын хувьд адилхан байжээ (Xavier нар, 2010). Гэвч ПГУ-д суурилсан эдгээр шууд оношилгооны аргачлалын мэдрэх болон өвөрмөц чанарыг эмнэл зүйн бусад сорьцод сайтар тодорхойлох хэрэгтэй бөгөөд одоохондоо бактери судлалын сонгодог арга *B. ovis*-ыг бактери судлалаар оношлох тэргүүн эгнээний арга гэж үзнэ. Үүний эсрэгээр өсгөврийн аяган дахь колониос ялгасан ДНХ дээжид Bruce-ladder мултиплекс ПГУ (3.1.4 дүгээр бүлэг үзэх) тавихад ихэнх *Brucella*-ийн зүйл, түүний дотор *B. ovis*-ыг найдвартай ялган тогтоох түргэн, өвөрмөц чанар өндөртэй аргачлал юм.

2. Ийлдсийн шинжилгээний арга

Хамгийн үр дүнтэй, өргөн хэрэглэдэг шинжилгээний аргад хавсарга холбох урвал (ХХУ), агарын гельд давхар нэвчүүлэх дархлааны урвал (АГДНДУ), шууд бус энзим холбоост дархлааны урвал (Шб-ЕЛИЗА) орно. *B. ovis*-ын оношилгоонд хэд хэдэн улс орон стандартчилсан янз бүрийн арга хэрэглэж байгаа ч шилжилт хөдөлгөөний өмнө, тэр дундаа олон улсын худалдаанд бодгаль амьтанд энэ өвчний халдваргүйг баталгаажуулахад хамгийн тохиромжтой гэж ДМАЭМБ болон Европын холбооноос хүлээн зөвшөөрсөн ганц арга нь ХХУ болно. Гэхдээ АГНТУ мэдрэх чанарааараа ХХУ-тай адилхан нь нотлогдсоноос гадна хэрэглэхэд илүү хялбар арга юм. Үүнээс гадна хэдийгээр олон улсын стандартчилалд хамрагдаагүй ч хараат бус хэд хэдэн баталгаажуулалтаар Шб-ЕЛИЗА нь мэдрэх чанараар ХХУ, АГНТУ аль алинаас илүү байгааг харуулжээ. Мэдрэх чанараар АГНТУ болон Шб-ЕЛИЗА нь ХХУ-аас илүү байгааг мэдээлсэн байна. Харин эсрэгээрээ Шб-ЕЛИЗА нь ихэнхдээ хэрэглэсэн зааврааас хамаарч өвөрмөц чанараар бага байсан зарим тохиолдлыг мэдээлжээ (Estein нар, 2002; Nielsen нар, 2004; Praud нар, 2012).

Brucella ovis-ын эсрэг олон улсын стандарт ийлдэс (ISaBoS, олон улсын стандарт 1985[1]) нь бусад бүх стандартыг харьцуулж баталгаажуулдаг стандарт юм. Оношилгооны лабораторийн өдөр тутмын ажилд тогтмол хэрэглэх ажлын стандарт бэлтгэн ашиглуулах үүднээс хоёрдогч эсхүл үндэсний стандартыг бий болгоход нь зориулж лавлагааны энэ ийлдсийг үндэсний лавлагаа лабораторид олгож болох юм.

Ийлдэс судлалын шинжилгээнд ашиглах эсрэгтөрөгчийг *Brucella ovis*-ын CO_2 болон ийлдэснээс үл хамаарагч REO 198[2] омгоос бэлтгэж болно.

2.1. Эсрэгтөрөгч

Барзгар *Brucella* эсийг давсны халуун уусмалаар (халуун давсны арга, HS) хандлахад усанд ууссан эсрэгтөрөгчийн хандмал гарах ба түүний гол бүрэлдэхүүн хэсэг нь барзгар *Brucella* ийлдсийг тунадасжуулна (Diaz & Bosseray, 1973; Myers нар, 1972). Иймээс HS хандмалыг “барзгар-өвөрмөц эсрэгтөрөгч” эсхүл *B. ovis*-оос гаргаж авсан бол “*B. ovis*-өвөрмөц эсрэгтөрөгч гэж нэрлэдэг. Гэвч *B. ovis*-оос хандалсан HS хандмалын химийн шинж чанарыг судлахад барзгар липополисахарид (R-LPS), гадна мембраны 3 дугаар бүлгийн уураг, гадна мембраны бүрэлдэхүүн хэсэг ихтэй байжээ (Riezu-Boj нар, 1986). Иймд HS хандмалд *B. ovis* өвөрмөц липополисахаридын детерминантаас гадна эсрэгтөрөгчийн нэмэлт эпитопуудыг агуулах ба эдгээр эпитопын зарим нь барзгар болон гөлгөр *Brucella* аль алинд адилхан байдаг байна (Santos нар, 1984). Ийм эпитопууд солбицох урвалыг нөхцөлдүүлдэг ба энэ нь заримдаа HS арга хэрэглэх үед болон *B. melitensis*-ээр халдварласан эсхүл *B. melitensis* Rev.1 вакцинаар вакцинжуулсан хонины ийлдсийг шинжлэхэд ажиглагддаг (Riezu-Boj нар, 1986). Эдүгээ HS хандмал нь *B. ovis*-ын халдварыг ийлдэс судлалаар оношлоход хамгийн өргөн хэрэглэгдэж байна. Түүний усанд уусах чанар, эсийн гадна мембраны холбогдох

[1] Их Британи дахь ДМАЭМБ-ын Бруцеллез өвчний лавлах лабораториос авах боломжтой: https://www.woah.org/en/what- we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3.
[2] Франц дахь ДМАЭМБ-ын Бруцеллез өвчний лавлах лабораториос авах боломжтой.

эпитопд ихээр агуулагддагт ийлдэс судлалын шинжилгээгээр *B. ovis*-ыг сайн илэрдгийн учир тайлагдана. Гэвч мөн *B. melitensis*-ийн халдвартай эсхүл хонинд *B. melitensis* Rev.1 вакцин хэрэглэсэн нутагт хийсэн гөлгөр *Brucella*-д зориулсан ийлдэс судлалын шинжилгээний үр дүнг боловсруулахдаа *B. ovis*-ын оношилгооны өвөрмөц чанар ямар байхыг анхаарч болгоомжтой боловсруулах хэрэгтэй (Blasco, 2010).

B. ovis REO 198 омгийг өсгөвөрлөхөд Б.1.3 хэсэгт тодорхойлсон сонгомол бус хатуу суурьт тэжээлт орчин шаардлага хангана.

2.1.1. HS эсрэгтөрөгч бэлтгэх

i) Дараах аль нэг аргыг хэрэглэхэд *B. ovis* REO 198 омгийн хамгийн эрчимтэй (экспоненциал) өсөлт явагдана: триптикеиз шар буурцгийн шөлтэй колбод, эсхүл триптикеиз шар буурцгийн агар эсхүл өөр тохирох тэжээлт орчин бүхий Ру колбод, эсхүл *B. abortus*-д тайлбарласан шиг нэг цуврал бүрд зориулсан ферменторт омгийг эргэлдүүлэн холигчтой дулаан тогтоогуурт 37ºC ±2ºC-д минутад 150 удаа эргэлдүүлж 48 цаг өсгөвөрлөнө. *B.ovis* REO 198 омог нь ийлдэснээс үл хамааран өсгөвөрлөгддөг учир тэжээлт орчинд 5%-иар ийлдэс заавал нэмэх албагүй.

ii) Эсийг 0.85%-ийн ариун физиологийн уусмал эсхүл ФБУ-д уусган сэргээгээд 0.85%-ийн ариун физиологийн уусмалаар (12 г хатаасан эс эсхүл 30 г тунамал нойтон эсийг 150 г-д) хоёр дахин угаана.

iii) Дараа нь эсийн цийдмэгийг 120°C-д 15–30 минут автоклавдана.

iv) Хөргөсний дараа цийдмэгийг хурилдуурдаж (15,000 *g*, 5°C ± 3°C, 15 минут) дээд шингэнийг шүүгээд цийдмэгийн эзлэхүүнээс 100 дахин их цэвэршүүлсэн усаар 4°C-д диализ хийх ба усыг 2 хоногт 3 удаа солино.

v) Диализ хийсэн шингэнийг хэт өндөр хурдаар хурилдуурдаж (100,000 *g*, 4°C, 6–8 цаг) тунадсыг бага хэмжээний цэвэршүүлсэн усанд уусган сэргээгээд хөлдөөн хатаана. Хэрэв үүнийг ХХУ-д хэрэглэхээр бэлтгэж байгаа бол хөлдөөн хатаахын өмнө ийлдсийг орлон хамгаалах бодис II (CPSRII)-ыг нэмэх нь тухайн бэлдмэлийн тогтворшил, хавсаргын эсрэг идэвхийг нэмэгдүүлэх боломжтой.

HS-ийг дараа нь цэвэршүүлсэн нэрмэл ус (АГНТУ-д хэрэглэхээр бол) аль эсхүл вероналын буфержүүлсэн давсны уусмалд (ХХУ-д хэрэглэхээр бол) уусган сэргээж таньцлана.

АГНТУ-д хэрэглэх бол уусган сэргээсэн HS-г хэрэгтэй гэж үзвэл хадгалааслагчаар 0.5% фенол нэмж 5°C ±3°C-д байлгаж болно. Эсрэгтөрөгчийн цийдмэгийг удаа дараа хөлдөөж гэсгээхээс зайлсхийнэ (Diaz & Bosseray, 1973).

ХХЦ-ын эсрэгтөрөгчийг ийлдэсний 1/100 шингэлэлтэд 50%-ийн холбогдолт өгч байхуйцаар *Brucella ovis*-ын эсрэг олон улсын стандарт ийлдэс (БоОУСИ) ашиглан стандартчилна. ХХУ-ын эсрэгтөрөгчийн цуврал бүрийг ХХУ тавих ердийн шинжилгээний аргачлалаар таньцлах ёстойг онцлох нь зүйтэй. Ийм учраас ХХУ-ын эсрэгтөрөгчийг (худалдаанд гарсан эсхүл лабораторидоо бэлтгэсэн) тодорхой ХХУ-ын аргачлалаар ашиглахын өмнө лабораторидоо эсрэгтөрөгчийн таньцыг ХХУ-ын ижил аргачлалаар тогтоосон байна.

Стандартчилах сайтар боловсруулсан аргачлал байхгүй бол Шб-ЕЛИЗА болон АГНТУ-ын эсрэгтөрөгчийн таньцыг тохирох эсрэг болон сөрөг ийлдсийн цомог ашиглан тогтооно.

2.1.2. Шб-ЕЛИЗА-г стандартчилах

Шб-ЕЛИЗА-г ХХУ-тай харьцуулан баталгаажуулсан сүүлийн үеийн ажилд ашигласан Шб-ЕЛИЗА-г стандартчиллын шалгуур үзүүлэлт (Praud нар, 2012):

i) Сөрөг ийлдсэнд (эсхүл нийлүүлсэн сөрөг ийлдэс) 1/64 -өөр урьдчилан шингэлсэн БоОУСИ эерэг урвал үзүүлэх ёстой;

ii) Сөрөг ийлдсэнд (эсхүл нийлүүлсэн сөрөг ийлдэс) 1/256-аар урьдчилан шингэлсэн БоОУСИ сөрөг урвал үзүүлэх ёстой;

Эдгээр шалгуур үзүүлэлтийг олон улсын хэмжээний ур чадварын сорилоор баталгаажуулах шаардлага бий.

Ямарч тохиолдолд худалдаанд бэлэн гарсан эсхүл лабораторидоо бэлтгэсэн Шб-ЕЛИЗА-г 1.1.6. *Халдварт өвчний оношилгооны аргыг баталгаажуулах зарчим, арга* бүлгийн дагуу баталгаажуулах ёстой.

2.2. Хавсарга холбох урвал

ХХУ-ын стандартчилагдсан арга байхгүй учраас олон улсын стандарт ийлдэс хэрэглэхийг зөвлөдөг (Б.2.2.2 хэсгийг үзэх). Бичил таньцлалтын арга хэрэглэн энэ шинжилгээг маш хялбархан хийж байна. Хүйтэн аргаар хавсарга холбох нь халуун холболтын аргаас мэдрэх чанараар илүү (Ris нар, 1984) боловч өвөрмөц чанараар доогуур юм. Гэвч хүйтэн холболтын аргаар хонины цус шинжлэхэд хавсаргын эсрэг урвал илүү олон давтагдана.

Усан гахайн хавсаргын таньцалсан уусмалд хонины шинэхэн улаан эс (ХШУЭ) 100% задрахад шаардагдах хамгийн бага төвшрүүлгийг хэд дахин агуулахаар (голдуу 2-5 дахин) шингэлсэн ХШУЭ-ийн эсрэг туулайн адилхан хэмжээний ийлдсээр мэдрэгжүүлсэн, янз бүрийн төвшрүүлэгтэй ХШУЭ хэрэглэн (ихэвчлэн 2–3% цийдмэг хэрэглэхийг зөвлөдөг) ХХУ тавих хэд хэдэн арга санал болгосон байна. Мэдрэгжүүлсэн ХШУЭ стандартчилсан цийдмэгийн нэгж эзлэхүүнд 50% аль эсхүл 100% задрал үүсэхэд шаардагдах хавсаргын хэмжээг тогтоохын тулд усан гахайн хавсаргыг тусад нь таньцалсан (уг аргын дагуу эсрэгтөрөгч байгаа эсхүл байхгүй нөхцөлд) ба ингэхдээ хавсаргын 50% эсхүл 100 цус задлах нэгж ($C'H_{50}$ эсхүл $C'H_{100}$) гэж тогтоосон болно. Ерөнхийдөө шинжилгээ хийхийн өмнө хавсаргыг таньцлахыг зөвлөдөг ба $C'H_{50}$-ыг хамгийн оновчтой тогтооход ихэвчлэн макро арга хэрэглэхийг чухалчилна. Шинжилгээнд ихэвчлэн 1.25–2 $C'H_{100}$ эсхүл 5–6 $C'H_{50}$-ыг ашиглаж байна.

Барбиталаар (веронал) буфержүүлсэн давсны уусмал (ББДУ) нь ХХУ-ын стандарт шингэлэгч юм. Энэ шингэлэгчийг худалдаанд бэлэн байдаг шахмалаар бэлтгэхээс гадна 3.1.4 дүгээр бүлэгт тодорхойлсны дагуу найруулж бэлтгэнэ. Шинжлэх ийлдсийг усан халаагуурт 60–63°C-д 30 минут тавьж идэвхгүйжүүлэх ба ББДУ-аар шингэлнэ (хоёр дахин шингэлэх). HS эсрэгтөрөгчийн нөөц уусмалыг (ББДУ-д 2.5–20 мг/мл) урьдчилан тогтоосон таньцлалын (шатрын хөлгөн таньцлалт) дагуу ББДУ-аар шингэлнэ. Ихэвчлэн ийлдсийн зөвхөн нэг шингэлэлтийг шинжилдэг (үндсэндээ 1/10).

2.2.1. Шинжилгээний аргачлал

Дугуй (U) ёроолтой 96 үүр бүхий бичил таньцлалтын стандарт хавтан ашиглан шинжилгээг дараах байдлаар явуулна:

i) Идэвхгүйжүүлээд шингэлсэн шинжлэх ийлдэснээс 25 мкл эзлэхүүнийг эхний болон хоёрдох мөрний үүрэнд хийнэ. Эхний мөр нь шинжлэх ийлдэс тус бүрийн хавсаргын эсрэг хяналт болно. Эхний өрний (хавсаргын эсрэг хяналт) үүрнүүдэд 25 мкл ББДУ нэмж эсрэгтөрөгчийн дутууг нөхнө. Хоёрдох мөрний үүрнээс бусад бүх үүрэнд 25 мкл ББДУ нэмнэ. Дараа нь гуравдах мөрний үүрнээс 25 мкл-ийг авч хойшоогоо үүр дамжуулан шилжүүлэн дараалсан хоёр дахин шингэлэлт хийгээд хамгийн сүүлийн мөрөн дэх холимгоос 25 мкл-ийг авч асгана.

ii) Ажлын төвшрүүлэгтэй болгон шингэлсэн 25 мкл эсрэгтөрөгчийг нэгдүгээр мөрний үүрнүүдээс бусад үүрэнд нэмнэ.

iii) Шаардагдах нэгжийн тоогоор шингэлсэн хавсаргаас 25 мкл-ийг бүх үүрэнд нэмнэ.

iv) Хяналтын үүрнүүд нь тус бүрдээ нийт 75 мкл эзлэхүүнтэй байхаар тохируулах ба үүрнүүд дараах зүйлийг агуулна;

а. Зөвхөн шингэлэгч,

б. Хавсарга +шингэлэгч,

в. Эсрэгтөрөгч + хавсарга + шингэлэгч.

Эерэг урвал хамгийн бага үзүүлсэн хяналтын ийлдсийг тухайн шинжилгээний мэдрэх чанарыг баталгаажуулах шинжилгээ бүрд оруулж шинжилнэ.

v) Хавтанг 37°C ±2°C-д 30 минут эсхүл 5°C ±3°C-д хонуут байлгаад үүр бүрд мэдрэгжүүлсэн ББДУ (аргаас хамаарч 25 эсхүл 50 мкл) нэмнэ. Хавтанг дахин 37°C ± 2°C-д 30 минут байлгана.

vi) Хавтанг 5°C± 3°C-д 1000 *g* -аар 10 хурилдуурдах эсхүл 5°C ± 3°C -д 2–3 цаг байлгаж задраагүй эсийг суулгасны дараа урвалын үр дүнг уншина. Цус задралын зэргийг 0, 25, 50, 75, 100%-ийн задралын стандарттай харьцуулан тогтооно. Шинжилж буй ийлдэсний таньц нь цус задрал 50% эсхүл түүнээс бага байх хамгийн өндөр шингэлэлт болно.

2.2.2. Хавсарга холбох урвалын үр дүнг стандартчилах

Brucella ovis-ын эсрэг олон улсын стандарт ийлдсэнд (БоОУСИ эсхүл олон улсын стандарт 1985) [зүүлт 3-ыг үзэх]) суурилсан нэгжийн систем бий. Энэ ийлдэс 1 мл-дээ 1000 ХХУ-ын олон улсын нэгж (ХХУОУН) агуулна. Энэ ийлдсийг тухайн сонгосон аргаар шинжлэхэд таньц нь жишээ нь 200 (50% цус задрал) байсан бол дээрх сонгосон аргаараа шинжилсэн битүү ийлдсэнд харгалзах хүчин зүйлийг дараах томьёогоор олно: 1000/200 × ийлдэсний таньц = шинжилсэн 1 мл ийлдэс дэх эсрэгбиеийн ХХУОУН-ийн тоо. Үндэснийхээ хэмжээнд ХХУ хэрэглэдэг аливаа улс адил аргаар шинжилгээ хийдэг төрөл бүрийн лабораториуд хоорондоо *B. ovis*-ыг өсгөвөрлөхөд эерэг дүн үзүүлсэн болон *Brucella*-ийн халдваргүй хониноос авч бэлтгэсэн шаардлага хангах ийлдсийн цомог ашиглан мэдрэх чанар, өвөрмөц чанарын хувьд адил түвшинд байлгах талаар нэгдсэн шийдэлд хүрэх нь зүйтэй юм. Үр дүнг олон улсын стандарт ашиглан калибровка хийсэн байж болох ийлдэстэй зэрэгцүүлэн таньцласан дүнтэй харьцуулан тооцоолж ямагт ХХУОУН-ээр илэрхийлнэ.

2.2.3. Үр дүнг боловсруулах

50 ХХУОУН/мл эсхүл түүнээс дээш таньцтай ийлдсийг эерэг гэж үзнэ.

2.3. Энзим холбоост дархлааны урвал

Уг шинжилгээний аргын хэд хэдэн хувилбар бий. Хэдийгээр бусад аргачлал хэрэглэж болох ч энд өнгө үүсгэгчээр ABTS (2,2’-azino-bis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid])-ийг ашигладаг шууд бус ЕЛИЗА-ыг тодорхойлж оруулсан бөгөөд эдүгээ хэд хэдэн цомог худалдаанд гарчээ.

Шинжилгээг хавтгай ёроолтой 96 үүртэй ЕЛИЗА хавтанд хийнэ.

Урвалж болон ийлдсийг 0.05% Твин 20 (ФБУТ) нэмсэн pH 7.2 ±0.2 бүхий ФБУ-аар шингэлнэ.

Эсрэгтөрөгчийн шингэлэлтийг карбонат/бикарбонатын буферт (pH 9.6 ±0.2) шингээх зорилгоор хийнэ. Хавтанг эсрэгтөрөгчөөр бүрсний дараа болон түүнийг тогтмол дулаанд байлгах завсар хооронд ихэвчлэн ФБУТ (дор үз)-ээр угаана. Эсрэгтөрөгч (HS) болон коньюгатыг шатрын хөлгийн аргаар-загвараар таньцлах ба эерэг ба сөрөг стандарт ийлдсийг хооронд нь хамгийн сайн ялгаварлаж чадах тэр шингэлэлтийг сонгоно. Хоёрдогч эсрэгбиеийг (ө.х. хонины IgG эсрэг [H+L гинжнүүд]) ихэвчлэн тунхууны пероксидазатай (HRPO) коньюгатлах ба бусад энзим эсхүл коньюгат (рекомбинант G уураг /HRPO) ашиглаж бас болно. Үхрийн IgG1–HRPO-ийн ИГЭБ-ийг Шб-ЕЛИЗА-д хэрэглэхэд тохиромжтой болохыг тогтоожээ (Vigliocco нар, 1997). Пероксидазагийн коньюгат хэрэглэж байгаа нөхцөлд өнгө үүсгэгч, ихэвчлэн ABTS-ийг субстратын буферээр шингэлнэ (натрийн цитрат, нимбэгийн хүчлээс бүрдэнэ, дор үз)[4]. Дээр нь субстрат, ус төрөгчийн хэт исэл (H_2O_2) нэмээд хавтанг тасалгааны хэмд (22°C ±4°C) 15-30 минут тавина. Урвалыг натрийн азид эсхүл өөр урвалж нэмж зогсоогоод өнгөний өөрчлөлтийг 405–414 нм-д уншина (3.1.4 бүлгээс дэлгэрүүлэн үзэх).

Шб-ЕЛИЗА-д ашиглах эсрэгтөрөгч нь бүрхэх буферт 1 мг/мл-ээр бэлтгэсэн нөөц уусмал дахь HS бөгөөд түүний мэдрэх болон өвөрмөц чанар нь хамгийн өндөр байхуйц ажлын төвшрүүлгийг тогтоохоор стандарт ийлдэс эсхүл *B. ovis*-ыг өсгөвөрлөхөд эерэг дүн үзүүлсэн болон *Brucella*-ийн халдваргүй хониноос авч бэлтгээд дараалан шингэлсэн ийлдэс ашиглан шатрын хөлгөн таньцлалтын загвараар эсрэгтөрөгч, коньюгат, субстратын янз бүрийн шингэлэлтээр таньцыг тогтоосон болно.

Шинжилгээ хийх бүрдээ эерэг болон сөрөг хяналтыг хамт шинжилнэ. Шинжилгээний хавтан тус бүрийн хэмжилтийн үр дүнг баталгаажуулах шалгуурыг тогтоохын тулд эдгээр хоёр хяналтын гэрлийн нягтын хязгаарыг хэмжинэ. Шинжилсэн ийлдэсний гэрлийн нягтыг эерэг хяналтын гэрлийн нягтад харьцуулан эцсийн хариуг (эерэг эсхүл сөрөг) гаргана.

Шинжилгээг өөр өөр хугацаанд хийсэн ч, хавтангаа сольж хийсэн ч үр дүн нь давтагдаж байгаа эсэхийг харуулахын тулд шинжилгээний хавтан тус бүрд эерэг ийлдэс (дотоод хяналт) нэмж оруулж шинжилнэ.

2.3.1. Шинжилгээний аргачлал (жишээ)

i) Сайн чанарын полистиренээр хийсэн бичил таньцлалтын хавтанг (янз бүрийн брэндийн хавтангийн шингээх чанар өөр байдаг учраас шинжилгээний үр дүн тогтвортой гарахад сайн чанарын хавтан ач холбогдолтой) шингээх буферээр урьдчилсан тооцоолсны дагуу шингэлсэн 100 мкл эсрэгтөрөгчийг үүр бүрд нэмэх замаар бүрнэ.

Шингээх буфер (0.06 М карбонат–бикарбонатын буфер, pH 9.6 ± 0.2):

а. Уусмал А: 10 мл цэвэршүүлсэн усанд 0.84 г $NaHCO_3$.

б. Уусмал Б: 10 мл цэвэршүүлсэн усанд 1.06 г Na_2CO_3.

4.53 мл А уусмалыг 1.82 мл Б уусмалтай холиод 100 мл хүртэл цэвэршүүлсэн усаар дүүргэнэ.

Битүүлсэн хавтанг 37°C ±2°C дулаан тогтоогуурт хонуут тавина. Хавтанг угаагч буферээр дөрвөн удаа угааж холбогдоогүй үлдсэн эсрэгтөрөгчийг зайлуулаад уруу харуулан уудаг цаасан дээр хүчтэй товшиж хатаана.

Угаагч буфер (0.01 М ФБУ, pH 7.2 ± 0.2, 0.05% Твин 20 агуулна):

а. Нөөц уусмал:

Уусмал А: 150 мл цэвэршүүлсэн усанд10.96 г Na_2HPO_4:

Уусмал Б: 150 мл цэвэршүүлсэн усанд 3.15 г NaH_2PO_4 (H_2O) (хэрэв NaH_2PO_4 2(H_2O) хэрэглэх бол 150 мл цэвэршүүлсэн усанд 3.5 г).

б. А ба Б уусмалыг холиод 400 мл хүртэл цэвэршүүлсэн усаар дүүргэнэ.

в. Угаагч буфер (ФБУТ): 40 мл нөөц уусмал + 8.5 г NaCl, бас 0.05% Твин 20 нэмээд 1000 мл хүртэл цэвэршүүлсэн усаар дүүргэнэ.

Бүрээд угаасан хавтанг яаралтай хэрэглэх эсхүл хатаагаад 5°C ±3°C-д хадгална (энэ нөхцөлд наад зах нь нэг сар тогтвортой байна). Шингээгч буферээр 2.5–15 мкг/мл ажлын төвшрүүлэгтэй болгоод хэрэглэхэд HS-ийн ихэнх цуврал шаардлага хангасан байна.

ii) *Ийлдэс:* шинжлэх дээж болон эерэг, сөрөг хяналтын ийлдсийг шингэлнэ (10 мкл ийлдсийг 1-2 мл ФБУТ-д нэмэхэд ихэнхдээ хамгийн оновчтой 1/100 - 1/200 ажлын шингэлэлт болно). Эдгээр ийлдэсний ажлын шингэлэлтийг ихэнхдээ IgG-ийн коньюгатын эсрэг олон гарлын эсхүл ижил гарлын эсрэгбиеийн алинаар ч хийвэл хамгийн тохиромжтой болдог. Гэвч ажлын сул (голдуу 1/50) шингэлэлтэд G уураг-HRPO коньюгатыг ашиглавал хамгийн тохиромжтой (Marin нар, 1998). Бичил таньцлалтын хавтангийн дээр хос үүр тус бүрд 100 мкл дээж хийнэ. Хавтанг таглаад эсхүл зориулалтын наалт наагаад 37°C ±2°C-ын дулаан тогтоогуурт 40–60 минут байлгаж ФБУТ угаагч буферээр 3 удаа угаана.

iii) *Коньюгат*: ФБУТ-д таньцласан коньюгатын (аль алиныг HRPO-той холбож болдог G уураг эсхүл хонины IgG (H+L)-ын эсрэг өөр гарлын туулайн эсрэгбиеийг хамгийн өргөн хэрэглэдэг) хамгийн оновчтой ажлын шингэлэлтийг үүрнүүдэд нэмж хавтанг бүрхээд 37°C ±2°C-ын дулаан тогтоогуурт 40–60 минут байлгана. Дараа нь ФБУТ угаагч буферээр дахин 3 удаа угаана.

iv) *Субстрат:* хэд хэдэн сонголт байгаа ч цитратын буферт бэлтгэсэн 0.004% H_2O_2 агуулсан АВТС-ийн 0.1%-ийн уусмалыг (ж/э) ихэвчлэн хамгийн өргөн

хэрэглэдэг[3]:

Цитратын буфер (0.05 М, pH 4 ±0.2):

а. Уусмал А: 1000 мл цэвэршүүлсэн усанд 22.97 г нимбэгийн хүчил ($C_6H_8O_7.H_2O$)

б. Уусмал Б: 1000 мл цэвэршүүлсэн усанд 29.41 г натрийн цитрати ($Na_3C_6H_5O_7.2H_2O$)

660 мл А уусмалыг 470 мл Б уусмалтай хольж 2000 мл хүртэл цэвэршүүлсэн усаар дүүргэнэ. Дараа нь өндөр цэвэршилттэй шинэ 0.004% H_2O_2 нэмнэ.

Субстратын уусмалыг (100 мкл/үүр) нэмж хавтанг тасалгааны хэмд тасралтгүй зайлан 15–30 минут байлгана.

v) *Үр дүнг унших, боловсруулах*: гэрэл шингээлтийг спектрофотометрээр 405–414 нм-д автоматаар уншина. Гэрэл шингээлтийн дунджийг эсхүл эерэг хяналтын гэрэл шингээлтийн дунджийн эзлэх хувь эсхүл эерэг хяналтын дараалсан шингэлэлтийн хэмжилтийн үр дүнгээр байгуулсан стандартын муруйгаас харгалзах үр дүнг харж гараар эсхүл компьютероор Шб-ЕЛИЗА нэгжид шилжүүлэхийг хичээх нь зүйтэй. Дээж тус бүрийг хосоор шинжилсэн үр дүн адилхан байх ёстой. Үр дүн ихээхэн зөрөөтэй бол тухайн ийлдсийг дахин шинжилнэ. Эцсийн үр дүнг тооцоолохын өмнө хавтан тус бүрийн үр дүнг баталгаатай болгох ёстой ба ингэхдээ эерэг болон сөрөг хяналтын гэрлийн нягт, мөн түүнчлэн дотоод хяналтын урьдчилан тооцоолсон утгын хязгаарт шилжүүлсэн гэрлийн нягтыг харгалзана.

Баталгаажуулалтын тохиромжтой арга хэрэглэн эерэг болон сөрөг үр дүнг зааглах босго утгыг зөв тогтоох, боломж байвал энэ утгыг хэрэглэхэд эргэлзээтэй үр дүн гарахааргүй тогтоосон байх хэрэгтэй (1.1.6 дугаар бүлгийг үз). Дээр өгүүлсний дагуу тухайн шинжилгээний арга асуудалтай байвал БоОУСИ эсхүл тохирох хоёрдох эсхүл тухайн улсын стандарт ашиглан баталгаажуулах хэрэгтэй.

2.4. Агарын гельд нэвчин тунадасжих урвал

АГНТУ-ын шинжилгээнд (Blasco, 1990) дараах урвалжийг хэрэглэнэ. Сайн чанарын Нобль агар эсхүл агароз, натрийн хлорид, боратын буфер (борын хүчил [12.4 г]; калийн хлорид [14.5 г]; 0.2 М NaOH уусмалаар pH 8.3 ±0,02 болгон тохируулсан цэвэршүүлсэн ус [1600 мл]; 2000 мл хүртэл цэвэршүүлсэн ус нэмж бэлтгэнэ).

2.4.1. Агарын гель бэлтгэх

1 г агароз (эсхүл Нобль агар) 10 г натрийн хлорыг 100 мл боратын буферт уусгана (тасралтгүй хутгаж буцалгана).

Хавтгай гадаргуу дээр тавьсан цэвэрхэн тавиур шилийг 2.5 мм зузаан үе тогтоох хэмжээгээр хайлмаг гелиэр (стандарт тавиур шилийг бүрхэхэд ойролцоогоор 3.5 мл орно) бүрхэнэ.

Гелийг хатуурсны дараа гель цоологч ашиглан гельд үүрнүүд гаргана.

Үүрийг 3 мм голчтой төвийн үүрийг тойрсон зургаан талт хэлбэртэй, тус бүр 3 мм голчтой хоорондоо 3 мм зайтай байхаар тооцож гаргана.

Шинжилгээг Петрийн аяга ашиглан, мөн үүрийг өөр хэлбэрээр гарган хийж болно.

2.4.2. Шинжилгээний аргачлал

Шинжлэх ийлдсийг сөрөг болон эерэг (бактери судлалаар халдвартайг тогтоосон) ийлдэстэй сөөлжүүлэн захын үүрэнд хийх ба төвийн үүрэнд хамгийн оновчтой төвшрүүлэг бүхий эсрэгтөрөгч хийнэ.

[3] TMB (3,3′,5,5′- тетраметилбензидин) нь ЕЛИЗА урвалд тунхууны пероксидазаг илрүүлэхэд мөн нийтлэг хэрэглэгддэг өнгө үүсгэгч субстрат бөгөөд хэд хэдэн хэлбэртэй байх ба хорт халдвар үүсгэдэггүй.

Чийгээ барьдаг хайрцагт хийгээд тасалгааны хэмд 24 болон 48 цаг байлгасны дараа үр дүнг уншина.

Төвийн болон шинжилж буй ийлдэстэй үүрийн хооронд төвийн болон эерэг хяналтын үүрний хооронд тогтсон зурвастай бүрэн эсхүл хэсэгчлэн адилхан тунадасжилтын тод зурвас үүсэх нь эерэг урвалын нотолгоо болно.

Төвийн болон эерэг хяналтын үүрний хооронд тогтсон зурвастай яг адилхан биш тунадасжилтын зурвас үүсэх нь HS хандмалын эсрэгтөрөгчийн жижиг бүрэлдэхүүн хэсэгтэй холбоотойгоор ихэвчлэн үүсдэг байна (*B. melitensis*-ийн халдвар эсхүл Rev.1 вакцинаар вакцинжуулсан тохиолдолд эдгээр бүрэлдэхүүн хэсгийн эсрэгбие үүсэх нь нийтлэг байдаг).

Цэвэршүүлсэн усаар шингэлсэн HS (2.5–20 мг/мл) нь (хадгалааслагчаар 0.5% фенол болно) АГНТУ-д хамгийн өргөн хэрэглэдэг эсрэгтөрөгч юм (хадгалааслагчтай эсрэгтөрөгчийг хөргөгчид нэг сар хүртэл хадгалж болно).

Эсрэгтөрөгчийн шингэлэлтийг *B. ovis*-ын байгалийн халдвартай 20-30 хуцын ийлдэсний бүрдэл болон *Brucella*-ийн халдваргүй хонины ийлдэсний бүрдэл ашиглан шалгана. Эсрэгтөрөгчийн хамгийн оновчтой ажлын төвшрүүлэг нь *B. ovis*-ын халдвартай хуцнуудаас авсан хяналтын бүх ийлдсэнд хамгийн тод тунадасжилтын зурвас үүсгэдэг бөгөөд *Brucella*-ийн халдваргүй амьтнаас авсан ийлдэстэй ижил сөрөг дүн үзүүлсэн нэг нь байна

Шб-ЕЛИЗА шинжилгээний мэдрэх чанар АГТНУ болон ХХУ-ын аль алинаас нь илүү байсныг харьцуулсан судалгаагаар харуулсан байна (Blasco, 2010; Gall нар, 2003; Praud нар, 2012; Ris нар, 1984). Гэвч Шб-ЕЛИЗА-аар сөрөг мөртөө АГНТУ (эсхүл ХХУ-аар) эерэг эсхүл үүний эсрэгээр урвал үзүүлдэг ийлдэс гардаг учраас АГНТУ (эсхүл ХХУ) болон Шб-ЕЛИЗА-г зэрэгцүүлэн хосоор нь хэрэглэн шинжилгээний мэдрэх чанарыг хамгийн оновчтой түвшинд байлгаж энэ өвчний халдвартай бүс нутагт эсхүл сүрэгт өвчин устгах хөтөлбөр хэрэгжүүлэхэд ач холбогдолтой байж болно (Blasco, 2010; Praud нар, 2012).

Үүнээс гадна ХХУ-аар шинжилгээ хийхэд төвөгтэй, ийлдсийг заавал идэвхгүйжүүлэх шаардлагатай болдог, зарим ийлдсэнд хавсаргын эсрэг идэвх илэрдэг, улаан эс задарсан ийлдэс шинжлэхэд хэцүү, прозоны нөлөө гарах зэрэг дутагдалтай тал их бий. АГНТУ болон Шб-ЕЛИЗА аль алины мэдрэх чанар, хэрэглэх болон үр дүнг боловсруулахад хялбар байдлыг харгалзан тэдгээрийг энэ өвчнөөр тайван эсхүл бараг тайван болсон бүс нутагт хийх тандалтад хэрэглэхийг чухалчилдаг.

B.ovis-той солбицох урвалд орохоор эпитоптой бактерийн халдварын улмаас *B. ovis*-ыг ийлдэс судлалын аргаар шинжлэхэд хуурамч эерэг дүн үзүүлдэг эсэх баримт хомс юм. Балцруу өвчин үүсгэгч (*Dichelobacter nodosus*) ийлдэс судлалын шинжилгээгээр *B.ovis*-той солбицох урвалд ордгийг мэдээлдэг ч солбицох энэхүү урвал нь *B. ovis*-ыг оношлох шинжилгээнд хэр зэрэг хэмжээнд хэрхэн нөлөөлдөг нь бүрхэг байна. Үүнээс гадна уусдаг хандмал нь *B. ovis*-ын халдвартай хуцын ийлдэстэй солбицох урвалд ордог *Arcanobacterium pyogenes* болон *Corynebacterium ovis*-ыг АГНТУ болон Шб-ЕЛИЗА аль алинаар хүчтэй эерэг урвал үзүүлсэн хуцын хэд хэдэн тунгалгийн зангилаанаас ялган авсан байна (Blasco, 2010; Blasco & Moriyon, нийтлүүлээгүй үр дүн).

В. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

Халдварыг хуц, эм хонь аль аль нь дамжуулдаг (Blasco, 2010; Grilló нар, 1999) учраас халдварын тархалт ихтэй нутагт *B. ovis*-той тэмцэх дунд хугацааны хамгийн хэмнэлттэй, хэрэгжих боломжтой арга бол хуц, эм хонь аль алиныг вакцинжуулах арга юм. Урт хугацааны тэмцэх арга хэмжээ хэрэгжүүлэхдээ вакцинжуулалтын үр нөлөөг ийлдэс судлалын шинжилгээгээр хэрхэн тогтоох, *B. ovis*-оор тайван болох хөтөлбөрийн хэрэгжилтэд учирч болох бэрхшээлийг харгалзан үзэх хэрэгтэй.

B. ovis-д зориулсан тусгайлсан вакцин байхгүй ч *B. melitensis* амьд омгийн Rev.1 (3.1.4 дүгээр бүлэгт чанарын шаардлагын хамт тодорхойлсон) мөн *B. ovis*-ын эсрэг дархлаа тогтооход тохиромжтой (Blasco, 1990). *B. ovis-ын* эсрэг идэвхтэй дархлаа тогтоохын тулд 3-5 сарын бойжилттой төлд Rev.1 вакцины стандарт дан тунг (10^9 колони үүсгэх нэгж) арьсан дор тарьж (1 мл эзлэхүүн) эсхүл нүдний

салст бүрхэвчид (25–30 мкл эзлэхүүн) дусааж олгоно. Нүдэнд дусааж вакцинжуулахад арьсан дор тарихад үүсдэг ийлдсийн хүчтэй, удаан үргэлжилдэг хариу урвал хамгийн бага түвшинд үүсгэх давуу талтай бөгөөд энэ нь ийлдэс судлалын шинжилгээний мэдрэх чанарыг сайжруулах (Blasco, 1990) ба вакцинжуулалтын дараах ийлдэс судлалын шинжилгээний үр дүнг боловсруулалтыг хөнгөвчилнө.

Rev.1 вакцин өсвөр болон бие гүйцсэн аль ч малд аюулгүй бөгөөд гаж нөлөө маш ховор илэрнэ (Marin нар, 1990; Muñoz нар, 2008). Ийм учраас энэ өвчний тархалт их, өргөн хүрээтэй тэмцэх арга хэмжээ хэрэгжүүлдэг улс оронд өсвөр болон бие гүйцсэн эрүүл аль ч малаа вакцинжуулж байх хэрэгтэй (3.1.4 бүлгийг үзэх). *B. ovis*-ын халдвартай мөртөө *B. melitensis*-ээр тайван улс оронд Rev.1 вакцин хэрэглэхийн өмнө ийлдэс судлалын шинжилгээний үр дүнд гарч болзошгүй асуудлыг анхааран үзэж түүнийг хамгийн бага түвшинд байлгахын тулд вакциныг нүдэнд дусааж хэрэглэхийг чухалчлах хэрэгтэй.

B. abortus RB51 вакциныг хонинд *B. ovis*-ын эсрэг хэрэглэхэд үр дүнтэй эсэх нь өдий хүртэл батлагдаагүй (Jiménez De Bagües нар, 1995) байгаа бөгөөд харин эсийн түвшний шинэ үеийн вакцин хэрэглэхэд үр дүнтэй байх төлөвтэй байна (Cassataro нар, 2007; Da Costa Martins нар, 2010; Muñoz нар, 2006). Гэвч эдгээрийг үйлдвэрлэлд хэрэглэх зөвшөөрөл одоогоор байхгүй байна.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

ALTON G.G., JONES L.M., ANGUS R.D. & VERGER J.M. (1988). Techniques for the Brucellosis Laboratory. INRA, Paris, France.

BLASCO J.M. (1990). *Brucella ovis*. *In:* Animal Brucellosis, Nielsen K. & Duncan J.R., eds. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 351–378.

BLASCO J.M. (2010). *Brucella ovis* infection. *In:* Infectious and Parasitic Diseases of Livestock, Lefèvre P.C., Blancou J., Chermette R. & Uilenberg G., eds. Lavoisier, Paris, France. Vol. 2:1047–1063.

BULGIN M.S. & ANDERSON B.C. (1983). Association of sexual experience with isolation of various bacteria in cases of ovine epididymitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc*., **182**, 372–374.

CASSATARO J., PASQUEVICH K.A., ESTEIN S.M., LAPLAGNE D.A., ZWERDLING A., DE LA BARRERA S., BOWDEN R., FOSSATI C.A., GIAMBARTOLOMEI G.H. & GOLDBAUM F.A. (2007). A DNA vaccine coding for the chimera BLSOmp31 induced a better degree of protection against *B. ovis* and a similar degree of protection against *B. melitensis* than Rev.1 vaccination. *Vaccine*, **25**, 5958–5967.

DA COSTA MARTINS R., IRACHE J.M., BLASCO J.M., MUÑOZ M.P, MARÍN C.M., JESÚS GRILLO M., JESÚS DE MIGUEL M., BARBERÁN M. & GAMAZO C. (2010). Evaluation of particulate acellular vaccines against *Brucella ovis* infection in rams. *Vaccine*, **28**, 3038–3046.

DE MIGUEL M.J., MARÍN C.M., MUÑOZ P.M., DIESTE L., GRILLÓ M.J. & BLASCO J.M. (2011). Development of a selective culture medium for primary isolation of the main *Brucella* species. *J. Clin. Microbiol.*, **49**, 1458–1463.

DIAZ R. & BOSSERAY N. (1973). Identification d'un composé antigénique spécifique de la phase rugueuse (R) des *Brucella*. *Ann. Rech. Vet.,* **4,** 283–292.

ESTEIN S.M., BALDI P.C. & BOWDEN R.A. (2002). Comparison of serological tests based on outer membrane or internal antigens for detecting antibodies to *Brucella ovis* in infected flocks. *J. Vet. Diagn. Invest*., **14**, 407-411.

GALL D., NIELSEN K., VIGLIOCCO A., SMITH P., PEREZ B., ROJAS X. & ROBLES C. (2003). Evaluation of an indirect enzyme-linked immunoassay for presumptive serodiagnosis of *Brucella ovis* in sheep. *Small Rumin. Res.*, **48**, 173–179.

GARCÍA-PASTOR L., BLASCO J.M. & BARBERÁN M. (2009). Pasteurellosis as a cause of genital lesions in rams. A descriptive study. *Small Rumin. Res*., **87**, 111–115.

GRILLÓ M.J., MARÍN C., BARBERÁN M. & BLASCO J.M (1999). Experimental *Brucella ovis* infection in pregnant ewes. *Vet. Rec*., **144**, 555–558.

JIMÉNEZ DE BAGÜES M.P., BARBERÁN M., MARÍN C.M. & BLASCO J.M. (1995). The *Brucella abortus* RB51 vaccine does not confer protection against *Brucella ovis* in rams. *Vaccine*, **13**, 301–304.

LIVINGSTONE C.W. & HARDY W.T. (1964). Isolation of *Actinobacillus seminis* from ovine epididymitis. *Am. J. Vet. Res.,* **25**, 660–663.

MARÍN C.M., ALABART J.L. & BLASCO J.M. (1996). Effect of antibiotics contained in two *Brucella* selective media on growth of *B. abortus, B. melitensis* and *B. ovis. J. Clin. Microbiol*., **34**, 426–428.

MARÍN C.M., ALONSO-URMENETA B., MORIYÓN I., PEREZ S. & BLASCO J.M. (1998). Comparison of polyclonal, monoclonal and protein G peroxidase conjugates in an enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of *Brucella ovis* in sheep. *Vet. Rec.,* **143**, 390–394.

MARÍN C.M., BARBERÃN M., JIMÉNEZ DE BAGÜES M.P. & BLASCO J.M. (1990). Comparison of subcutaneous and conjunctival routes of Rev. 1 vaccination for the prophylaxis of *Brucella ovis* infection in rams. *Res. Vet. Sci.,* **48**, 209–215.

MUÑOZ P., DE MIGUEL M.J., GRILLÓ M.J., MARÍN C.M., BARBERÁN M. & BLASCO J.M. (2008). Immunopathological responses and kinetics of *B. melitensis* Rev 1 infection after subcutaneous or conjunctival vaccination in rams. *Vaccine*, **26**, 2562–2569.

MUÑOZ P.M., ESTEBAN M., MARÍN, C.M., DE MIGUEL M.J., GRILLÓ M.J., BARBERÁN M., IRACHE J.M., BLASCO J.M. & GAMAZO C. (2006). *Brucella* outer membrane complex-loaded microparticles as a vaccine against *Brucella ovis* in rams. *Vaccine*, **24**, 1897–1905.

MYERS D.M., JONES L.M. & VARELA-DIAZ V. (1972). Studies of antigens for complement fixation and gel diffusion tests in the diagnosis of infections caused by *Brucella ovis* and other *Brucella*. *Appl. Microbiol.,* **23**, 894–902.

NIELSEN K., SMITH P., CONDE S., DRAGHI de BENITEZ G., GALL D., HALBERT G., KENNY K., MASSENGILL C., MUENKS Q., ROJAS X, PEREZ B., SAMARTINO L., SILVA P., TOLLERSRUD T. & JOLLEY M. (2004). Rough lipopolysaccharide of *Brucella abortus* RB51 as a common antigen for serological detection of *B. ovis*, *B. canis*, and *B. abortus* RB51 exposure using indirect enzyme immunoassay and fluorescence polarization assay. *J. Immunoassay Immunochem*., **25**, 171–182.

PRAUD A., CHAMPION J.L., CORDE Y., DRAPEAU A., MEYER L. & GARIN-BASTUJI B. (2012). Assessment of the diagnostic sensitivity and specificity of an indirect ELISA kit for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in rams. *BMC Vet. Res*., **8**:68.

RIDLER A.L., WEST D.M. & COLETT M.G. (2012). Pathology of *Brucella ovis* infection in red deer stags (*Cervus elaphus*). *N. Z. Vet. J*., **60**, 146–149.

RIEZU-BOJ J.I., MORIYÓN I., BLASCO J.M., MARÍN C.M. & DIAZ R. (1986). Comparison of lipopolysaccharide and outer membrane protein-lipopolysaccharide extracts in an enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of *Brucella ovis* infection. *J. Clin. Microbiol.,* **23**, 938–942.

RIS D.R., HAMEL K.L. & LONG D.L. (1984). Comparison of an enzyme-linked immunospecific assay (ELISA) with the cold complement fixation test for the serodiagnosis of *Brucella ovis* infection. *N.Z. Vet. J.,* **32**, 18–20.

SANTOS J.M., VERSTREATE D.R., PERERA V.Y. & WINTER A.J. (1984). Outer membrane proteins from rough strains of four *Brucella* species. *Infect. Immun.,* **46**, 188–194.

VIGLIOCCO A.M., SILVA PAULO P.S., MESTRE J., BRIONES G.C., DRAGHI G., TOSSI M. & NIELSEN K. (1997). Development and validation of an indirect enzyme immunoassay for detection of ovine antibody to *Brucella ovis. Vet. Microbiol*., **54**, 357–368.

XAVIER M.N., SILVA T.M.A., COSTA E.A., PAIXAO T.A., MOUSTACAS V.S., CARVALHO C.A. Jr., SANT'ANNA F.M., ROBLES C.A., GOUVEIA A.M.G., LAGE A.P., TSOLIS R.M. & SANTOS R.L. (2010). Development and evaluation of a species-specific PCR assay for the detection of *Brucella ovis* infection in rams. *Vet. Microbiol*., **145**, 158–164.

*
* *

ЖИЧ: Хонины төмсгийн хэтний үрэвсэл (*Brucella ovis*) өвчний ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори бий. (Хамгийн сүүлийн үеийн жагсаалтыг ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас мэдээлэл авна уу: https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

Хонины төмсгийн хэтний үрэвсэлийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудтай холбогдож авна уу.

ЖИЧ: ХОНЬ, ЯМАА, ГАХАЙН БРУЦЕЛЛЁЗ ГАРЧИГТАЙГААР 1991 ОНД АНХ, ЭНЭ ГАРЧИГТАЙГААР ТУС БҮЛГИЙГ 1996 ОНД ТУС ТУС БАТАЛСАН БӨГӨӨД 2015 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

БҮЛЭГ 44 (3.8.8)

БОГ МАЛЫН МЯЛЗАН ӨВЧИН (БОГ МАЛЫН МОРБИЛЛИВИРУСИЙН ХАЛДВАР)

А. УДИРТГАЛ

Бог малын мялзан өвчин (БММӨ) нь халуурах, нүд, хамраас шингэн гоожих, ам үрэвсэх, чацга алдах, уушги үрэвсэж амьсгал гаргах үед эвгүй үнэртэх шинжээр бог малд илэрдэг вирусийн гаралтай цочмог өвчин юм. Амьсгалын эрхтний эмгэгийн шинж тэмдгээрээ БММӨ ямааны годрон, цусан халдвар өвчинтэй андуурагдаж болно. Ихэнх тохиолдолд БММӨ-ий вирусийн нөлөөгөөр дархлаа дарангуйлагдсанаас цусан халдвар дагалдан гарна. Өвчний вирус ихэвчлэн ойр хавьцаа байгаа малд агаар дуслын замаар дамжин халдварлана (Lefevre & Diallo, 1990). БММӨ-ий халдвар авсан малд илрэх эмнэл зүйн шинж нь урд өмнө гардаг байсан үхрийн мялзан өвчнийхтэй төстэй боловч мялзан өвчин БММӨ-ийхөөс өөр зүйлийн вирусээр үүсгэгдэнэ.

Үхрийн мялзан, нохойн гударга, улаан бурхан өвчний вирустэй төстэй байдлыг үндэслэн БММӨ үүсгэгч вирусийг *Paramyxoviridae* овгийн *Morbillivirus* төрөлд ангилсан (Gibbs нар, 1979) байна. Одоо энэ вирусийг албан ёсоор ***Бог малын морбилливирус*** гэж нэрлэж байна (ICTV, 2019). Энэ бүлгийг дахин хянаж засварлах хүртэл түүнийг БММӨ-ий вирус гэж нэрлэж байхаар доорх хэсэгт оруулав. Энэ вирус нь вирусийн геномын РНХ-г хулдсан нуклеокапсид уураг (N), полимераза (L - том уураг) уурагтай холбогдох фосфопротеин (P), матрикс уураг (M), нийлж нэгдсэн уураг (F), гемаглютинин уураг (H) зэрэг вирусийн бүтцийн зургаан уурагтай. Вирусийн дугтуйн дотор хананд нягт холбогдох матрикс уураг нь нуклеокапсид болон эсэд халдвартай вирус наалдах, нэвтрэх явдлыг хангадаг вирусийн гадаргуугийн H ба F гликопротеиний хооронд гүүр болж өгнө. Түүнчлэн БММӨ-ий вирусийн геном бүтцийн бус C болон V гэсэн хоёр уургийг кодолно.

БММӨ анх Зааны ясан эрэг улсад тодорхой судалжээ (Gargadennec & Lalanne, 1942). 1990-ээд оны сүүлээс эхлэн энэ өвчин Африк тивийн өргөн уудам нутгийг хамран хүрээгээ тэлсэн бөгөөд Хойд Африкаас Танзани, Ойрх дорнод, улмаар Төв Азийн улсуудаас Өмнөд болон зүүн Азийн оронд мөн өргөн тархжээ (нягтлан хянасан Banyard нар, 2010).

Байгалийн халдварт ихэвчлэн хонь, ямаа өртөж өвчилнө. Хэдийгээр 1950-иад онд БММӨ-ий вирус агуулсан материалаар тугалыг зориуд халдварлуулахад өвчилж үхэж байсан тухай, түүнчлэн 1995 онд Энэтхэгт одос үхэрт гарсан мялзан төст өвчний дэгдэлтээс БММӨ-ий вирус ялган авсан тухай мэдээлэл байдаг ч үхрийг зөвхөн байгалийн халдвараар эмнэл зүйн шинж тэмдэггүйгээр өвчилдөг гэж үздэг. Этиоп, Суданд нэг бөхт тэмээнд гарч өргөн тархсан нэгэн өвчний үеийн зарим сорьцод БММӨ-ий вирусийн эсрэгбие, БММӨ-ний вирусийн эсрэгтөрөгч, нуклеин хүчил илэрсэн байна. БММӨ-өөр *Artiodactyla* багт хамаарах хэд хэдэн зүйлийн зэрлэг амьтан, түүний дотор Монголын бөхөн гөрөөс зэрэг нэн ховордсон зарим амьтан өвчилж байна. Америкийн цагаан сүүлт (*Odocoileus virginianus*) буга БММӨ-ий вирусээр зориуд халдварлуулахад өвчилсөн байна. Пестивирус эсхүл ямааны цэцэгийн вирус зэрэг бусад вирустэй хамт халдварлах тохиолдол бий.

Өвчний нууц үе голдуу 4-6 хоног байх боловч 3-10 хоногт хэлбэлзэж болно. Эмнэл зүйн өвчлөл нь цочмог явцтай байх ба 3-5 хоногийн турш 41°C хүртэл халуурна. Өвчилсөн мал номойрсон, тэжээлийн дуршилгүй болж хошуу ам нь хатна. Нүд, хамраас ихээр гоожих шингэн аажмаар өтгөрч салслаг идээтэй болж хувирах ба хэрэв мал үхчихгүй бол өвчин 14 хоног үргэлжилнэ. Халуурч эхэлснээс хойш 4 хоногийн дотор буйл улайж, амны хөндийд шархлаа үүсэж шүлс гоожно. Эдгээр гэмтэл сүүлдээ үхжиж болно. Өвчний сүүл үед цустай усан чацга алдах нь түгээмэл. Уушги үрэвсэх, ханиах, цээж хэржигнэх, хэвлийн хэлбэрийн амьсгалтай болох нь тохиолдоно. Хүнд хэлбэрийн үед өвчлөлийн түвшин 100%-д хүрч болох бөгөөд үхэх тохиолдол маш өндөр байна. Харин хөнгөвтөр хэлбэрийн дэгдэлтийн үед өвчлөл, үхлийн хувь ихээхэн бага байх ба өвчин анзаарагдахгүй өнгөрч болзошгүй. Эмнэл зүйн шинж тэмдгийг үндэслэн БММӨ-ий урьдчилсан онош тавьж болох ба лабораторийн шинжилгээгээр ижил төстэй шинж тэмдгээр илрэх бусад өвчнөөс ялгаварлан оношилж баталгаажуулах хүртэл түүнийг түр зуурын онош гэж үзнэ.

Задлан шинжилгээгээр илрэх эмгэг хувирал нь БММӨ-ий үед элбэг тохиолддог уруулын гадна тал нэлэнхийдээ яршиж тав тогтох, уушгины завсрын эдийн хүндэрсэн үрэвсэл зэрэг хувирлаас бусдаар үхрийн мялзангаар өвчилсөн үхэрт ажиглагддагтай маш төстэй. Шархлаат гэмтэл амны хөндийгөөс гүзээ хэрхнэгийн зааг хүртэл тархсан байж болно. Тэр бүр байнга тохиолддоггүй ч бүдүүн гэдэс, шулуун гэдэсний хуниаст салст бүрхэвчийн дагуу цус харвалт, цус ихдэлтийн улаан судалжсан өвөрмөц хэв шинжит хэсэг (эрээн тахийн судал мэт) илэрч болно. Гэдэсний шархлаат эсхүл цус ихдэлтэй үрэвсэл голдуу тохиолдох ба ихэнхдээ цутгалан гэдэс-олгойн уулзвар орчим үрэвсэнэ. Пейрийн товгор үхэжсэн байж болно. Тунгалгийн зангилаа томорч, дэлүү, элгэнд үхжилийн шинж илэрч магадгүй.

Энэ өвчний вирусээр хүн халдварласан тухай мэдээлэл байхгүй учир ажилдаа БММӨ-ий вирус ашигладаг хүнд учрах эрүүл мэндийн мэдэгдэхүйц эрсдэл байхгүй. Биологийн эрсдэлийн дүн шинжилгээгээр тогтоосон тусгаарлалтын зохих түвшинд лабораторийн ажлыг гүйцэтгэнэ (1.1.4. *Биоаюулгүй ажиллагаа ба биохамгаалал*: *Мал эмнэлгийн лаборатори, туршилтын амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандарт* үз).

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

БММӨ-д зориулсан бүх төрлийн шинжилгээний аргыг 1-р хүснэгтэд жагсаав. Эмнэл зүйн тохиолдлын оношийг баталгаажуулах, худалдааны болон/эсхүл шилжилт хөдөлгөөн хийхэд зориулан халдварын төлөв байдлыг тогтоох, халдвар эсхүл халдварт өртөлтийн тархалтыг тандан судлах, эсхүл вакцинжуулалтын дараах дархлаа тогтцыг шалгах зэрэг янз бүрийн зорилготой шинжилгээг бодгалийн эсхүл бүлэг малын түвшинд хийнэ.

Хүснэгт 1. БММӨ-ийг оношлох шинжилгээний арга, зорилго

Арга	**Зорилго**					
	Популяци халдваргүйг тогтоох	Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах	Халдварын тархалт тогтоох – тандалт	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгчийг илрүүлэх[(a)]						
УТ-ПГУ	–	++	++	+++	+	–
Бодит цагийн УТ-ПГУ	–	++	+++	+++	+	–
Эсийн өсгөвөрт вирус ялгах	–	–	–	++	–	–
Баригч эсрэгбие бүхий ЕЛИЗА		+	++	+++	+	–
Түргэн сорил	–	–	++	++	–	–
АГНТУ	–	–	+	+	–	–
Угтуулах электрофорез	–	–	–	+	–	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
Вирус саармагжуулах урвал	+++	–	–	++	++	++
Өрсөлдөөнт ЕЛИЗА	+++	–	+++	+	+++	+++
АГНТУ	–	–	+	+	–	+
Угтуулах электрофорез	–	–	–	+	–	–

Түлхүүр үг:

+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
++ энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй;

ЕЛИЗА = Энзим холбоост дархлааны урвал;
АГНТУ = агарын гельд нэвчин тунадасжих урвал;

(a) Үүсгэгчийг ялган таних төрөл бүрийн шинжилгээг эмнэл зүйн нэг ижил сорьцод хийхийг зөвлөдөг

1. Сорьц цуглуулах

Вирус ялгах сорьцыг сэрүүн нөхцөлд тээвэрлэж лабораторид хүргэнэ. Амьд малын нүдний нуух эсхүл хамар, амны хөндий, шулуун гэдэсний салст бүрхэвчээс арчдас авна. Вирус ялгах, полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ), цус судлалын шинжилгээнд зориулж өвчин дөнгөж эхэлж байх үед цус үл бүлэгнүүлэгч бүхий (этилен диамин тетра цууны хүчил эсхүл гепарины алиныг ч цус үл бүлэгнүүлэгчээр хэрэглэж болох ба ПГУ-аар шинжлэх сорьцод гепарин хэрэглэхийг эрхэмлэнэ) хуруу шилэнд цусны сорьц авна. Эмгэг бие бүтцийн задлан шинжилгээний үед ариун нөхцөлд 2-3 малын тунгалгийн зангилаа, тэр дундаа чацархай, цагаан мөгөөрсөн хоолойн тунгалгийн зангилаа, уушги, дэлүү, гэдэсний салст бүрхэвчээс сорьц авч мөсөнд хөргөөд хүйтэн хэлхээ бүрдүүлэн тээвэрлэнэ. Бичил бие бүтцийн эмгэг судлалын шинжилгээнд зориулан авсан эд эрхтний сорьцыг формалины саармагжуулсан 10%-ийн уусмалд хийнэ. Ийлдэс судлалын оношилгоонд зориулан цусны сорьцыг өвчний аль ч шатад, ялангуяа дэгдэлт намжих үед авч болно.

2. Үүсгэгч илрүүлэх

2.1. Баригч эсрэгбие бүхий энзим холбоост дархлааны урвал

Вирусийн N уургийн эсрэг гарган авсан хоёр төрлийн ижил гарлын эсрэгбие (ИГЭБ) ашигласан баригч эсрэгбие бүхий ЕЛИЗА-аар (Libeau нар, 1994) БММӨ-ий вирусийг түргэн илрүүлэх боломжтой.

Энэ ЕЛИЗА урвалыг хэрэглэх арга болон хэрэглээтэй холбоотой зөвлөгөөг ДМАЭМБ-ын БММӨ-ий лавлах лабораториос авч болно[1]. Шинжилгээнд хэрэглэх худалдаанд гарсан бэлэн цомог байдаг. Цомог нийлүүлэгчийн зааврыг баримтална. Цомгийн ажиллах ерөнхий зарчим нь:

i) Урвалын хавтангийн үүрний ханыг БММӨ-ий вирусийн N уургийн эсрэгбиеэр бүрж нийлүүлдэг.

ii) Шинжлэх дээж, цомогт дагалдах хяналтуудыг холбогдох үүрэнд нэмнэ. БММӨ-ий вирус байвал эсрэгбие, эсрэгтөрөгчийн хам нэгдэл үүснэ.

iii) Хавтанг угаасны дараа БММӨ-ий вирусийн N уургийн эсрэг ижил гарлын эсрэгбие-тунхууны пероксидазагийн коньюгат нэмэхэд эсрэгбие-эсрэгтөрөгч-ИГЭБ-пероксидазагийн хам нэгдэл үүснэ.

iv) Дараа дараачийн угаалтаар илүүдэл коньюгатыг зайлуулсны дараа субстратын уусмал (ТМВ: тетраметил бензидин) нэмнэ. Үүсэх өнгө нь шинжилсэн дээж дэх БММӨ-ий вирусийн тоо хэмжээнээс хамаарна. БММӨ-ий вирус байвал зогсоогч уусмал нэмсний дараа үүрэнд үүссэн цэнхэр өнгө шар болж хувирна. БММӨ-ий вирус байхгүй бол өнгө өөхгүй. Урвалын дүнг хавтан уншигчийн 450 нм-д уншина.

Энэ ЕЛИЗА маш өвөрмөц бөгөөд мэдрэмтгий (БММӨ-ий вирус $10^{0.6}$ TCID50/үүр байхад илрүүлнэ). Шинжилгээний дүн 2 цаг хүрэхгүй хугацаанд гарна.

Баригч эсрэгбие бүхий энэ ЕЛИЗА урвалын сэндвич хэлбэрийг Энэтхэгт өргөн хэрэглэдэг (Singh нар, 2004). Үүнд: дээжийг эхлээд илрүүлэгч ИГЭБ-тэй урвалд оруулах ба үүссэн дархлааны хам нэгдлийг ЕЛИЗА хавтанд шингээсэн ИГЭБ эсхүл өөр гарлын эсрэгбиеэр барьж авна. Хамгийн багадаа 10^3 $TCID_{50}$/мл байхад илрүүлэх энэ шинжилгээ нь эс халдварлуулах шинжилгээ ($TCID_{50}$)-тэй ихээхэн төстэй үр дүн үзүүлдгийг харуулж байна.

2.2. Нуклейн хүчил таних арга

БММӨ-ий өвөрмөц оношилгоонд зориулж үүсгэгчийн N болон F уургийн генийн хэсгийг олшруулахад суурилсан урвуу транскрипцт ПГУ (УТ-ПГУ) аргыг боловсруулжээ (Couacy-Hymann нар, 2002). Энэ арга нь 10-12 өдөр зарцуулж вирус ялган аваад түүний таньцыг Веро эс дээр тогтоох сонгодог аргаас (Couacy-Hymann нар, 2002) 1000 дахин илүү мэдрэмтгийгээс гадна РНХ ялгах шатыг оролцуулаад 5 цагийн дотор үр дүн гаргадаг давуу

[1] https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3

талтай. Нийтлэг хэрэглэдэг хоёр арга зүйг дор дэлгэрэнгүй оруулав. N болон F уургийн генийн хэсгийг олшруулахад суурилсан мултиплекс УТ-ПГУ-ын талаар мэдээлжээ (George нар, 2006). Түүнчлэн N уургийн генд суурилсан УТ-ПГУ-ыг боловсруулсан байна (Saravanan нар, 2004). Олшруулсан бүтээгдэхүүнийг агарозын гель электрофорезоор шинжлэхийн оронд түүнийг тэмдэглээт проб ашиглах замаар ЕЛИЗА урвалаар хавтан дээр илрүүлнэ. Энэхүү УТ-ПГУ болон ЕЛИЗА арга нь сонгодог УТ-ПГУ-аас 10 дахин мэдрэмтгий юм.

Сүүлийн жилүүдэд тоон УТ-ПГУ (жишээ нь: Bao нар, 2008; Batten нар, 2011; Kwiatek нар, 2010) гарснаар нуклейн хүчлийг олшруулж БММӨ-ий оношлох арга үлэмж сайжирчээ. Түүнчлэн энэ арга чанарын УТ-ПГУ-аас арав дахин мэдрэмтгийгээс гадна урвал бохирдох эрсдэл хамгийн бага байдаг ба үүсгэгчийн IV шугамын омогт өвөрмөц бодит цагийн УТ-ПГУ арга бас гарсан байна (Li нар, 2016). Мэдрэх чанараар бодит цагийн УТ-ПГУ-тай ижилхэн байж болох энэ аргаар шинжилгээ хийхэд хялбар, түргэн, үр дүнг нүдээр харж үнэлж болно.

Аль ч тохиолдолд эхлээд цус, эдийн сорьцоос РНХ-г ялган цэвэршүүлнэ. Вирусийн РНХ-г дэлүү (цус ихтэй учир дэлүү тохиромж муу), тунгалгийн зангилаа эсхүл гүйлсэн булчирхай, уушгины эд, бүхэл цус, цагаан эсийн хөвмөл эсхүл захын судасны цуснаас цэвэршүүлсэн лимфоцит, нүд болон хамрын арчдаснаас ялган цэвэршүүлж болно. Эдийн дээжийг худалдаанд гарсан аль ч цомгийг ашиглан хүчилжүүлсэн гуанидин тиоцианит фенолоор хандална. Зөөлөн эдийг (0.5–1.0 г) жижиглээд 10 мл уусмалтай хольж нэгэн жигд шингэн болгоно. Ижил урвалж хэрэглэн нүд, ам, хамрын арчдасыг хандлан, бүхэл цус, цагаан эс, цэвэршүүлсэн улаан эсийг нэгэн жигд шингэн болгосны дараа цомог үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу РНХ-г ялган цэвэршүүлнэ. Эд, цус, цагаан эс, арчдаснаас соронзонт үрэл эсхүл ялтаст багана ашиглан РНХ-г ялган цэвэршүүлэх нь зохимжтой. Ялган авсан РНХ-г хэрэглэх хүртлээ –70°C (–70°C байхгүй бол –20°C-д)-д хадгална.

Шаардагдах багаж төхөөрөмжтэй лабораториудад БЦ-УТ-ПГУ-ын шинжилгээний аргыг эрхэмлэдэг боловч одоо хэрэглэгдэж байгаа аргуудаар БММӨ-ий вирусийн өмнө нь шинжилж тогтоосон бүх өсгөврийг шалгахад аль нь ч хангалттай үр дүн өгөх нотолгоогүй байна. Энэ төрлийн шинжилгээний арга эрчимтэй хөгжиж байгаа учраас хэрэглэгчид ДМАЭМБ болон НҮБ-ын ХХААБ[2]-ын БММӨ-ий лавлах лабораторитой (энэхүү Газрын амьтны өвчний оношилгооны гарын авлагын 4 дүгээр хэсэг дэх хүснэгтийг үз) холбогдож хамгийн тохиромжтой аргын талаар зөвлөгөө авах нь зүйтэй.

2.2.1. N уургийг кодлогч генийг хэсэгчлэн олшруулах замаар БММӨ-ий вирусийг илрүүлэх УТ-ПГУ арга

Энэ хэсэгт тодорхойлсон аргаар шинжилгээ хийхэд дараах зүйл шаардагдана: нэг-шатлалаар УТ-ПГУ явуулах цомог, нэрмэл ус, тохирох праймер, дулаан сэлгэгч, агарозын гель электрофорезд шаардагдах нэмэлт урвалж, багаж. Шинжилгээ хийх бүрд мастер холимгийн найрлага, дулаан сэлгэгчийн нөхцөлийг тухайн хэрэглэж байгаа нэг шатат УТ-ПГУ-ын цомогт зориулан тохируулна. Бусад урвалж ашиглаж болох боловч тэдгээрийг холбогдох шинжилгээнд ашиглахын тулд оновчтой тохиргоо хийж баталгаажуулна.

Нэг шатат УТ-ПГУ-ын аргаар N генийг олшруулах арга нь Коуси-Хаймэн нарын (2002) боловсруулсан анхны зааврaас үндэстэй. Дор тодорхойлсон праймер ашиглан чанарын УТ-ПГУ тавихад БММӨ-ий вирусийн бүх дөрвөн шугамыг илрүүлж чадна. N генийг онилсон бусад праймер ашиглаж болох боловч энэ зорилгоор ашиглахад тохиромжгүй.

i) Хэрэглэх праймерийн дараалал

Праймер	Дараалал
NP3:	5’-GTC-TCG-GAA-ATC-GCC-TCA-CAG-ACT-3’;
NP4:	5’-CCT-CCT-CCT-GGT-CCT-CCA-GAA-TCT-3’.

ii) 45 мкл нэрмэл усан дээр 5 мкл праймерийн нөөц уусмал (100 μM) нэмж праймер тус бүрийн шингэлэлтийг бэлтгэнэ. Үүний үр дүнд 50 эзлэхүүнтэй 10μM төвшрүүлэгтэй праймер бий болно.

iii) РНХ-ийн темплатаас 5 мкл-ийг ПГУ-ын дараах найрлагатай 45 мкл мастер холимогт нэмнэ:

[2] Нэгдсэн үндэстний байгууллагын Хүнс, Хөдөө Аж Ахуйн Байгууллага

Урвалж	Холимог (1 урвалд)	Эцсийн төвшрүүлэг
Нэрмэл ус	15 мкл	
5× УТ-ПГУ-ын буфер	10 мкл	1×
dNTP холимог	2 мкл	
Q уусмал	10 мкл	
праймер NP3 (10 μM)	3 мкл	0.6 μM
праймер NP4 (10 μM)	3 мкл	0.6 μM
Энзимт холимог	2 мкл	
Эцсийн эзлэхүүн	50 мкл	

iv) РНХ-ийн оронд нэрмэл ус (5 мкл)-ыг сөрөг хяналт болгох бөгөөд ПГУ-ын шинжилгээ бүрд хэрэглэнэ.

v) Дулаан сэлгэгчийг дараах байдлаар тохируулна:

50°C-д 30 минут	1 мөчлөг	Урвуу транскрипцийн шат
95°C-д 15 минут	1 мөчлөг	УТ-ийг идэвхгүйжүүлэн полимеразаг идэвхжүүлнэ
94°C-д 30 секунд 60°C-д 30 секунд 72°C -д 1 минут	40 мөчлөг	хДНХ -г олшруулах ПГУ
72°C-д 5 минут	1 мөчлөг	Сүүлчийн уртасгалт
4°C (тодорхой бус)	–	–

vi) УТ-ПГУ-аас 351 хос суурь бүхий бүтээгдэхүүн олширч гарна. Бүтээгдэхүүнээс 10 мкл-ийг авч 1.5%-ийн агарозын гель дээр электрофорез тавина. Эерэг бүх тохиолдолд 40 мкл эцсийн бүтээгдэхүүнийг дараалал тогтоох шинжилгээнд ашиглаж болно.

2.2.2. F уургийг кодлогч генийг хэсэгчлэн олшруулах замаар БММӨ-ий вирусийг илрүүлэх УТ-ПГУ арга

Энэ шинжилгээ нь Форсит нарын (2003) анх нийтлүүлсэн аргад суурилсан бөгөөд N уургийн ПГУ шиг бүх дөрвөн шугамын вирусийг илрүүлнэ.

i) Энэ аргын зааврын дагуу хэрэглэх праймерийн дараалал:

Праймер	Дараалал
F1b	5’-AGT-ACA-AAA-GAT-TGC-TGA-TCA-CAG-T-3’
F2d	5’-GGG-TCT-CGA-AGG-CTA-GGC-CCG-AAT-A-3’
F1	5’-ATC-ACA-GTG-TTA-AAG-CCT-GTA-GAG-G-3’
F2	5’-GAG-ACT-GAG-TTT-GTG-ACC-TAC-AAG-C-3’

ii) Шинжилгээний эхний шатад нэг цодонд хийх УТ-ПГУ-ыг БММӨ-ий вирусийн F генийн эсрэг бүтээсэн F1b ба F2d праймер ашиглан явуулна. Энэ аргын зааврын баталгаажуулалтыг худалдаанд гарсан цомог ашиглан хийсэн ба бусад урвалжийг шаардагдах шинжилгээ, баталгаажуулалт хийсний дараа хэрэглэнэ.

iii) Урвалын 20 мкл холимгийг ПГУ-ын 0.5 мл-ийн цодон дахь 5 мкл РНХ-тэй холино. Шинжилгээ хийх бүрд хамгийн багадаа дээж, сөрөг хяналт, эерэг хяналт, темплатгүй хяналт (РНХ бүхий дээжийн оронд Рназа үгүй болгосон ус) хэрэглэнэ.

Урвалыг дулаан сэлгэгчид дараах программаар явуулна:

50°C-д 30 минут	1 мөчлөг	Урвуу транскрипцлах шат

94°C-д 2 минут	1 мөчлөг	БХ-ийг идэвхгүйжүүлэн полимеразаг идэвхжүүлнэ
94°C-д 1 минут 55 °C -д 1 минут 72°C -д 1 минут	35 мөчлөг	хДНХ -г олшруулах ПГУ
72°C-д 7 минут	1 мөчлөг	Сүүлчийн уртасгалт
4°C (тодорхойгүй)	–	–

iv) Урвалын 10 мкл бүтээгдэхүүнийг TBE эсхүл TAE буферт бэлтгэсэн 2% агарозын гель бүхий электрофорезоор шинжлэхэд хэрэв БММӨ-ий вирусийн РНХ байвал ДНХ-ийн 447 хос суурь хэрчим олширсон байна. Хэрэв ДНХ бүтээгдэхүүн илрээгүй эсхүл маш сул илэрсэн бол ПГУ-ын бүтээгдэхүүний хэмжээг нэмэхийн тулд хоёр дахь удааПГУ явуулна. Энэхүү угсраа ПГУ тавихдаа F1 болон F2 праймер болон ПГУ-ын сайн чанарын, зохих ёсоор баталгаажсан урвалж, энзимийг хэрэглэнэ.

v) ПГУ-ын 0.5 мл цодонд 24 мкл урвалын холимгийг анхны ПГУ-ын 1 мкл-тэй нийлүүлж хийнэ. Шинжилгээ бүрд наад зах нь дээж, сөрөг хяналт, эерэг хяналт, темплатгүй хяналт (РНХ бүхий дээжийн оронд Рназа үгүй болгосон ус) хэрэглэнэ. Урвалын цодонг дулаан сэлгэгчид хийгээд дараах программаар ажиллуулна.

94°C-д 3 минут	1 мөчлөг	Полимеразаг идэвхжүүлэх
94°C-д 1 минут 55°C-д 1 минут 72°C-д 1 минут	35 мөчлөг	хДНХ -г олшруулах ПГУ
72°C-д 10 минут	1 мөчлөг	Сүүлчийн уртасгалт
4°C (тодорхойгүй)	–	–

vi) Урвалын 10 мкл бүтээгдэхүүнийг TBE эсхүл TAE буферт бэлтгэсэн 2% агарозын гель бүхий электрофорезоор шинжлэхэд хэрэв БММӨ-ий вирусийн ПГУ-ын бүтээгдэхүүнээс 371 хос суурь ДНХ-ийн хэрчим олширсон байна.

vii) Эерэг дээжээс үлдсэн ДНХ бүтээгдэхүүнийг 2.4.2 дахь хэсгийн v эсхүл vii үе шатад дурдсанаар тодорхойлж цэвэршүүлээд ДНХ-ийн дараалал тогтоох шинжилгээнд оруулна.

2.3. Өсгөвөрлөх, ялгах арга

Түргэн шинжилгээний аргаар өвчнийг оношилсон байсан ч дараагийн шатны шинжилгээ судалгаанд зориулан өвчний тохиолдлоос ямагт сорьц авч эдэд өсгөвөрлөн вирус ялгаж авна.

БММӨ-ий вирусийг хурганы бөөр/уушгины анхдагч эс болон зарим дамжмал эсэд (Веро, B95a) өсгөвөрлөн ялган авч болно. Харамсалтай нь дээрх эсийн өсгөвөрт нэг удаа зорчуулаад БММӨ-ий вирусийг тэр бүр ялгаж чаддаггүй учир таамгаар олон удаа зорчуулах шаардлага гарна. Таамгаар ингэж зорчуулахын оронд саяхнаас лимфоцит эсийг идэвхжүүлэгч молекул (SLAM эсхүл CD150) болох морбиливирусийн авуурыг ялгаруулан гаргадаг дамжмал эсийн уламжлал (Веро, CV1)-ыг бүтээснээр хээрийн вирусийг эмгэгт сорьцоос долоо хоног хүрэхгүй хугацаанд ялган авах боломжтой болсон байна. Үүнд ямааны SLAM ялгаруулагч сармагчны CV1 дамжмал эс (Adombi нар, 2011), нохойн SLAM ялгаруулагч Веро эсийн уламжлал орно. Сэжигтэй материалаас (арчдас, цагаан эсийн хөвмөл эсхүл эдийн 10% цийдмэг) дан үе эсэд тарилт хийгээд эс эмгэгшүүлэх нөлөөг өдөр бүр шалгана. БММӨ-ий вирус 5 хоногийн дотор эсийг эмгэгшүүлэх ба эмгэгшил нь хурганы бөөрний эс болон SLAM ялгаруулагч дамжмал эс дугариглах, бөөгнөрөх, улмаар олон бөөмт нийлмэл эс (синцити) үүсэх байдлаар илэрнэ. Өөрчлөөгүй Веро эсэд нийлмэл эсийг олж харахад заримдаа төвөгтэй байдаг. Ийм эс үүссэн байлаа ч маш жижиг байна. Гэсэн ч халдвар авсан Веро эсийг гематоксилин, эозиноор будсан үед жижиг хэмжээтэй ч гэсэн нийлмэл эс байнга харагдана. Бөөм нь “цагны нүүр” шиг харагдах тойргоор байрлах

байдлаар нь нийлмэл эсийг ялгаж танина. Тавиур шилэн дээрх өсгөврийн эсийн эмгэгшил 5 хоногийн дотор илэрнэ. Зарим эс цитоплазм болон бөөм дотроо оршихуунтай, бусад хэсэгт хоосовчтой байна. Үүнтэй адилхан хувирал халдвар авсан эдийн эмгэг судлалын будсан зүсмэгт илэрч болно. Эс эмгэгшлийн нөлөө үүсэхэд хугацаа шаардагдах тул 5-6 хоногийн дараа таамаг зорчуулалтыг заавал хийх хэрэгтэй.

2.4. БММӨ-ий вирусийн эсрэгтөрөгч илрүүлэх түргэн сорил

Хээрийн нөхцөлд БММӨ-ий вирусийн эсрэгтөрөгчийг илрүүлэх худалдаанд гарсан цомог бий. Энэ сорил нь хөндлөн нэвчин нүүх гэж нэрлэгдэх технологид суурилжээ. Өвчний сэжигтэй малын нүд, хамар, амнаас арчдас авч түүнийг буферт хийж зайлаад хроматографын туузан сорилын үзүүр дэх үүрэнд буферийг дусаана. Дусаасан дээж тууз доторх БММӨ-ий вирусийн эсрэгтөрөгч илрүүлэх өвөрмөц ИГЭБ-ээр бүрсэн өнгөт мөхлөгтэй холилдоно. Буфер нэвчин мөхлөгийг хроматографын сорилын туузны дагуу хажуу тийш нүүлгэнэ. Хэрэв бойтуураар авсан арчдасны дээжид БММӨ-ий вирусийн эсрэгтөрөгч байгаа бол мөхлөгтэй барьцалдсанаас үүссэн эсрэгтөрөгч болон мөхлөгийн хам нэгдэл нь цааш сорилын туузын дагуу нүүх замдаа БММӨ-ий вирусийн эсрэг ИГЭБ агуулсан зурваст баригдахад зурвас өнгөтөөр тодрон эерэг дүнг илэрхийлнэ. Хэрэв БММӨ-ий вирусийн эсрэгтөрөгч байхгүй бол туузан дахь сорилын дүнг заах зурваст мөхлөг баригдахгүй. Сорил тавихад 20 минут болох ба өөр багаж шаардагдахгүй. Туузан сорилоор БММӨ-ий бүх дөрвөн шугамын вирусийн өсгөвөр шинжилж баталгаажуулсан бөгөөд мэдрэх чанарааараа баригч эсрэгбие бүхий ЕЛИЗА-тай ойролцоо, өвөрмөц чанараар 100% байсан байна. Өөр нэг сорилыг нь Зааны ясан эрэг, Этиоп, Пакистан, Уганда улсад хээрийн нөхцөлд баталгаажуулжээ (Baron нар, 2014). Эдгээр сорил биеийн гадаргуугаас авсан арчдас шинжлэх зориулалттай ба цус, эдийн дээжид хэрэглэхэд тохиромжгүй.

2.5. Агарын гельд нэвчин тунадасжих урвал

Агарын гельд нэвчин тунадасжих урвал нь аль ч лабораторид, тэр ч бүү хэл хээрийн нөхцөлд хэрэглэж болохоор маш хялбар, өртөг багатай шинжилгээний арга юм. БММӨ-ий стандарт эсрэгтөрөгчийг бэлтгэхдээ халдвар бүхий чацархай эсхүл мөгөөрсөн хоолойн тунгалгийн зангилаа, дэлүү эсхүл уушгинаас авч жижиглэн буфержүүлсэн физиологийн уусмалаар 1/3 цийдмэг (ж/э) болгоно (Durojaiye нар, 1983). Цийдмэгийг 10-20 минут 500 *g*-ээр хурилдуурдаад дээд талын шингэнийг авч хэсэгчлэн хувааж –20°C-д хадгална. Нүдний салст бүрхэвчээс эсхүл хамраас арчдас авсан хөвөн бойтуурын хөвөнг мэс заслын хутгаар авч 1 мл-ийн тариурт хийнэ. 0.2 мл фосфатын буфержүүлсэн физиологийн уусмалыг Эппендорфын цодонд хийж тариурын шахагчаар дахин дахин шахах, сорох замаар сорьцыг хандална. Нүд эсхүл хамрын сорьцын хандыг дээрх эдийн нунтагласан материал бэлтгэсэнтэй адил хэрэглэх хүртлээ –20°C-д хадгална. Эдгээр сорьцыг 1-3 жил хадгалж болно. Сөрөг хяналтын эсрэгтөрөгчийг эрүүл эдээс дээрхийн адил бэлтгэнэ. Стандарт эсрэг ийлдсийг мл бүрдээ БММӨ-ий 10^4 TCID50 (50% эдийн өсгөврийн халдвартай тун) таньц бүхий 1 мл вирусээр хонинд долоо хоногийн завсарлагатайгаар 4 долоо хоног хэт дархлаа хийж бэлтгэнэ. Халдвар хийсэн хонины цусыг сүүлчийн тарилтаас хойш 5-7 хоногийн дараа авна (Durojaiye, 1982).

i) Бактерийн өсөлтийг саатуулагч болгон тиомерсал (0.4 г/литр) эсхүл азид натри (1.25 г/литр) агуулсан физиологийн уусмалд 1%-иар бэлтгэсэн агарыг Петрийн аяганд (6 мл/5 см аяга) цутгана.

ii) Агарт 5 мм голчтой, хоорондоо 5 мм зайтай зургаан үүрийг зургаан өнцөгт хэлбэрээр байрлуулж төвд нь нэг үүр нэмж гаргана.

iii) Төвийн үүрэнд эсрэг ийлдэс, захын гурван үүрэнд эерэг эсрэгтөрөгч хийгээд нэг үүрэнд нь сөрөг эсрэгтөрөгч хийнэ. Захын үлдсэн хоёр үүрэнд шинжлэх дээжийг хийнэ. Ингэхдээ шинжлэх дээж болон сөрөг хяналтын эсрэгтөрөгчийг эерэг хяналтын эсрэгтөрөгчтэй сөөлжүүлэн хийнэ.

iv) Тасалгааны хэмд тавихад 18-24 цагийн дараа ийлдэс болон эсрэгтөрөгчийн хооронд тунадасжилтын ихэвчлэн 1-3 зурвас үүснэ (Durojaiye нар, 1983). Агарыг 5%-ийн мөсөн цууны хүчлээр 5 минут угаахад эдгээр зурвас улам тодорно (шинжилгээний дүнг сөрөг гэж бүртгэхээсээ өмнө илэрхий сөрөг гэж үзсэн бүх шинжилгээг энэ аргачлалаар шалгана). Эерэг хяналтын эсрэгтөрөгчийг харалдаа зурвас гарвал эерэг урвал болохыг заана.

Шинжилгээний үр дүн нэг хоногийн дотор гардаг ч вирусийн эсрэгтөрөгчийн ялгаралт бага байдаг БММӨ-ий хөнгөн хэлбэрийг бүрэн мэдэрч илрүүлдэггүй.

2.6. Угтуулах электрофорез

Угтуулах электрофорез нь АГНТУ-ыг илүү түргэн явуулах хувилбар арга юм (Majiyagbe нар, 1984). Уг арга нь хоорондоо гүүрээр холбогдсон хоёр тасалгаатай электрофорезийн зориулалтын сав ашиглан хэвтээ чиглэлээр электрофорез явуулах арга юм. Багажийг өндөр хүчдэлийн үүсгүүртэй холбоно. Агар эсхүл агарозыг 0.025М цуу хүчлийн барбитоны буферт уусган микроскопын хоёр тавиур шилэн дээр 3 мл хэмжээгээр тараана. Биежиж хатуурсан агар дээр зургаагаас найман үүр гаргана. Урвалж нь АГНТУ явуулахад ашигладагтай ижил байна. Электрофорезийн тасалгааг цуу хүчлийн барбитоны буферээр дүүргэнэ. Агарт гаргасан хос үүрний анод талын үүрэнд ийлдэс, катод талын үүрэнд эсрэгтөрөгч дүүргэнэ. Тавиур шилийг холбогч гүүрэн хэсэг дээр байрлуулж үзүүрийг нь буфертэй нүхтэй нойтон цаасаар холбоно. Багажийг таглаад нэг тавиур шилэнд 10-12 миллиампер хүчдэл ноогдохоор тохируулж 30-60 минут ажиллуулна. Багажийг хүчдэлээс салгаад тавиур шилийг гэрэлд харна. Хос үүрний хооронд 1-3 тунадасжилтын шугам үүссэн бол эерэг гэж үзнэ. Сөрөг хяналт бүхий үүрэнд урвалын шугам үүсэхгүй.

3. Ийлдэс судлалын арга

Халдвар авсан хонь, ямаанд БММӨ-ий вирусийн эсрэгбие илрүүлэх нь эмнэл зүйн шинж тэмдгийг үндэслэн тавьсан оношилгоонд нэмэр болох боловч ийм эсрэгбие одоогоор хэрэглээнд байгаа БММӨ-ий вирусийн аль ч вакцин тарьсан малд үүснэ. Тогтмолжсон шинжилгээний ажилд вирус саармагжуулах урвал (ВСУ), өрсөлдөөнт ЕЛИЗА урвалыг хэрэглэж байна.

3.1. Вирус саармагжуулах урвал

Энэ аргын мэдрэх болон өвөрмөц чанар өндөр боловч цаг хугацаа их шаардана. Саармагжуулах стандарт урвалыг өнхрүүлэгчтэй хуруу шилний өсгөвөр ашиглан явуулж болох боловч эдүгээ ихэвчлэн 96 үүртэй бичил таньцын хавтанд тавьж байна. Веро эс хэрэглэхийг илүү дээр гэж үздэг ч хурганы бөөрний анхдагч эсийг бас хэрэглэж болно.

Энэ шинжилгээнд дараах материал шаардагдана: 600,000/мл эс агуулсан цийдмэг; 96-үүртэй эсийн өсгөврийн хавтан; таньцлах ийлдэс (56°C- хүртэл 30 минут халааж идэвхгүйжүүлсэн); эсийн өсгөврийн бүрэн найрлагатай орчин; 1000, 100, 10, 1 $TCID_{50}$/мл болгон шингэлсэн БММӨ-ий вирус.

i) Ийлдсийг 1/5 болгон шингэлж дараа нь эсийн өсгөврийн тэжээлт орчинд хоёр дахин дараалсан шингэлэлт хийнэ.

ii) 1000 $TCID_{50}$/мл бүхий (үүр тутамд 100 $TCID_{50}$) 100 мкл вирусийг шингэлэлт хийсэн 100 мкл ийлдэсний хамт эсийн өсгөврийн хавтангийн үүрэнд хийж холино (шингэлэлт бүрд зургаан үүр ашиглана).

iii) Дараах байдлаар вирус болон халдвар аваагүй эсэд зориулан хэд хэдэн хяналтын үүр гаргана: үүр тутамдаа 100 $TCID_{50}$ (100 мкл) бүхий зургаан үүр; үүр тутамдаа 10 $TCID_{50}$ (100 мкл) бүхий зургаан үүр; үүр тутамдаа 1 $TCID_{50}$ (100 мкл) бүхий зургаан үүр; үүр тутамдаа 0.1 $TCID_{50}$ (100 мкл) бүхий зургаан үүр; үүр тутамдаа 200 мкл вирусгүй тэжээлт орчин бүхий зургаан үүр. Үүр бүрд вирусийг бүрэн найрлагатай тэжээлт орчноор 200 мкл хүртэл шингэлээд 37°C-л 1 цаг өсгөвөрлөнө.

iv) Үүр бүрд 50 мкл эсийн цийдмэг нэмээд хавтангийн хажуу талаас зөөлөн тогшиж үүрэн дэх эсийг тараагаад таглана. Хавтанг CO_2 бүхий орчинд 37°C хэмд өсгөвөрлөнө.

v) Хавтантай зүйлийг 1-2 долоо хоног өсгөвөрлөсний дараа үр дүнг уншина. Дараах үр дүн гарна:

Хэрэв вирусийг зөв шингэлсэн бол 100 болон 10 $TCID_{50}$/үүр шингэлэлт бүхий бүх хяналтын үүрэнд эсийн эмгэгшил илэрнэ, 1 $TCID_{50}$/үүр шингэлэлтэд бүх үүрний 50%-д эсийн эмгэгшил илэрнэ, 0.1 $TCID_{50}$/үүр шингэлэлтэд эсийн ямар ч эмгэгшил илрэхгүй. Вирусийг зөв шингэлсэн тохиолдолд энэ шинжилгээ баталгаатай юм.

Ийлдэс таньцлах шинжилгээний явцад хавтангийн үүрэн дэх вирус ийлдсээр саармагжих учраас үүрэнд эсийн эмгэгшил илрэхгүй, харин ямар нэг хэмжээгээр илэрвэл вирус ийлдсээр саармагжаагүйг илэрхийлнэ. Саармагжуулах таньц нь хавтангийн үүрнүүдийн хагаст нь вирусийг саармагжуулж чадах ийлдсийн шингэлэлт юм. Саармагжуулах таньц 10-аас дээш бол эерэг гэж үзнэ.

3.2. Энзим холбоост дархлааны өрсөлдөөнт урвал

Вирусийн уургийг таньж холбогдох ИГЭБ ашиглан өрсөлдөөнт ЕЛИЗА-ийн хэд хэдэн аргыг боловсруулжээ. Эдгээр арга хоёр төрөлд хуваагдана: үүний нэг нь эсрэгтөрөгч болгон бакуловирусийн тусламжтайгаар гаргасан рекомбинант N уураг ашигладаг, N уургийг таньж холбогддог ИГЭБ (жишээ нь Libeau нар, 1995), нөгөөх нь вирусийн холбогч ууragт (H) өвөрмөц ИГЭБ болон БММӨ-ий цэвэршүүлсэн эсхүл хагас цэвэршүүлсэн (вакцины омог) вирус агуулах эсрэгтөрөгч (жишээ нь Anderson & McKay, 1994; Saliki нар, 1993). Энэ бүх шинжилгээний аргын зарчим нь шинжилж буй ийлдэс дэх БММӨ-ий вирусийн эсрэгбиеийг ИГЭБ эсрэгтөрөгчид холбогдохгүй болгоход оршино.

Энэ ЕЛИЗА урвалыг хэрэглэх арга болон хэрэглээний талаарх зөвлөгөөг ДМАЭМБ-ын БММӨ-ий лавлах лабораториос авч болно. Шинжилгээнд хэрэглэх бэлэн цомог худалдаанд гарсан нь энэ аргыг бодитойгоор хэрэглэх шийдэл болж байна. Цомог хэрэглэхийн өмнө түүнийг ДМАЭМБ-ын баталгаажуулалтын стандартын (1.1.6. *Халдварт өвчний оношилгооны аргыг баталгаажуулах зарчим, арга* бүлгийг үз) дагуу хийсэн эсэхийг лабораторий баталгаажуулан шалгана.

B. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

1. Удиртгал

Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх удирдамжийг 1.1.8 *Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэлийн зарчим* бүлэгт оруулав. Доор өгүүлсэн болон 1.1.8 дугаар бүлгийн удирдамж нь ерөнхий шинжтэй учир үндэсний болон бүс нутгийн шаардлагыг хамтатган хэрэглэж болно.

1.1. Үндэслэл, бүтээгдэхүүний зориулалт

БММӨ-ий вирусийн сулруулсан омгоор вакцинжуулсан эсхүл БММӨ-өөр өвчилж эдгэрсэн хонь, ямаанд энэ өвчний эсрэг насан туршийн идэвхтэй дархлаа тогтоно (Durojaiye, 1982). БММӨ-ий вирусийн хээрийн омгийг эсийн өсгөвөрт сулруулан бэлтгэсэн хэд хэдэн вакцин бий (Sen нар, 2010). Хамгийн өргөн хэрэглэгддэг вакцины хоёр омог (Nigeria/75/1 ба Sungri/96) хоёул БММӨ-ий вирусийн бүх шугамын өсгөврөөс мал, амьтныг хамгаалж байгаа нь (Hodgson нар, 2018) туршилтаар харагдсанаас гадна Nigeria/75/1 омгийн вакцин нь нэлээд олон улс оронд үйлдвэрлэлийн нөхцөлд хэрэглэхэд төрөл бүрийн шугамын вирусээс солбицон хамгаалж байгаа нь батлагдсан байна.

2. Ердийн вакцины үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны тодорхойлолт, вакцинд тавих ерөнхий шаардлага

2.1. Эх омгийн шинж чанар

2.1.1. Биологийн шинж чанар

Лабораторид хүлээн авч мастер эх омог маягаар хадгалж байгаа вакцины түүхэн баримтыг сайтар судалж бүртгэж тэмдэглэнэ. Үүнд вакцины гарал үүсэл, эсийн өсгөвөрт зорчуулсан тоо, зөвлөсөн тунгаар олгоход 3-аас доошгүй жил БММӨ-өөс хамгаалдаг болохыг харуулж чадах эсийн өсгөврийн зорчуулалтын тоо зэргийг оруулна. БММӨ-ий вакцины вирусийн ийм омог тухайн вакцин тарьсан амьтны ойр хавьцаах амьтанд тархаж болзошгүй байдаг тул вакцин тарьсан амьтнаас вакцины вирус ялгарах ёсгүй юм. Хонь, ямаанд наад зах нь гурван удаа урвуу зорчуулалт хийхэд вакцины омог эргэж хоруу чанартай болоогүйг батлах ёстой (Diallo нар, 1989).

2.1.2. Чанарын шалгуур (ариун чанар, цэвэршилт, гаднын зүйл агуулаагүй байх)

Эх омог бактери, мөөгөнцөр, микоплазмын бохирдолгүй болохыг хянаж шалгасан байна. Мөн түүнчлэн пестивирус болон бусад бохирдуулах боломжтой вирус агуулаагүй болохыг шалгана. Эх омогт зөвхөн БММӨ-ий сулруулсан амьд омог байх ёстой. Эх омог нь амьтанд (мэрэгчид, хонь, ямаа) хоргүй чанарыг шалгах эсхүл бусад баталгаажсан аргаар хор хөнөөлтэй бохирдуулагчгүйг тогтоох аль аль

шалгалтад тэнцсэн байхаас гадна хонь, ямаанд зохих тунгаар хэрэглэхэд БММӨ-өөс хамгаалах үр нөлөөтэй болохыг нотлон харуулсан байна.

2.2. Үйлдвэрлэх арга

2.2.1. Субстрат, тэжээлт орчинд тавих шаардлага

Мал эмнэлгийн зориулалтаар хэрэглэх биологийн материалын ариун, бохирдолгүй болохыг тогтоох шалгалтыг 1.1.9 дүгээр бүлгээс үзнэ үү.

i) Эс

БММӨ-ий одоогийн бүх вакцины омгийг Веро эсэд өсгөвөрлөж байна. БММӨ-ий вакцин үйлдвэрлэхэд хэрэглэх эс нь бактери, мөөгөнцөр, вирусийн бохирдолгүй байна. Эдгээр эсийн гарал үүсэл нь тодорхой, баримттай байна.

ii) Ийлдэс

Эсийн өсгөвөрт хэрэглэх ийлдэс нь элдэв янзын вирусгүй, ялангуяа пестивирусгүй байх ёстой.

Иймд цацраг туяагаар боловсруулсан ийлдэс хэрэглэхийг зөвлөдөг. Ийлдсийн гарал үүслийн улс тодорхой байна (тархи сархиатах халдварт эмгэгийн өндөр эрсдэлтэй улсаас гаралтай ийлдэс хэрэглэхээс зайлсхийнэ).

iii) Тэжээлт орчин

Уламжлалт тэжээлт орчин бол MEM бөгөөд 25mM глюкоз, 25mM фруктоз агуулсан Дульбеккогийн өөрчлөн тохируулсан Ийгл орчин (DMEM) вирусийн гарцыг үлэмж (арав дахин) сайжруулдгийг саяхны судалгаа харуулжээ (Silva нар, 2011). Тэжээлт орчинд антибиотик (пенициллин + стрептомицинийг тус тус 100 ОУН [олон улсын нэгж]/мл ба 100 мкг/мл эцсийн төвшрүүлэгтэйгээр нэмсэн), шаардлагатай бол мөөгөнцрийн эсрэг эм (нистатин 50 мкг/мл эцсийн төвшрүүлэгтэй) нэмнэ. Эс ургалтад зориулан тэжээлт орчныг үхрийн хээлийн 10% ийлдсээр баяжуулна (бүрэн орчин). Дан үе эсийн ургалт гүйцэх үед орчныг тогтвортой байлгах үүднээс ийлдсийн хувь хэмжээг 2% болгон бууруулна.

2.2.2. Үйлдвэрлэлийн явцын хяналт

i) Эсийн өсгөвөрт хэрэглэсэн эсийн харагдах байдал хэвийн, микоплазм, вирус, тэр дундаа үхрийн вируст диарей өвчний вирус агуулаагүй болохыг шалгаж баталгаажуулна.

ii) Вирусийн таньцлалтыг ажлын болон үйлдвэрлэлийн эх омгийн цуврал бэлдэц болон эцсийн бүтээгдэхүүнээс авсан сорьц дээр гүйцэтгэнэ.

- **Шинжлэх аргачлал**

  а. Ийлдэсгүй тэжээлт орчин ашиглан таньцлах материалыг арав дахин 10^{-6} хүртэл шингэлнэ (0.5 мл вирус + 4.5 мл шингэлэгч).

  б. Веро эсийг трипсинжүүлээд бүрэн найрлагат тэжээлт орчинд 300,000/мл байхаар уусган сэргээнэ. Эсийг 96 үүрт хавтанд хуваарилан хийнэ (нэг үүрэнд 30,000 эс хийнэ. Энэ нь эсийн цийдмэгийн 100 мкл-тэй тэнцэнэ).

  в. Эсэд 100 мкл шингэлсэн вирус (шингэлэлт 10^{-2}-оос 10^{-6} хүртэл) нэмнэ. Вирусийн шингэлэлт бүрийг хавтангийн нэг мөр бүрд нэмэх ба вирусийн шингэлэлт нэмээгүй хавтангийн нэг мөр үүрэнд вирусгүй тэжээлт орчин (100 мкл) нэмж сөрөг хяналтаар хэрэглэнэ.

  г. Хавтанг 37°C-д CO_2 орчинд байлгана.

  д. Халдвараас хойш 7-10 хоногийн дараа эс эмгэгшлийн нөлөөг шалгах замаар хавтангийн үр дүнг уншина. Вирусийн таньцыг Спийрман-Карберийн аргаар тооцоолно.

iii) Ялган таньсан вирус мөн болохыг цувралын сүүлийн шатад баталгаажуулна. Энэ зорилгоор БММӨ-ий вирусийн эсрэг ийлдсийг эсийн өсгөвөр дэх вирусийг саармагжуулахад хэрэглэнэ.

а. Хөлдөөн хатаахаас өмнөх эзлэхүүнтэй ижил эзлэхүүнтэй болгохын тулд хоёр лонх вакцины агуулагдахууныг давхар нэрмэл устай холино.

б. Уусган сэргээсэн вакциныг ийлдэсгүй тэжээлт орчинд арав дахин шингэлнэ (0.5 мл вирусийн цийдмэг + 4.5 мл орчин).

в. Лонх тус бүрээс вирус шингэлэх хоёр хувилбар хольцыг дараах байдлаар 96 үүртэй хавтанд хийнэ:

Хувилбар 1:	Вирусийн цийдмэгийн шингэлэлт:	-1	-2	-3	-4
	Вирусийн цийдмэг (мкл)	50	50	50	50
	Тэжээлт орчин (мкл)	50	50	50	50
Хувилбар 2:	Вирусийн цийдмэгийн шингэлэлт:	-1	-2	-3	-4
	Вирусийн цийдмэг (мкл)	50	50	50	50
	БММӨ-ий эсрэг ийлдэс (мкл)	50	50	50	50

(Жич: энэ зорилгоор хэрэглэх БММӨ-ий эсрэг ийлдсийг ямаанд бэлтгээд дараа нь хөлдөөн хатаана. Түүнийг давхар нэрсэн ариун 1 мл усаар уусган сэргээсний дараа 1/10 шингэлэлттэй болгоно.

г. Холимгийг 37°C”д 1 цаг байлгана

д. Үүр тус бүрд бүрэн найрлагатай тэжээлт орчинд уусган сэргээсэн 100 мкл эс (30,000 эс/үүрl) нэмнэ.

е. Бичил хавтанг CO_2 орчинд 37°C-д байлгана.

ж. 7–10 хоног байлгасны дараа хавтанг уншина.

Ердийн үед эсийн эмгэгшил зөвхөн вирусийн холимгоор халдварласан эс болон тэжээлт орчин бүхий үүрэнд илэрнэ. Хэрэв 2 дугаар хувилбарын хавтангийн үүрэнд эс эмгэгших нөлөө илэрвэл БММӨ-ий ижил гарлын эсрэгбие ИГЭБ ашиглан иммунфлюоресценцээр эсхүл баригч эсрэгбие бүхий ЕЛИЗА (худалдаанд бэлэн байдаг цомог ашиглан) БММӨ-ий вирусийг ялган тодорхойлох шаардлагатай. Ялган таних энэ аргаар хэрэв БММӨ-ий вирус байгаа нь батлагдвал энэ нь хэрэглэсэн БММӨ-ий эсрэг ийлдэс хэт сулдсан, эсхүл тухайн цувралыг солих хэрэгтэй байсныг харуулна. Хэрэв иммунфлюоресценц эсхүл баригч ЕЛИЗА-ийн дүн сөрөг эсхүл тэдгээр шинжилгээг БММӨ-ий вирусийн өөр шинэ эсрэг ийлдэс ашиглан хийхэд адил үр дүн үзүүлбэл вирусийн бохирдолтой байна гэж үзээд шинжилгээнд хэрэглэсэн материалыг устгана.

2.2.3. Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаа

БММӨ-ий вирусийн сулруулсан бэлэн мастер эх омгоор вакцин үйлдвэрлэх, шалган баталгаажуулах зааврыг энд толилуулав. Худалдаанд гаргах вакцины нөөцийг үйлдвэрлэх бусад арга технологийг хэрэв үндсэн шалгуурыг хангасан, эцсийн бүтээгдэхүүн нь зохих ёсоор баталгаажуулсан тохиолдолд хэрэглэж болно.

Үндсэн шалгуур:

i) Үндсэн эх омгийн түүхчилсэн баримт нь тодорхой, түүнийг баримтжуулсан байх бөгөөд бохирдуулагч болохыг тогтоосон байна.

ii) Вирусийг янз бүрийн дамжмал эсэд зорчуулах нь ажлын дарааллыг өөрчилж улмаар вакцины чанарт нөлөөлж болзошгүй байдаг учраас мастер эх омог үйлдвэрлэхэд ашиглах вирусийг аль ч нөхцөлд нэг ижил тэжээлт орчинд өсгөвөрлөнө.

iii) Вакцины цуврал үйлдвэрлэх мастер эх омгийг 10-аас илүүгүй зорчуулсан байна.

iv) Бүтээгдэхүүний ариун болон идэвхийг шалгаж бүрэн баримтжуулсан байна.

БММӨ-ий вакцины вирусийн эх омог хадгалж байгаа институтээс мастер эх омгийн дээжийг үйлдвэрлэгч хүлээж аваад түүнээс анхдагч болон хоёрдогч ажлын эх омгийн цувралыг бэлтгэнэ. Жинхэнэ хэрэглэх буюу эцсийн вакцин үйлдвэрлэх үйлдвэрлэлийн эх омгийн бэлдцийг ажлын хоёрдогч эх омгоос бэлтгэнэ. Анхдагч

болон хоёрдогч эх омгийг бэлтгэхдээ мастер эх омгоос хэт олон зорчуулах шаардлага үүсгэхгүй байхыг эрхэмлэнэ. Ийм аргыг мөрдвөл мастер эх омгийг 5-10 удаагийн зорчуулалтаас хэтрүүлэхгүй байх ДМАЭМБ-ын зөвлөмжийг хангах боломж бүрдэнэ (1.1.8. *Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэлийн зарчим* бүлгийг үз).

i) Ажлын анхдагч болон хоёрдогч эх омгийн бэлдэц

Вирусийн цийдмэг дотор гэмтэлтэй өчүүхэн хэсгүүд хуримтлагдах, улмаар дараагийнхаа бүтээгдэхүүний таньцыг унагахад хүргэдэг учраас ажлын анхдагч болон хоёрдогч эх омог бэлтгэхдээ эсийн өсгөврийг вирусийн хэт өндөр тунгаар (халдварлах түвшин өндөр [m.o.i.]) халдварлуулж болохгүй. Нөгөө талаар эс халдварлалт хэт бага (жишээ нь 0.0001) бол өсгөвөрлөх хугацаа удааширна. Үйлдвэрлэгч үйлдвэрлэлийн дамжлага бүрдээ эсийн халдварлалт 0.001–0.01 байхаар тооцож эс, тэжээлт орчин үйлдвэрлэх ажлын горимыг сайтар тохируулах үүрэгтэй.

Үндсэн эх омгоос бэлтгэн шилэн саванд хөлдөөн хатаасан агуулагдахууныг эсийн өсгөврийн 2 мл ийлдэсгүй тэжээлт орчноор уусган сэргээнэ. Энэ шингэнийг хэрэв вакциныг Веро эсээр бэлтгэх бол Веро эстэй хольж эс тутамд наад зах нь 0.001 $TCID_{50}$ байхаар тооцож эсийн өсгөврийн бүрэн найрлагатай орчноор цийдмэгжүүлнэ. Эсийн өсгөвөртэй колбыг вирус/эсийн холимгоор (175 $см^2$ багтаамжтай колбод 2 × 107 орчим веро эс) дүүргээд 37°C-д өсгөвөрлөнө. Өсгөвөрлөсөн эсийг тогтмол шалгаж эсийн эмгэгшлийг илрүүлнэ. Тэжээлт орчныг 2 хоног тутамд сольж дан үе эс өсгөвөрлөгдөж дуусахаар нь ийлдэсний орцыг 2% хүртэл бууруулна. Эсийн эмгэгшил 40–50% хүрэхээр (эс бүхий эсийн өсгөврийн тэжээлт орчин) вирусийг хурааж авна. Вирусийн цийдмэгийг –70°C хэмд хадгална. Эсийн эмгэгшил 70–80% хүртэл нь 2 хоног тутамд дараалан вирус бүхий шингэнийг хурааж авах ба энэ хэмжээнд хүрэх үед эсийн өсгөвөртэй колбыг –70°C хэмд хадгална. Ерөнхийдөө колботой эсийн өсгөврийг эцэслэн хөлдөөхөөс өмнө наад зах нь хоёр удаа эсийн өсгөвөртэй вирусийг хурааж авна. Вирусийн бүх цийдмэгийг хөлдөөх-гэсгээх дараалаар хоёр удаа боловсруулсны дараа нэг цувралд нэгтгэн ажлын эх омгийн бэлдэц болгоно. Вирусийн цийдмэгийг бага хурдаар хурилдуурдаж (жишээ нь 1250 *g*-д 5 минут) эсийн хаягдлыг зайлуулах замаар тунгалагшуулна. Ажлын эх омгийн бэлдцийг жижиг хэмжээний цодонд хувааж хийгээд –70°C-д хадгална. Эдгээрээс 5 лонхны агуулагдахууныг гэсгээж, таньцыг (шаардлага хангах хамгийн бага таньц: 10^5 $TCID_{50}$/мл) тогтооно. Ажлын анхдагч эх вирусийг –20°C-д хадгалахын тулд түүнийг хөлдөөн хатаах нь хамгийн тохиромжтой. Энэ тохиолдолд хөлдөөн хатаасан вирусийг (таван лонх) таньцлах шаардлагатай. Энэ аргаар хийсэн цувралыг ариун чанарын бүх шалгалтад оруулна.

Ажлын анхдагч эх омгийг тасалж хуваасан хэсгээс ажлын хоёрдогч эх омгийн вирусийг бэлтгэнэ.

ii) Үйлдвэрлэлийн эх цуврал

Үйлдвэрлэлийн эх цувралыг ажлын эх омгийн вирусийн цуврал бэлтгэдэгтэй адил нөхцөлийн дор бэлтгэнэ. Хангалттай их хэмжээний вирусийн нөөц бүрдэх үед түүнээс эцсийн вакциныг үйлдвэрлэнэ. Дээрх цувралыг саванд хуваарилж хийгээд –70°C-д хадгална. Өмнө дурдсантай адил таван сорьцын таньц тогтоох (шаардлага хангах хамгийн бага таньц: 10^6 $TCID_{50}$/мл) ба үйлдвэрлэлийн эх вирус ариун чанарын шалгалтад тэнцсэн байх ёстой.

iii) Вакцины үйлдвэрлэл

Вакцины үйлдвэрлэл нь өргөн цар хүрээнд явагддагаас бусдаар үйлдвэрлэлийн эх омгийг бэлтгэхтэй адил. Эсийн өсгөврөөс хурааж авсан янз бүрийн материалыг хоёр удаагийн хөлдөөлт гэсгээлтийн мөчлөгийн дараа нийлүүлж эцсийн бүтээгдэхүүнийг бэлтгэсний дараа дараа таньц тогтоох, ариун чанарын шалгалтын дүнг гартал –70°C-д хадгална. Хэрэв эдгээр шалгалтад тэнцсэн бол вакциныг хөлдөөн хатаана.

v) Хөлдөөн хатаах

БММӨ-ий вируст хэрэглэх хөлдөөн хатаалтын хэд хэдэн тэжээлт орчинд үнэлгээ хийсэн байдаг. Вейбрижийн тэжээлт орчныг хамгийн өргөн хэрэглэдэг

бөгөөд энэ нь Хэнксийн давсны тэнцвэржүүлсэн уусмалд (HBSS) 2.5% (ж/э) альбумины усан задраг (LAH), 5% (ж/э) сахароз, 1% (ж/э) глутамат натри уусгасан pH 7.2 бүхий тэжээлт орчин юм. HBSS-д 5% (ж/э) LAH болон 10% (ж/э) сахароз агуулсан (Mariner нар, 2017; Sarkar нар, 2003) эсхүл 20 mM Tris–HCl pH 7.4, 2 mM ЭДТА, 0.02% (ж/э) Твин 80, 1 M (34.2% (ж/э)) трехалоз агуулсан (Silva нар, 2011) хөлдөөн хатаалтын орчин хэрэглэвэл 4˚C-ээс дээш температурт тогтвортой байдал нь илт сайжирдаг гэж мэдээлжээ.

Хөлдөөн хатаалтын орчныг адил хэмжээний вирусийн цийдмэгт нэмнэ (лонх тус бүрд байлгах вакцины тунгийн тоог тооцоолсны үндсэн дээр вирусийн цийдмэгийг урьдчилан шингэлсэн байж болно). Хийсэн холимгийг сэрүүн нөхцөлд байлгаж нэгэн жигд болгосны дараа лонхнуудад хуваааж хийгээд хөлдөөж хатаана. Хөлдөөн хатаах мөчлөгийн төгсгөлд зохих тохируулга хийгээд 35°C-д 4 цаг байлгана. Үйлдвэрлэх ажиллагаа дууссаны дараа лонхыг вакум нөхцөлд таглана. Бэлэн болсон тухайн цувралаас санамсаргүй түүврийн аргаар сорьц авч хоргүй чанар, үр нөлөө, ариун чанарыг шалгаад үлдэгдэл чийгшлийг (хамгийн тохиромжтой нь ≤3.5%) Карл Фишерийн аргаар тодорхойлно. Хэрэв шалгалтын дүн хангалтгүй гарвал тухайн цувралын вакциныг устгана.

2.2.4. Эцсийн бүтээгдэхүүний цувралын шалгалт

Шалгалт хийх түүврийн тоог цувралын хэмжээ болон шалгах шинжилгээний аргын тохирцыг харгалзан тогтоох ба ийнхүү тогтооҳдоо 1.1.2. *Оношилгооны дээж цуглуулах, илгээх, хадгалах тухай* бүлгийн 1.1.2.1 *Түүвэрлэлтэд хэрэглэх эпидемиологийн арга барил: түүврийн хэмжээг тооцоолох* хавсралтын зарчмыг баримтална. Үйлдвэрлэгч бохирдол 0.1% түвшинд байхад 95%-ийн үнэмшилтэйгээр илрүүлэхэд хүрэлцэх тооны лонхыг түүвэр болгон авна.

i) Ариун чанар ба цэвэршилт

Мал эмнэлэгт хэрэглэх зориулалттай биологийн материалын ариун чанар болон бохирдолгүйг шалгах аргыг 1.1.9. дүгээр бүлэгт оруулав.

Цуврал тус бүрийг шалгахад бактери, мөөгөнцөр, микоплазм, бусад вирусээр бохирдоогүй байна. Эдгээр шалгалтыг вакциныг хөлдөөн хатаахын өмнө болон дараа хийнэ. Ариун чанарын шалгалтад тэнцээгүй аливаа бүтээгдэхүүнийг устгана.

Савлалтын цуврал бүрээс наад зах нь нэг савлагааны агуулагдахууныг өвөрмөц эсрэг ийлдсээр саармагжуулсны дараа өсгөвөрлөлт хийх замаар ялган таних шалгалт явуулна.

ii) Аюулгүй чанар ба үр нөлөө

1.1.8. *Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэлийн зарчим* бүлэгт заасны дагуу эх омгийн багцыг шалгах системийн хяналт дор хангалттай тооны вакцины цувралыг үйлдвэрлэж, шалгалтад тэнцсэн болохыг тогтоох замаар үйлдвэрлэлийн явц жигд, тогтвортой явагдаж байгааг харуулсан нөхцөлд эрх бүхий холбогдох байгууллага вакцины цуврал бүрийн аюулгүй чанарыг вакцин хэрэглэх заалттай амьтанд шалгах (ЦАЧАШ) шаардлага тавихгүй байж болно. Эрх бүхий зарим байгууллага аюулгүй чанарын шалгалтыг цуврал бүрд хийхийг өдгөө ч шаарддаг. Хэрэв шаарддаг бол аюулгүй чанарын шалгалтыг вакцин хэрэглэх заалттай амьтанд буюу одоогийн байдлаар зөвхөн хонь, ямаанд хийнэ. Орон нутгийн эрх бүхий холбогдох байгууллага тусгайлан шаардаагүй тохиолдолд БММӨ-ий сулруулсан амьд вакцины аюулгүй чанарын шалгалтыг мэрэгч амьтанд хийх шаардлагагүй.

Хэвийн нөхцөлд дархлаа тогтоох хамгийн бага тун нь 100× вакцины вирусийн хамгийн бага тун байвал дархлааны 50%-ийн хариу урвал үүсгэх боломжтой. Жишээ нь Nigeria 75/1 омгийн сулруулсан вакцины хувьд тун тус бүрд шаардагдах хамгийн бага таньц $10^{2.5}$ $TCID_{50}$ байхаар тогтоожээ.

ЦАЧМШ хийхдээ БММӨ-ий таван лонх вакциныг хэвийн шингэлэгчээр дэвтээн уусгаж холиод 100 тун/мл уусмал болтол шингэлнэ. Нэг орчим насны, БММӨ-

ий эсрэгбие агуулаагүй хоёр хонь, хоёр ямаа сонгоно. Нэг малд 100 тун байхаар тооцож вакциныг арьсан дор тарина. Вакцинжуулсан малд 3 долоо хоногийн хугацаанд өдөр бүр эмнэл зүйн үзлэг хийж шулуун гэдсээр биеийн халууныг хэмжиж тэмдэглэнэ. Вакцинжуулсан малд эмнэл зүйн хэвийн бус шинж тэмдэг илрэхгүй бол вакциныг аюулгүй гэж үзнэ.

БММӨ-ий тогтсон сулруулсан амьд вакцины тухайд түүний үр нөлөөг вакцины цувралд агуулагдах амьд вирусийн таньцаар (цувралын идэвх) тогтоох ба вирусийн хээрийн омгоор халдвар хийх шаардлагагүй. Үхүүлсэн, дэд нэгжийн эсхүл бусад шинэ үеийн вакцины тухайд дархлааны хариу урвалыг өдөөн дархлаа тогтоох тэдгээрийн чанарыг зохих ёсоор судлан тогтоох ёстой эсхүл зориуд хийсэн халдвараас хамгаалж байгааг харуулах шалгалтыг тухайн цувралд хийх хэрэгтэй.

iii) Цувралын идэвх

БММӨ-ий сулруулсан амьд вакцин үйлдвэрлэсний дараа түүний цуврал тус бүрийн идэвхийг эсийн өсгөвөрт вирус таньцлах замаар тодорхойлохын хамт вирус нь вакцин үйлдвэрлэлийн явцад мэдэгдэхүйц мутацид ороогүй болохыг батална. Ийнхүү батлахын тулд а) *in vitro* нөхцөлд тухайн цувралын материалд геномын бүрэн дараалыг тогтоож дархлаа төрүүлэх үндсэн уурагт (N болон H) өөрчлөлт ороогүйг нотлон харуулах эсхүл б) *in vivo* орчинд буюу вакцин хэрэглэх гэж байгаа төрлийн, наад зах нь 6 мал тус бүрд 1 тун вакцин тарьснаас хойш 3 долоо хоногийн дараа бүх малд саармагжуулах эрэгбие наад зах нь 1/10 таньцтайгээр үүссэн болохыг харуулна.

Шинэ үеийн вакцины идэвхийг вакцины төрлөөс хамааруулан бусад аргаар тогтооно.

2.3. Албан ёсны зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага

2.3.1. Аюулгүй чанарын шаардлага

i) Вакцин хэрэглэх малд аюулгүй байх чанар

Вакцин нь түүнийг хэрэглэх заалттай бүх зүйлийн мал, тэр дундаа өсвөр болон хээлтэй малд хэрэглэхэд аюулгүй байна. Хэрэв үйлдвэрлэгч вакцины аюулгүй чанарыг хангасан болохыг нотлох баримттай бол энэ шалгалтыг алгасах зөвшөөрөл эрх бүхий холбогдох байгууллагаас хүсэж болно.

ii) Сулруулсан/амьд вакцин эргэж хоруу чанартай болох

Вакцинд хэрэглэсэн омог наад зах нь гурван удаагийн эргэх зорчуулалтын дараа эргэж хоруу чанартай болоогүй болохыг судалгааны үр дүнгээр нотлон харуулсан мэдээлэл бэлтгэсэн байна.

iii) Хүрээлэн буй орчинд нөлөөлөх байдал

Вакцинд хэрэглэсэн омог нь вакцин тарьсан малаас гадагшилдаггүй болохыг судалгааны үр дүнгээр нотлон харуулсан мэдээлэл бэлтгэсэн байна.

2.3.2. Вакцины үр нөлөөнд тавих шаардлага

i) МАА үйлдвэрлэлд

БММӨ-ий сулруулсан вакцин хонь, ямаанд, түүний дотор өсвөр, хээлтэй бог малд үр нөлөөтэй байгааг хээрийн эсхүл бусад аргаар нотолсон байна.

ii) Тэмцэх, устгах арга хэмжээнд

БММӨ-өөр өвчлөөд эдгэрсэн хонь, ямаа цаашид амьдралын туршдаа энэ өвчний халдвараас хамгаалагддаг. Хонь, ямаанд БММӨ-ий вирусийн Nigeria 75/1 омгийн сулруулсан вакцин тарьснаас хойш 3 жил хүртэл БММӨ-ий вирусийг саармагжуулах эрэгбие хадгалагддаг болох нь тогтоогдсон. Энэтхэгт бүтээсэн БММӨ-ий Sungri/96 вакцин мөн адил удаан хугацаагаар үргэлжлэх дархлаа тогтоодог байна (Saravanan нар, 2010a; Sen нар, 2010). Эдгээр бүх

баримт БММӨ нь үхрийн мялзан өвчинд хэрэгжүүлсэн шиг өргөн хүрээний, маш сайн зохион байгуулсан вакцинжуулалтын цогц арга хэмжээг хэрэгжүүлсний үр дүнд түүнтэй тэмцээд зогсохгүй устгаж болдог өвчин болохыг харуулж байна.

2.3.3. Тогтвортой чанар

Вейбрижийн тэжээлт орчинд хөлдөөн хатаасан БММӨ-ий вакциныг хэрэв вакум орчинд, гэрлээс хамгаалж хадгалсан бол 2–8°C-д 2-оос доошгүй жил (хэдийгээр –20°C-д хадгалах нь илүү сайн ч гэсэн) хадгалж болно.

2.3.4. DIVA (халдвар авсан, вакцин тарьсан мал ялган илрүүлэх) стратегид нийцэх вакцин

Үйлдвэрлэлийн нөхцөлд хэрэглэхээр DIVA вакцин болон холбогдох шинжилгээний арга одоогоор байхгүй.

2.3.5. Дархлааны үргэлжлэх хугацаа

Вакцины омог тус бүрээр дархлааны хамгаалалтын үргэлжлэх хугацааг амьтанд турших замаар тодорхойлно. Энэ хугацаа Nigeria 75/1 болон Sungri/96 омгийн вакцины тухайд наад зах нь гурван жил хүртэл үргэлжилдэг ажээ (Saravanan нар, 2010b; Zahur нар, 2014). Ийм учраас худалдаанд гарсан эдгээр вакцин 3-аас доошгүй жил хамгаална гэж үздэг.

3. Биотехнологид суурилсан вакцин

3.1. Хэрэглэхэд бэлэн болсон вакцин, тэдгээрийн давуу тал

Цэцэг өвчний вируст суурилсан БММӨ-ий рекомбинант вакцин цэцэг болон БММӨ аль алинаас хамгаалж байгааг судалгааны урьдчилсан дүн харуулжээ (Berhe нар, 2003; Caufour нар, 2014; Chen нар, 2010; Diallo нар, 2002). Түүнчлэн рекомбинант аденовируст суурилсан шинэ үеийн вакцин мөн адил үр дүнтэй (Herbert нар, 2014; Holzer нар, 2016; Qin нар, 2012; Rojas нар, 2014; Wang нар, 2013) байснаас гадна вакцин тарьсан малыг халдвар авсан малаас ялгах боломжтой байдаг байна. Харин эдгээр вакцины аль нь ч үйлдвэрлэлд хэрэглэхэд хараахан баталгаажаагүй байна.

3.2. Биотехнологийн вакцинд тавих тусгай шаардлага байгаа эсэх

Байхгүй.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

ADOMBI C.M., LELENTA M., LAMIEN C.E., SHAMAKI D., YAO K., TRAORÉ A., SILBER R., COUACY-HYMANN E., BODJO C., DJAMAN J.A.,

LUCKINS A. & DIALLO A. (2011). Monkey CV1 cell line expressing the sheep-goat SLAM protein: a highly sensitive cell line for the isolation of peste des petits ruminants virus from pathological specimens. *J. Virol. Methods*, **173**, 306– 313.

ANDERSON J. & MCKAY J.A. (1994). The detection of antibodies against peste des petits ruminants virus in cattle, sheep and goats and the possible implication to rinderpest control programmes. *Epidemiol. Infect*., **112**, 225–234.

BANYARD A.C., PARIDA S., BATTEN C., OURA C., KWIATEK O. & LIBEAU G. (2010). Global distribution of peste des petits ruminants virus and prospects for improved diagnosis and control. *J. Gen. Virol.*, **91**, 2885–2897.

BAO J., LI L., WANG Z., BARRETT T., SUO L., ZHAO W., LIU Y., LIU C. & LI J. (2008). Development of one-step real-time RT-PCR assay for detection and quantitation of peste des petits ruminants virus. *J. Virol. Methods,* **148**, 232–236.

BARON J., FISHBOURNE E., COUACY-HYMAN E., ABUBAKAR M., JONES B.A., FROST L., HERBERT R., CHIBSSA T.R., VAN'T KLOOSTER G., AFZAL M., AYEBAZIBWE C., TOYE P., BASHIRUDDIN J. & BARON M.D. (2014). Development and testing of a field diagnostic assay for peste des petits ruminants virus. *Transbound. Emerg. Dis.,* **61**, 390–396.

BATTEN C.A., BANYARD A.C., KING D.P., HENSTOCK M.R., EDWARDS L., SANDERS A., BUCZKOWSKI H., OURA C. A. L. & BARRETT T. (2011). A real-time PCR assay for the specific detection of peste des petits ruminants virus. *J. Virol. Methods*, **171**, 401–404.

BERHE G., MINET C., LE GOFF C., BARRETT T., NGANGNOU A., GRILLET C., LIBEAU G., FLEMING M., BLACK D.N. & DIALLO A. (2003). Development of a dual recombinant vaccine to protect small ruminants against peste-des-petits-ruminants virus and capripoxvirus infections. *J. Virol*., **77**, 1571–1577.

CAUFOUR P., RUFAEL T., LAMIEN C.E., LANCELOT R., KIDANE M., AWEL D., SERTSE T., KWIATEK O., LIBEAU G., SAHLE M., DIALLO A. & ALBINA E. (2014). Protective efficacy of a single immunization with capripoxvirus-vectored recombinant peste des petits ruminants vaccines in presence of pre-existing immunity. *Vaccine*, **32**, 3772–3779.

CHEN W., HU S., QU L., HU Q., ZHANG Q., ZHI H., HUANG K. & BU Z. (2010). A goat poxvirus-vectored peste-des-petits-ruminants vaccine induces long-lasting neutralization antibody to high levels in goats and sheep. *Vaccine,* **28**, 4742–4750.

COUACY-HYMANN E., HURARD C., GUILLOU J.P., LIBEAU G. & DIALLO A. (2002). Rapid and sensitive detection of peste des petits ruminants virus by a polymerase chain reaction assay. *J. Virol. Methods*, **100**, 17–25.

DIALLO A., MINET C., BERHE G., LE GOFF C., BLACK D.N., FLEMING M., BARRETT T., GRILLET C. & LIBEAU G. (2002). Goat immune response to capripox vaccine expressing the hemagglutinin protein of peste des petits ruminants. *Ann. NY Acad. Sci.,* **969**, 88–91.

DIALLO A., TAYLOR W.P., LEFEVRE P.C. & PROVOST A. (1989). Atténuation d'une souche de virus de la peste des petits ruminants: candidat pour un vaccin homologue vivant. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop*., **42**, 311–319.

DUROJAIYE O.A. (1982). Precipitating antibody in sera of goats naturally affected with peste des petits ruminants. *Trop. Anim. Health Prod*., **14**, 98–100.

DUROJAIYE O.A., OBI T.U. & OJO O. (1983). Virological and serological diagnosis of peste des petits ruminants. *Trop. Vet*., **1,** 13–17.

FORSYTH M.A., PARIDA S., ALEXANDERSEN S., BELSHAM G.J. & BARRETT T. (2003). Rinderpest virus lineage differentiation using RT-PCR and SNAP-ELISA. *J. Virol. Methods,* **107**, 29–36.

GARGADENNEC L. & LALANNE A. (1942). La peste des petits ruminants. *Bull. Serv. Zoo. A.O.F.*, **5**, 15–21.

GEORGE A., DHAR P., SREENIVASA B.P., SINGH R.P. & BANDYOPAHYAY S.K. (2006). The M and N genes based simplex and multiplex PCRs are better than the F or H gene based simplex PCR for peste des petits ruminants virus. *Acta. Virol*., **50**, 217–222.

GIBBS E.P.J., TAYLOR W.P., LAWMAN M.J.P. & BRYANT J. (1979). Classification of peste des petits ruminants virus as the fourth member of the genus *Morbillivirus*. *Intervirology*, **II**, 268–274.

HERBERT R., BARON J., BATTEN C., BARON M. & TAYLOR G. (2014). Recombinant adenovirus expressing the haemagglutinin of peste des petits ruminants virus (PPRV) protects goats against challenge with pathogenic virus; a DIVA vaccine for PPR. *Vet. Res.*, **45**, 24.

HODGSON S., MOFFAT K., HILL H., FLANNERY J.T., GRAHAM S.P., BARON M.D. & DARPEL K.E. (2018). – Comparison of the immunogenicity and cross-lineage efficacy of live attenuated peste des petits ruminants virus vaccines PPRV/Nigeria/75/1 and PPRV/Sungri/96. *J. Virol.,* **92**, e01471-18.

HOLZER B., TAYLOR G., RAJKO-NENOW P., HODGSON S., OKOTH E., HERBERT R., TOYE P. & BARON M.D. (2016). Determination of the minimum fully protective dose of adenovirus-based DIVA vaccine against peste des petits ruminants virus challenge in East African goats. *Vet. Res.*, **47**, 20.

KWIATEK O., KEITA D., GIL P., FERNANDEZ-PINERO J., JIMENEZ CLABEPO M.A., ALBINA E. & LIBEAU G. (2010). Quantitative one- step real-time RT-PCR for the fast detection of the four genotypes of PPRV. *J Virol. Methods*, **165**, 168–177. LEFEVRE P.C. & DIALLO A. (1990). Peste des petits ruminants. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz*., **9**, 951–965.

LI L., BAO J., WU X., WANG Z., WANG J., GONG M., LIU C. & LI J. (2010). Rapid detection of peste des petits ruminants virus by a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay. *J. Virol. Methods,* **170**, 37–41.

LI L., WU X., LIU F., WANG Z., LIU C., WANG Q. & BAO J. (2016). Rapid detection of lineage IV peste des petits ruminants virus by real-time RT-PCR. *J. Virol. Methods*, **235**, 131–133. doi: 10.1016/j.jviromet.2016.05.019. Epub 2016 Jun 1.

LIBEAU G., DIALLO A., COLAS F. & GUERRE L. (1994). Rapid differential diagnosis of rinderpest and peste des petits ruminants using an immunocapture ELISA. *Vet. Rec*., **134**, 300–304.

LIBEAU G., PREHAUD C., LANCELOT R., COLAS F., GUERRE L., BISHOP D.H.L. & DIALLO A. (1995). Development of a competitive ELISA for detecting antibodies to the peste des petits ruminants virus using a recombinant nucleoprotein. *Res. Vet. Sci*., **58**, 50–55.

MAJIYAGBE K.A., NAWATHE D.R. & ABEGUNDE A. (1984). Rapid diagnosis of PPR infection, application of immuno- electro-osmophoresis (IEOP) technique. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop*., **37**, 11–15.

MARINER J.C., GACHANJA J., TINDIH S.H. & TOYE P. (2017). A thermostable presentation of the live, attenuated peste des petits ruminants vaccine in use in Africa and Asia. *Vaccine*, **35**, 3773–3779.

QIN J., HUANG H., RUAN Y., HOU X., YANG S., WANG C., HUANG G., WANG T., FENG N., GAO Y. & XIA X. (2012). A novel recombinant Peste des petits ruminants-canine adenovirus vaccine elicits long-lasting neutralizing antibody response against PPR in goats. *PLoS ONE*, **7**, e37170.

ROJAS J.M., MORENO H., VALCARCEL F., PENA L., SEVILLA N. & MARTIN V. (2014). Vaccination with recombinant adenoviruses expressing the peste des petits ruminants virus F or H proteins overcomes viral immunosuppression and induces protective immunity against PPRV challenge in sheep. *PLoS ONE*, **9**, e101226.

SALIKI J.T., LIBEAU G., HOUSE J.A., MEBUS C.A. & DUBOVI E.J. (1993). Monoclonal antibody-based blocking enzyme-linked immunosorbent assay for specific detection and titration of peste-des-petits ruminants virus antibody in caprine and ovine sera. *J. Clin. Microbiol.*, **31**, 1075–1082.

SARAVANAN P., SEN A., BALAMURUGAN V., RAJAK K.K., BHANUPRAKASH V., PALANISWAMI K.S., NACHIMUTHU K., THANGAVELU A., DHINAKARRAJ G., HEGDE R. & SINGH R.K. (2010a). Comparative efficacy of peste des petits ruminants (PPR) vaccines. *Biologicals*, **38**, 479–485.

SARAVANAN P., BALAMURUGAN V., SEN A., SREENIVASA B.P., SINGH R.P., BANDYOPADHYAY S.K. & SINGH, R.K. (2010b). Immune response of goats to a Bepo cell adapted live attenuated homologous PPR vaccine. *Indian Vet. J.* **87**, 1–3.

SARAVANAN P., SINGH R.P., BALAMURUGAN V., DHAR P., SREENIVASA B.P., MUTHUCHELVAN D., SEN A., ALEYAS A.G., SINGH R.K & BANDYOPADHYAY S.K. (2004). Development of an N gene-based PCR-ELISA for detection of Peste-des-petits-ruminants virus in clinical samples. *Acta Virol.,* **48**, 249–255.

SARKAR J., SREENIVASA B.P., SINGH R.P., DHAR P. & BANDYOPADHYAY S.K. (2003). Comparative efficacy of various chemical stabilizers on the thermostability of a live-attenuated peste des petits ruminants (PPR) vaccine. *Vaccine,* **21**, 4728–4735.

SEN A., SARAVANAN P., BALAMURUGAN V., RAJAK K. K., SUDHAKAR S. B., BHANUPRAKASH V., PARIDA S. & SINGH R. K. (2010). Vaccines against peste des petits ruminants virus. *Expert Rev. Vaccines*, **9**, 785–796.

SILVA A.C., CARRONDO M.J. & ALVES P.M. (2011). Strategies for improved stability of peste des petits ruminants vaccine. *Vaccine*, **29**, 4983–4991.

SINGH R.P., SREENIVAS B.P., DHAR P. & BANDYOPADHYAY S.K. (2004) .A sandwich-ELISA for the diagnosis of Peste des petits ruminants (PPR) infection in small ruminants using anti-nucleocapsid protein monoclonal antibody. *Arch. Virol*., **149**, 2155–2170.

WANG Y., LIU G., CHEN Z., LI C., SHI L., LI W., HUANG H., TAO C., CHENG C., XU B. & LI G. (2013). Recombinant adenovirus expressing F and H fusion proteins of peste des petits ruminants virus induces both humoral and cell-mediated immune responses in goats. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **154**, 1–7.

ZAHUR A.B., IRSHAD H., ULLAH A., AFZAL M., LATIF A., ULLAH R.W., FAROOQ U., SAMO M.H., FERRARI M.J., HUSSAIN, M. & AHMAD M.M. (2014). Peste des Petits Ruminants Vaccine (Nigerian Strain 75/1) Confers Protection for at Least 3 Years in Sheep and Goats. *J. Biosci. Med.,* **2**, 27–33.

*

* *

ЖИЧ: БММӨ-ийг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлагаа лаборатори бий
(ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас мэдээлэл авна уу:
https://www.oie.int/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

БММӨ-ийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудтай холбогдож авна уу.

ЖИЧ: 1989 ОНД АНХ, 2021 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

БҮЛЭГ 45 (3.8.11)

ХОНИНЫ ЦЭЦЭГ БА ЯМААНЫ ЦЭЦЭГ ӨВЧИН

А. УДИРТГАЛ

Poxviridae овгийн *Capripoxvirus*-ийн төрөл зөвхөн үхэрт өвчин үүсгэдэг арьс товруутах өвчний вирус (АТӨВ) (3.4.12 дугаар бүлгийг үз), хонинд цэцэг өвчин үүсгэдэг хонины цэцэг өвчний вирус (ХЦВ), ямаанд цэцэг өвчин үүсгэдэг ямааны цэцэг өвчний вирус (ЯЦВ) гэсэн гурван зүйл вирусээс бүрдэнэ. Хонь, ямааны цэцэг өвчин арьсан дээр гүвдрүүт тууралт үүсгэх шинж тэмдгээр илэрдэг бөгөөд дархлаагүй хонь, ямаанд үхлийн түвшин 100%-д хүрч болно. Уг өвчний тархмал халдвар, үхлийн хувь тухайн нутгийн уугуул малд ердийнхөөс доогуур байдаг боловч уг өвчнөөр тодорхой хугацаанд тайван байсан нутаг эсхүл эрчимжсэн мал аж ахуй суурин газар шинээр эрхлэх, эсхүл бог малын мялзан өвчний вирус, шүлхий өвчний вирус зэрэг бусад өвчин үүсгэгчтэй холбоотойгоор уг өвчин тархмал халдварлаж үхлийн хувь нэмэгдэж болно. Хонь, ямааны цэцэг өвчин эндемик болсон нутагт гаднын үүлдрийн хонь, ямааг нутагшуулах, эрчимжсэн мал аж ахуйг хөгжүүлэхэд энэ өвчин ихээхэн саад учруулна.

Хэдийгээр ихэнхдээ нэг угсааны эзэн амьтан эмнэл зүйн илүү хүнд шинж тэмдэг үзүүлэн өвчлөх болов ч ХЦВ, ЯЦВ-ийн омгууд хонь, ямааны хооронд дамжиж байдаг. ХЦВ, ЯЦВ нь зэргэлдээ орших эндемик бус нутаг руу байнга тархан халдварладаг ба хил даван халдварладаг өвчинд тооцогдоно. Хонь, ямааны цэцэг өвчин нь Экваторын бүслүүрээс хойш орших Африкийн бүс нутаг болон Ойрх Дорнод, Азийн зарим бүс нутагт эндемик өвчин юм (хамгийн сүүлийн үеийн тархалтын мэдээллийг ДМАЭМБ-ын Дэлхийн мал, амьтны эрүүл мэндийн мэдээллийн системээс (WOAH WAHIS) авна уу (https://wahis.woah.org/#/home). Уг өвчин эндемик бус тархалттай Ази, Европ, Ойрх Дорнодын орнуудад ч шинээр бүртгэгдсэн байна.

Хонь, ямааны цэцэг өвчний нууц үе нь халдвартай болон мэдрэмтгий малын хооронд хавьтал үүссэнээс хойш 8-13 хоног байна. Энэ хугацаа арьсанд зориудын халдвар хийх үед 4 хүртэл хоногоор богиносож болно. Уг өвчний цочмог халдварын үед Шотландын Соай зэрэг европын зарим үүлдрийн хонь арьсанд нь гэмтэл үүсэхээс өмнө үхэх нь бий. Бусад үүлдрийн хувьд шулуун гэдэсний температур 40°C-аас дээш гарч, 2-5 хоногийн дараа эхлээд толбо (арьсны нөсөөжөөгүй хэсэгт хамгийн тод харагдах цус ихдэлт болсон жижиг дугуй тууралт), дараа нь гүвдрүү (0.5-1 см-ийн голчтой хатуу хавдалт) биеийн бүх эсхүл сүүлний дотор тал, суга, хярзан орчмоор үүснэ. Гүвдрүү нь шингэнээр дүүрч цэврүүтэж болох ч энэ нь ховор тохиолдоно. Зарим судлагч хонины цэцэг, ямааны цэцэг өвчнийг цэврүүт цэцэг, зангилаат цэцэг гэж ангилдаг (Zro нар, 2014b).

Халдвар авсан малд тархмал гүвдрүү үүссэнээс хойш 24 цагийн дотор хамар, нүдний салст бүрхэвч үрэвсэж, тунгалгийн бүх өнгөц зангилаа, ялангуяа далны өмнөх тунгалгийн зангилаа томорно. Зовхи дээрх гүвдрүү нь зовхины янз бүрийн хэлбэрээр хүндрэх үрэвсэл үүсгэнэ. Нүд, хамрын салст бүрхэвч дээр үүссэн гүвдрүү шархлахын хэрээр салст идээт шүүдэс гоожиж, ам, хошного, шамархай, үтрээний салст бүрхэвч үхжиж эхэлнэ. Уушги гэмтсэнээр залгиурын дэргэдэх тунгалгийн зангилаа хавдаж амьсгалын дээд замыг дарсны улмаас амьсгал нь давчдаж шуухинаатай болно.

Цочмог явцтай өвчилсөн мал үхэлгүй үлдсэн тохиолдолд гүвдрүүний ёроолын цусны судсанд бөглөрөл үүссэний дараа шигдээст үхжил эхэлж гүвдрүү үхжиж эхэлнэ. Дараагийн 5-10 хоногт гүвдрүү хайрсжиж 6 долоо хоногийн дараа ховхорч жижиг сорви үлдэнэ. Арьсны гэмтэл дээр ялаа шавна. Уушгины хоёрдогч хатгалгаа үүсэх нь элбэг. Хээл хаялт ховор тохиолдоно.

Цочмог халдвараар үхсэн малд задлан шинжилгээ хийж үзэхэд арьсны эмгэг хувирал амьд малынхаас ихэнхдээ онцын ялгаагүй байна. Салст бүрхэвч үхэжсэн, биеийн бүх тунгалгийн зангилаа томорч хавагнасан байна. Жинхэнэ ходоодны салст бүрхэвч, зарим тохиолдолд гүзээ, бүдүүн гэдэсний хана, хэл, хатуу болон зөөлөн тагнай, мөгөөрсөн хоолой, улаан хоолойд шархалсан гүвдрүү илэрнэ. Бөөр, элэгний гадаргууд ойролцоогоор 2 см-ийн голчтой цайвар хэсэг хааяа таарах ба энэ нь төмсөг дээр мөн ажиглагдсан тухай мэдээлсэн байдаг. Уушги, ялангуяа өрцний хэлтэрт 5 см-ийн голчтой олон тооны хатуурсан гэмтэл нийтлэг ажиглагдана.

Каприпоксвирусийн омог, өвчилсөн малын үүлдрээс хамаарч өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдэг, задлан шинжилгээгээр илрэх бие бүтцийн эмгэг хувирал янз бүр байна. Тухайн нутгийн уугуул үүлдрийн мал уг өвчинд бага мэдрэмтгий байх ба шавжид хазуулсан мэт эсхүл шөвөг ярны шинж тэмдэгтэй андуурагдахуйц гэмтэл цөөвтөр илэрнэ. Гэсэн хэдий ч эхээс дамжсан дархлаа нь арилсан хурга, тусгаарлан маллаж байсан болон алслагдсан нутгаас өвчний эндемик тархалттай нутагт авчирсан мал, ялангуяа тэднийг хол замд тууварлаж авчраад өөр бусад хонь, ямаатай нийлүүлэн тэдгээрийн эмгэг төрүүлэгчид өртүүлэх зэргээс стресст орсон малд ихэвчлэн тархмал, заримдаа үхэлд хүргэх каприпокс вирусийн халдвар үүсгэнэ. Каприпоксын халдвар авсан импортын, дархлаагүй хонь, ямааны үхлийн хувь байнга өндөр байна. Амьтанд халдвар эргэж орогносон нотолгоо байхгүй бөгөөд өвчлөөд амьд үлдсэн амьтан халдвараас цэвэршинэ Каприпокс хүнд халдварладаггүй. Каприпокс вирус 56°C-д 2 цагт эсхүл 65°C –д 30 минутад идэвхгүй болно. pH 6.6–8.6-д вирус амьдрах чадвараа хадгална. Хэт шүлтлэг эсхүл хүчиллэг pH-д тэсвэртэй. Вирус төрөл бүрийн химийн бодист тухайлбал натрийн додецил сульфат, 20% эфир, хлороформ, 1%-ийн формалин 2%-ийн натрид мэдрэмтгий.

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Хонины цэцэг, ямааны цэцэг өвчнийг оношлох шинжилгээний арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүйг тогтоох	Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах	Халдварын тархалт тогтоох – тандалт	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгч илрүүлэх[1]						
Вирус ялгах	+	++	+	+++	+	–
ФЭШБУ	+++	+++	+++	++	+++	–
ИГХ	+	+	+	++	+	-
ПГУ	++	+++	++	+++	++	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ВСУ	++	++	++	++	++	++
ФЭШБУ	+	+	+	+	+	+
ЕЛИЗА	++	++	++	++	++	++

Түлхүүр үг:
+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
++ = энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй.
ПГУ = полимеразагийн гинжин урвал;
ВСУ = вирус саармагжуулах урвал;
ФЭШБУ = флюоресценц эсрэгбиеийн шууд бус урвал.
ЕЛИЗА = энзим холбоост дархлааны урвал
ИГХ = иммун гистихимийн арга

1. Өвчний үүсгэгчийг ялган таних

1.1. Сорьц авах, илгээх

Вирус ялгах сорьцыг арьсанд үүссэн гүвдрүү, уушгины гэмтэл эсхүл тунгалгийн зангилаанаас биопси хэлбэрээр эсхүл задлан шинжилгээний үед авна. Вирус ялгахад хэрэглэх сорьцыг эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрсэн эхний долоо хоногт, саармагжуулах эсрэгбие үүсэхээс өмнө авна. Полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ)-аар вирусийн геном илрүүлэх сорьцыг саармагжуулах эсрэгбиеийн хариу урвал үүсэхээс өмнө эсхүл үүссэний дараа цуглуулж болно. Үүнээс гадна вирус хамрын шүүрэл, шүлсэнд байдаг учраас хучуур эдийн гэмтэл, хамар, амны хөндийн арчдас цуглуулах хэрэгтэй. Каприпоксвирусийн халдвар цусаар тарах шатанд (эмгэг өөрчлөлт нэлэнхий тархахаас өмнө эсхүл нэлэнхий

[1] Үүсгэгчийг ялган таних төрөл бүрийн шинжилгээг эмнэл зүйн нэг ижил сорьцод хийхийг зөвлөдөг.

тархсанаас хойш 4 хоногийн дотор) гепарин эсхүл ЭДТА (этилен диамин тетра цууны хүчил)-ээр үл бүлэгнүүлж авсан цусны сорьцын цагаан эсийн хөвмөлийг вирус ялгахад мөн ашиглаж болно.

Бичил бие бүтцийн шинжилгээний сорьц авахдаа эмгэгшсэн хэсгийг эргэн тойрных нь эдийг хамруулан авч тэр даруйдаа сорьцын хэмжээнээс арав дахин их хэмжээний 10%-ийн формалин эсхүл 10%-ийн буфержүүлсэн саармаг формалинтай давсны изотоник уусмалд хийнэ.

Цагаан эсийн хөвмөлөөс вирус ялгах зорилгоор авсан цусны сорьцыг үл бүлэгнүүлэгчтэй хуруу шилэнд авч нэн даруй мөсөн дээр байрлуулж аль болох хурдан боловсруулна. Практикт цусны сорьцыг боловсруулахаас өмнө 4°C-д хоёр хүртэл хоног байлгаж болох боловч хөлдөөж эсхүл тасалгааны хэмд хадгалж болохгүй. Вирус ялгах эд, яр, шархны хуурай тавыг 4°C, мөсөн дээр эсхүл -20°C-д хадгална. Хэрэв сорьцыг хол замд хөргүүргүй тээвэрлэхээс өөр аргагүй бол түүнийг 10%-ийн глицерин агуулсан зөөвөрлөх тэжээлт орчинд хийж тээвэрлэх ба эдийн сорьцын хэмжээ нь хангалттай (жишээ нь 10 мл-д 1 г) буюу зөөвөрлөх тэжээлт орчин нь вирус ялгах, илрүүлэхэд хэрэглэх сорьцын төв хэсэг хүртэл нэвчихээргүй байх хэрэгтэй.

1.2. Вирус ялгах

Вирус ялгах, ген илрүүлэх эмгэгт материалыг жижиглэн нэгэн жигд шингэн болгоно. Нэгэн жигд шингэн бэлтгэх нэг аргыг жишээ болгон дор дурдав. Эдийг ариун хайч, хямсаагаар жижиглэсний дараа ган үрэл бүхий холигчоор няцалж эсхүл ариун элс, ижил хэмжээний фосфатын буфержүүлсэн давсны ариун уусмал (ФБУ) эсхүл пенициллин натри (1000 ОУН [IU]/мл), стрептомицин сульфат (1 мг/мл), микостатин (100 IU/мл) эсхүл фунгизон (амфотерицин, 2.5 мкг/мл), неомицин (200 IU/мл) агуулсан, өөрчлөн тохируулсан ийлдэсгүй Ийглийн тэжээлт орчин (MEM) бүхий ариун уур нухуур ашиглан цийдмэг бэлтгэнэ. Бэлтгэсэн цийдмэгийг гурван удаа хөлдөөн гэсгээсний дараа ширээний хурилдуураар 600 *g*-д 10 минут хурилдуурдаж тунгалагдуу болгоно. Сорьц бактериар бохирдсон гэж үзсэн тохиолдолд (арьсны сорьцоос вирус ялгах гэх мэт) хурилдуурдах шатны дараа цийдмэгийн дээд шингэн хэсгийг 0.45 мкм сүвтэй шүүлтүүрээр шүүж болох боловч цийдмэгт агуулагдах вирусийн хэмжээ буурч болзошгүй. 5-8 мл бүлэгнээгүй цусыг 600 *g*-д 15 минут хурилдуурдаж цагаан эсийн хөвмөлийг ялган бэлтгэсний дараа уг давхаргыг Пастерийн ариун гуурс ашиглан болгоомжтой авч давхар нэрмэл 5 мл хүйтэн усанд хийнэ. 30 секундын дараа 5 мл өсгөврийн давхар орцтой хүйтэн тэжээлт орчин нэмж холино. Холимгийг 600 *g*-д 15 минут хурилдуурдаж, дээд шингэн хэсгийг зайлуулж эсийн тунашийг 5 мл Глазгогийн өөрчлөн тохируулсан Ийглийн тэжээлт орчин (GMEM) зэрэг тохирох өсгөврийн тэжээлт орчинд шингэлнэ. 600 *g*-д цааш 15 минут хурилдуурдсаны дараа үүссэн тунашийг 5 мл шинэ GMEM-д шингэлнэ. Энэ аргын оронд гепаринтай цусны сорьцоос цагаан эсийн нимгэн давхаргыг нягтаар нь үелүүлэгч орчин ашиглан салгаж болно.

Каприпокс вирусийг үхэр, хонь эсхүл ямааны гаралтай эдийн өсгөвөрт өсгөвөрлөж болох боловч авсан хурганы төмсөг (LT) эсхүл хурганы бөөр (LK)-ний эсийн анхдагч эсхүл хоёрдогч өсгөвөр хамгийн Үхрийн диарей өвчний вирус гэх мэт вирусээр бохирдуулахгүй байхад анхаарах хэрэгтэй (*Бүлэг 1.1.9 Мал эмнэлэгт хэрэглэх биологийн материалын ариун чанар, бохирдолгүй болохыг тогтоох шалгалт* үзэх). Үхрийн бөөрний Мадин дарби эс (MDBK) каприпоксвирусийг ялган авахад тохиромжтой болох нь харагджээ (Fay нар, 2020. Вирус ялгах аргын жишээг дор дурдав. Цагаан эсийн нимгэн давхаргаас 1 мл-ийг эсхүл биопсийн аргаар авсан эдийн бэлдмэлийн дээд шингэн хэсгээс 1 мл-ийг авч эсийн өсгөврийн 25 см^2 эзлэхүүнтэй колбо дахь 90%-ийн зайгүй үргэлжлэн ургасан тохирох эсэд тарилт хийгээд 37°C-д 1 цаг тавьж шингээнэ. Дараа нь өсгөврийг бүлээн ФБУ-аар угааж, GMEM зэрэг антибиотик, үнээний хээлийн ийлдэс 2%-иар агуулсан 10 мл тохирох тэжээлт орчноор бүрхэнэ. Боломжтой бол эдийн өсгөврийн хуруу шил, бүрхүүл шил, эсхүл эдийн өсгөврийн микроскопын тавиур шилийг мөн халдварлуулна.

Эс эмгэгшүүлэх нөлөө үүссэн эсэхийг нотлох зорилгоор колбыг 7-14 хоногийн турш өдөр бүр шалгана. Бохирдсон колбыг устгана. Халдвар авсан эсийн мембран эргэн тойрны эсээс хөндийрөх, сүүлдээ эс бөөрөнхийлөх, бөөмийн хроматин захлах зэргээр эс эмгэгшлийн онцлог шинж илэрнэ. Эс эмгэгшүүлэх нөлөө эхлээд багахан талбайд ажиглагдах ба заримдаа халдварлуулснаас хойш 4 хоноогүй байхад ч ажиглагдана. Ургасан бүх эсийг дараагийн 4-6 хоногт эмгэгшүүлнэ. Хэрэв 7 дахь хоног хүртэл эс эмгэгшүүлэх нөлөө илрэхгүй бол өсгөврийг гурван удаа хөлдөөн гэсгээж, дээд талын тунгалаг шингэн хэсгийг эсийн шинэ өсгөвөрт тарина. Колбод эс эмгэгшүүлэх нөлөө үүссэн анхны шинж илрэх эсхүл

түүнээс арай эрт халдварлуулсан бүрхүүл шил хэрэглэж байгаа бол хэд хэдэн бүрхүүл шил авч ацетонд бэхжүүлж гематоксилин-эозины (Г&Э) будгаар будна. Цитоплазмын доторх эозиноор будагдсан оршихууны бүтэц нь эсийн бөөмийн тал хэртэй янз бүрийн хэмжээтэй, тунгалаг цагаригаар хүрээлэгдсэн байвал поксвирусийн халдвар гэж оношилно. Каприпоксвирусийн халдварын үед олон бөөмт нийлмэл эс (синцити) үүсэхгүй. Хэрэв эс эмгэгшүүлэх нөлөө нь эсийн өсгөвөр дэх каприпоксвирусийн халдварын улмаас үүссэн бол тэжээлт орчинд каприпоксвирусийн эсрэг өвөрмөц ийлдэс нэмж уг нөлөө үүсэхээс хамгаалах, эсхүл удаашруулж болох ба ингэх нь өвчин үүсгэгчийг урьдчилсан байдлаар ялган таних боломж олгоно. Каприпоксвирусийн зарим омгийг Веро (Африкийн ногоон сармагчингийн бөөрний эс) эсэд ургуулж болох ч анх ялгаж байгаа тохиолдолд энэ эсийг хэрэглэхэд тохиромжгүй.

1.3. Электрон микроскоп

Поксвирусийн вирионы шинж чанарыг тодосгох будах аргыг ашиглан электрон микроскопоор дурандан шинжилж болно. Тодосгох будалтын олон янзын арга байдаг бөгөөд тэдгээрийн нэг жишээг дор дурдав.

Хурилдуурдахын өмнө электрон микроскопоор харж шинжлэх материалыг эдийн цийдмэгээс бэлтгэхдээ пентиламины уураар идэвхжүүлсэн пиолоформ-нүүрстөрөгчийн субстратаар бүрхсэн зургаан өнцөгт 400 үүр бүхий электрон микроскопын торыг парафилм эсхүл ваксан хавтан дээр байрлуулсан нэг дусал цийдмэг дээр нь хөвүүлэн барина. Нэг минутын дараа торыг нэг дусал pH 7.8-тай Трис/ЭДТА буферт шилжүүлэн 20 секунд байлгаж дараа нь нэг дусал pH 7.2 бүхий 1%-ийн фосфорт вольфрамын хүчилд шилжүүлэн 10 секунд байлгана. Торыг шүүлтүүрийн цаас ашиглан хатааж электрон микроскоп дээр байрлуулна. Каприпоксвирусийн вирион нь гуурсанцар маягийн богино зүйлээр бүрхэгдсэн, тоосго шиг дөрвөлжиндүү хэлбэртэй, ойролцоогоор 290 x 270 нм хэмжээтэй байна. Зарим вирионыг эзэн эсээс гаралтай мембран хүрээлсэн байж болох бөгөөд вирионы хэлбэр дүрсийг баттай тогтоохын тулд аль болох олон вирионыг шалгаж үзнэ (Kitching & Smale, 1986).

Каприпоксвирусийн вирион ортопоксвирусийнхээс ялгагдахгүй боловч *Vaccinia* вирусээс бусад ортопоксвирус хонь, ямаанд эмгэг үүсгэдэггүй. Гэхдээ каприпоксвирус нь шөвөг яр өвчин үүсгэдэг, арай жижиг, зууван хэлбэртэй бөгөөд судалтай юм шиг харагдах тасралтгүй үргэлжлэх нэг гуурсанцраар бүрхэгдсэн байдаг парапоксвирусийн вирионоос ялгагдана.

1.4. Бичил бие бүтцийн эмгэг судлал

Бичил бие бүтцийн эмгэг судлалын болон иммунгистохимийн сорьцыг стандарт арга зүйн дагуу бэлтгэнэ (Parvin нар, 2022). Бэлтгэж гематоксилин-эозиноор Г&Э) будсаны дараа хэд хэдэн зүсмэгийг гэрлийн микроскопоор шалгана. Бичил бие бүтцийн эмгэг судлалаар цочмог явцтай арьсны эмгэгийн хамгийн гол илрэл нь их хэмжээний эсийн нэвчдэс, судасны үрэвсэл, хаван байна. Өвчний эхэн үеийн эмгэгшил судас орчмын үрэвслээр илэрнэ. Эхэндээ макрофаг, нейтрофил, заримдаа эозинофилийн нэвчдэс илрэх ба эмгэгшил хүндрэх тутам макрофаг, лимфоцит, В-эсийн нэвчдэс нэмэгдэнэ. Каприпоксвирусээр үүсгэгдэх бүх халдварын онцлог шинж нь арьсны жинхэнэ давхаргад янз бүрийн тооны "хонины цэцэгийн эс" үүсэх байдгаар илэрдэг. Хонины цэцэгийн эдгээр эс нь хонь, ямааны цэцэг өвчний эмгэг хувиралтай бусад эрхтэнд ч илэрч болно. Эдгээр эс нь эозиноор будагддаг, цитоплазм дотор бүдэг харагдах оршихуунтай, хоосовчтой бөөм бүхий том, од хэлбэртэй байна. Судасны үрэвслийг бөглөрөл, шигдээс дагалдах ба улмаар хаван, үхжил үүсгэнэ. Арьсны өнгөн давхаргад харлах, дутуу хайрсжих, хэт хайрсжих өөрчлөлт илэрнэ. Бусад эрхтэнд илрэх өөрчлөлт хоорондоо төстэй байх бөгөөд эсийн нэвчилт, судасны үрэвсэл давамгайлна. Амьсгалын дээд зам шархлаатна.

1.5. Дархлаа судлалын арга

1.5.1. Флюоресценц эсрэгбиеийн арга

Каприпоксвирусийн эсрэгтөрөгчийг флюоресценц эсрэгбиеийн аргаар халдварлуулсан бүрхүүл шил эсхүл эдийн өсгөврийн тавиур шил дээр илрүүлж болно. Бүрхүүл эсхүл тавиур шилийг угааж хатаасны дараа хүйтэн ацетонд 10 минут бэхжүүлнэ. Хонь, ямааны дархлаат ийлдэс хэрэглэдэг шууд бус аргаар шинжлэхэд дэвсгэр өнгө нь гүн байх бөгөөд өвөрмөц бус урвал илэрнэ. Гэхдээ өвчлөөд эдгэрсэн хонь, ямааны ийлдэс эсхүл цэвэршүүлсэн каприпоксвирусээр хэт дархлаа хийсэн

туулайн ийлдэснээс шууд коньюгатыг бэлтгэж болно. Эсрэгбие эсийн бүрэлдэхүүн хэсэгтэй солбицох урвалд орж болзошгүй учраас халдвар аваагүй эдийн өсгөврийг сөрөг хяналтаар хэрэглэнэ. Эсийн өсгөврийн эсрэгтөрөгчийн эсрэгбиетэй солбицох урвалд орж болзошгүй тул халдваргүй эдийн өсгөврийг сөрөг хяналтаар хэрэглэнэ. Флюоресцент эсрэгбиеийн эдийн зүсэлтийн аргад гүн хөлдөөж бэлтгэсэн тавиур шилийг мөн хэрэглэж болно.

1.6. Нуклеин хүчлийг ялган таних арга

Каприпоксвирусийн ДНХ-ийг илрүүлэхэд зориулсан олшруулах урвалын аргууд нь эсрэгбиеийн хариу урвал явагдаж эхлэхээс өмнө, эхэлсний дараа болон өвчин үргэлжлэх бүх явцад өвөрмөц, бас мэдрэмтгий байдаг арга юм. Эдгээр аргад энгийн ПГУ, бодит цагийн ПГУ, хамгийн орчин үеийн гогцоон-холбоост изотермийн олшруулалтын арга (LAMP) багтана. Нуклеин хүчлийг ялган таних эдгээр аргыг биопси, арчдас, цус, үрийн шингэн эсхүл эдийн өсгөврийн сорьцод каприпоксвирусийн геномын үелбэрийг илрүүлэхэд хэрэглэнэ. Шинжилж байгаа дээж бүрдээ нуклеин хүчлийг ялгах, түүнийг ПГУ-аар олшруулах аргыг баталгаажуулсан байх нь чухал ач холбогдолтой.

1.6.1. Энгийн ПГУ-ын арга

Өвөрмөц чанарааraa янз бүр энгийн ПГУ-ын хэд хэдэн аргаар ерөнхийдөө каприпоксвирус, ХЦВ эсхүл ЯЦВ-ийг илрүүлсэн талаар тэмдэглэжээ (Heine нар, 1999; Ireland & Binepal, 1998; Zro нар, 2014a). ЯЦВ болон YATӨВ-ийг ХЦВ-ээс ялгаварлах энгийн ПГУ-ыг боловсруулсан байна (Lamien *нар,* 2011a). Энгийн ПГУ-ыг ялангуяа генийн дараалал тогтоох аргаар мал, амьтны зүйлийг тодорхойлох болон филогенетикийн шинжилгээнд хангалттай хэмжээний генетикийн материал ялган авахад хэрэглэнэ (Le Goff нар, 2009).

Дор өгүүлэх гельд суурилсан энгийн ПГУ-нь ЭДТА бүхий цус, үрийн шингэн, эдийн өсгөврийн дээжид каприпоксвирусийн геномыг илрүүлэхэд хялбар, хүрдан, мэдрэмтгий арга юм (Tuppurainen *et al.,* 2005).

Шинжилгээний аргачлал
Дор дурдсан ялгах аргын оронд ДНХ ялган авах худалдаанд гарсан цомог ашиглаж болно.

i) ЭДТА бүхий 200 мкл цус, үрийн шингэн, эдийн өсгөврийн дээрх шингэнийг хөлдөөх гэсгээх аргаар боловсруулаад 5 М гуанидин тиоцианат, 50 mM калийн хлорид, 10 mM Трис/HCl (pH 8); 0.5 мл Твин 20 агуулсан100 мкл задлагч буферт түр байлгана.

ii) Арьс болон бусад эдийн дээжийг мэс заслын хурц иртэй ариутгасан хутга, хайчаар маш сайн жижиглэнэ. Ууранд хийж нухна.Эдийн дээжийг дээр дурдсан задлагч буфер 800 мкл-д түр хийнэ.

iii) Цусны дээжид 2 мкл протеиназа К (20 мг/мл), эдийн дээжид 10 мкл протеинака К (20 мг/мл) нэмээд 56°С дулаан тогтоогуурт 2 цаг эсхүл хонуут байлгаад дараа нь 100°С-д 10 минут халаана. Дээжид фенол:хлороформ:изоамилийн спиртийн (25:24:1 [э/э] холимгийг 1:1 харьцаагаар нэмнэ. Вортексоор холиод тасалгааны хэмд 10 минут байлгана. Дээжийг 16,060 *g*-аар 4°С-д 15 минут хурилдуурдана. Дээд талын усан үеийг (200 мкл хүртэл) болгоомжтой аваад 2.0 мл-ийн цэвэр цодонд шилжүүлэн хийнэ. Мөсөнд суулгаж хөргөсөн этилийн спирт (100%) хоёр эзлэхүүн, 3 М цуу хүчлийн натри (pH 5.3) 1/10 эзлэхүүнийг нэмнэ. Дээжийг –20°С-д 1 цаг тавиад дахин 16,060 *g*-аар 4°С-д 15 минут хурилдуурдана. Дээд шингэн хэсгийг зайлуулна. Тунашийг нунтаг мөсөнд суулгаж хөргөсөн этилийн 70% спиртээр (100 мкл) гурван удаа угаагаад 16,060 *g*-аар 4°С-д 1 минут хурилдуурдана. Дээд шингэнийг зайлуулаад тунашийг сайтар хатаана. Тунашийг нуклеазагүй болгосон 30 мкл усанд хийгээд –20°С-д яаралтай хадгална (Tuppurainen *et al*., 2005). Үүнээс гадна багана ашиглан ДНХ ялгах цомог ашиглаж болно.

iv) Энэ ПГУ-ын праймерийг вирусийн “түлхүүр” уургийг кодлогч генээс санаа авч боловсруулсан ба олшруулах бүтээгдэхүүний хэмжээ 192 хос суурь байна (Ireland & Binepal, 1998). Праймер нь дараах генийн дараалалтай:

Хөтлөх праймер 5’-TCC-GAG-CTC-TTT-CCT-GAT-TTT-TCT-TAC-TAT-3’

Буцаах праймер 5’-TAT-GGT-ACC-TAA-ATT-ATA-TAC-GTA-AAT-AAC-3’.

v) Дараах зүйлийг агуулсан 50 мкл эцсийн эзлэхүүнд ДНХ-г олшруулна: 5 мкл 10 × ПГУ-ын буфер, 1.5 мкл MgCl2 (50 mM), 1 мкл dNTP (10 mM), 1 мкл хөтлөх праймер, 1 мкл буцаах праймер, 1 мкл ДНХ темплат (~10 ng), 0.5 мкл *Taq* ДНХ полимераза, 39 мкл нуклеазагүй болгосон ус. ДНХ темплатын шаардагдах эзлэхүүн хэлбэлзэж болох ба нуклеазагүй болгосон усны эзлэхүүнийг 50 мкл эцсийн эзлэхүүнд тохируулах хэрэгтэй.

vi) Дулаан сэлгэгчид дараах байдлаар дээжийг шинжилнэ: 95°C-д 2 минут; дараа нь 95°C-д 45 секунд, 50°C-д 50 секунд, 72°C-д 1 минут (34 мөчлөг); 72°C-д 2 минут, 4°C–д шинжилгээ дуустал барина.

vii) Тус бүрээс 10 мкл авч ачаалах будагтай холиод TAE буферт (ЭДТА агуулсан трис ацетатын буфер) 1.5%-иар найруулсан агарозын гельд ачаална. Зэрэгцээ орших замд ДНХ-ийн 100 х.с. алгасалттай жиших маркер ачаална. 40–60 минутын хугацаанд 8–10 V/см хүчээр электрофорез явуулж бүтээгдэхүүнийг салган түүнийг ДНХ–ийн тохирох будаг, трансиллюминатор ашиглан харна.

1.6.2. Бодит цагийн ПГУ-ын арга

Мэдрэх болон өвөрмөц чанар өндөртэй флюоресценц илрүүлэгчид суурилсан бодит цагийн ПГУ-ын хэд хэдэн аргыг хөгжүүлж, баталгаажуулжээ (Balinsky нар, 2008; Bowden нар, 2008; Das нар, 2012; Stubbs нар, 2012). Эдгээр арга бүгд каприпоксвирусийн геномоос жижиг тогтвортой генийн локусыг илрүүлэх боловч ХЦВ, ЯЦВ эсхүл арьс товруутах өвчний вирусийг хооронд нь ялгаварлан илрүүлэх боломжгүй юм. Каприпоксвирусийн зүйлийг генийн дараалал тогтоохгүйгээр шууд ялгаварлах аргыг боловсруулаад байна (Haegeman нар, 2013; Gelaye нар, 2013; Lamien нар, 2011b; Wolff нар, 2021).

Дор өгүүлсэн бодит цагийн ПГУ нь ХЦӨВ, ЯЦӨВ, АТӨВ-ийн геномын ДНХ–г илрүүлэх хурдан, мэдрэмтгий, өвөрмөц арга юм. Энэ аргыг каприпоксвирусийг зүйлийн түвшинд ялгаварлахад зориулаагүй болно.

Цус, эд, үрээс ДНХ ялгах

Бодит цагийн ПГУ-д зориулсан ДНХ темплат ялгахад зориулсан ДНХ ялгах хэд хэдэн цомог худалдаанд гарсан байна. Худалдаанд гарсан цомгийг хэрэглэхдээ ямагт үйлдвэрлэгчийн зааврыг баримтална. ДМАЭМБ-ын лавлах лабораторитой холбогдож худалдаанд гарсан тохирох цомгийн талаар зөвлөгөө авч болно.

Бодит цагийн ПГУ

i) Дор өгүүлсэн бодит цагийн ПГУ-д Боуден нарын (2008) боловсруулсан праймер, пробыг хэрэглэнэ. Дулаан сэлгэлтийн горим, урвалжийн төвшрүүлэг нь тухайн лабораторийн шинжилгээ хийх онцлогоос хамаарч өөр байж болно.

ii) Хөтлөх болон буцаах праймерийг 20 мкМ төвшрүүлэгтэй, харин пробыг 10 мкМ төвшрүүлэгтэй бэлтгэнэ.

Хөтлөх праймер: 5’-AAA-ACG-GTA-TAT-GGA-ATA-GAG-TTG-GAA-3’ Буцаах праймер: 5’-AAA-TGA-AAC-CAA-TGG-ATG-GGA-TA-3’

Проб: 5’-FAM-TGG-CTC-ATA-GAT-TTC-CT-MGB-3’

iii) Мастер холимгийг урвал бүрд 10 мкл 2 × бодит цагийн ПГУ-ын мастер холимгийг 0.4 мкл хөтлөх праймер, 0.4 мкл буцаах праймер, 0.5 мкл проб,6.7 мкл РНазаг нь арилгасан ус хольж бэлтгэнэ.

iv) Ялган авсан 2 мкл ДНХ-г 96 үүртэй ПГУ-ын хавтан эсхүл ПГУ-ын туузан үүр дэх 18 мкл мастер холимогт нэмээд дор дурдсан жишээ эсхүл адил төстэй аргаар бодит цагийн ПГУ явуулна.

v) 95°C-д 10 минут, дараа нь 95°C-д 15 секундээр 45 мөчлөг, 60°C-д 60 секунд. Мөчлөг бүрийн төгсгөлд гэрэлтэлтийг бүртгэнэ.

vi) Бодит цагийн ПГУ явуулж дуссаны дараа босго мөчлөгийн утгыг (БМУ) авч үзнэ. БМУ 35-аас доош дээжийг эерэг гэж үзнэ. БМУ 35-аас дээш боловч 45-аас доош дээжийг дүгнэлт хийх боломжгүй гэж үзэн нэмэлт шинжилгээ хийнэ. БМУ өгөөгүй буюу нуклеин хүчлийн олшруулалтыг харуулах муруй нь БМУ-ыг даваагүй дээжийг сөрөг гэж үзнэ.

1.6.3. Изотермийн геном олшруулалт

Гогцоон-холбоост изотермийн олшруулах (LAMP) аргыг каприпоксвирусийн геномыг илүү хялбар, хямдаар, мэдрэх болон өвөрмөц чанарын хувьд бодит цагийн ПГУ-тай адилхан илрүүлэх молекул шинжилгээний арга гэж тэмдэглэжээ (Das нар, 2012; Murray нар, 2013). 2012 онд Даас нарын боловсруулсан LAMP аргыг цааш баталгаажуулсан талаар нийтлэхдээ (Omoga нар, 2016) каприпоксвирусийн энэ нийтлэг аргыг LAMP-ын хоёр нэмэлт урвалтай хослуулан хэрэглэж ЯЦВ-ийг ХЦВ-ээс ялгаж болох талаар тэмдэглэсэн байна (Zhao нар, 2014).

2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ

Амьтан эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлснээс хойш 1 долоо хоногийн дараа эсрэгбие шинжилгээнд мэдрэгдэх хэмжээнд үүснэ. Халдварыг илрүүлснээс хойш 1-2 сарын дараа эсрэгбие хамгийн өндөр хэмжээнд илэрнэ.

2.1. Вирус саармагжуулах урвал

Шинжлэх ийлдсийг каприпоксвирусийн тогтмол таньцын (100 $TCID_{50}$ [эдийн өсгөвөрт халдварлуулах 50%-ийн тун]) эсрэг таньцлах эсхүл саармагжуулах индексийг тооцоолох зорилгоор шинжлэх ийлдэсний тогтмол шингэлэлтийн эсрэг стандарт каприпоксвирусийн омгийг таньцалж болно. Каприпоксвируст эдийн өсгөврийн мэдрэх чанар янз бүр байдгаас гадна 100 $TCID_{50}$/үүр хэмжээг тогтмол нарийн барихад төвөгтэй байдаг тул ихэнх лаборатори хэдийгээр их хэмжээний шинжилгээний ийлдэс шаардагдаг ч саармагжуулах индексийн аргыг хэрэглэхийг илүүд үздэг. Хавтгай ёроолтой 96 үүр бүхий эдийн өсгөврийн зориулалтын бичил таньцын хавтан ашиглан урвал тавих аргыг энд тодорхойлсон бөгөөд урвалыг эсийн өсгөврийн цодонд эзлэхүүнийг нь тохируулан өөрчлөөд мөн адил явуулж болох боловч эсийн өсгөврийн цодонд урвалын эцсийн цэгийн таньцыг уншихад илүү төвөгтэй юм.

2.1.1. Аргачлал

i) Шинжлэх ийлдэс болон сөрөг, эерэг хяналтыг 1/5 харьцаагаар Eagle's/HEPES (N-2-гидроксиэтилпиперазин, N-2-этансульфоны хүчил) буферээр шингэлж, 56°C-д 30 минут байлгаж идэвхгүйжүүлнэ.

ii) Дараа нь бичил таньцын хавтангийн 1 ба 2-р багана, A-аас H хүртэлх мөрөнд эхний идэвхгүйжүүлсэн ийлдэснээс 50 мкл-ыг нэмнэ. Хоёр дах ийлдсийг 3 ба 4-р баганад, гурав дахь ийлдсийг 5 ба 6-р баганад, эерэг хяналтын ийлдсийг 7 ба 8-р баганад, сөрөг хяналтын ийлдсийг 9 ба 10-р баганад, 50 мкл Eagle's/HEPES-ийн буферийг 11 ба 12-р багана болон H мөрний бүх үүрэнд тус тус нэмнэ.

iii) Нэг мл тутамд log_{10} 6 $TCID_{50}$-аас дээш таньцтай каприпоксвирусийн лавлагаа омог (ихэвчлэн эдийн өсгөвөрт сайн ургадаг вакцины омог)-ыг 1 мл тутамд log_{10} 5.0, 4.0, 3.5, 3.0, 2.5, 2.0, 1.5 $TCID_{50}$ -тай (50 мкл тутамд log_{10} 3.7, 2.7, 2.2, 1.7, 1.2, 0.7, 0.2 TCID50-тай тэнцэх) log шингэрүүлэлтийн цуврал бэлтгэхээр тооцож эрэгддэг таглаатай шилэн бортогонд Eagle's/HEPES-ээр шингэлнэ.

iv) G мөрнөөс эхлэн түүний үүр бүрд хамгийн их шингэрүүлэлттэй вирусийн бэлдмэлээс 50 мкл-ийг нэмнэ. Үүнийг вирусийн бэлдмэлийн шингэлэлт бүрд адилхан давтах ба хамгийн өндөр таньцаар шингэлсэн вирусийн бэлдмэл A мөрөнд хийгдэнэ.

v) Хавтанг бүрхэж 37°C-д 1 цаг байлгана.

Тохирох эсийг (MDBK эс гэх мэт) антибиотик, үнээний хээлийн 2%-ийн ийлдэс агуулсан Ийглийн тэжээлт орчинд 10^5 эс/мл цийдмэг болгон урьдчилан ургуулсан дан үе эсээс бэлтгэнэ. Бичил таньцын хавтанг тогтмол хэмд байлгасны дараа тэжээлт орчны хяналт болгон ашиглах H11 ба H12 үүрнээс бусад бүх үүрэнд 100 мкл эсийн цийдмэгийг нэмнэ. H мөрний үлдсэн үүрийг эс болон ийлдэсний хяналтаар ашиглана.

vi) Бичил таньцын хавтанг бүрхэж 37°C-д 9 хоног байлгана.

vii) Эс эмгэгшүүлэх нөлөө үүсэж байгааг нотлох зорилгоор 4 дэх өдрөөс эхлэн эсийн дан үеийг урвуу микроскопоор өдөр бүр шалгана. H мөрний эсэд эмгэгшлийн нөлөө үүсэх ёсгүй. Каприпоксвирусийн 0240 KSGP вакцины омгийг жишиг болгон ашиглаж эцсийн уншилтыг 9 дэх өдөр хийх ба хос таньцлалт бүрийн вирусийн таньцыг Карберийн аргаар тооцоолно. Хэрэв удаан орхивол

вирус эхлээд саармагжих, эсрэгбиеэс салах байдлаар эсэд гэнэтийн өөрчлөлт гарна.

viii) *Үр дүнг үнэлэх:* Саармагжуулах индекс нь сөрөг ийлдэс болон шинжилсэн ийлдэс дэх вирусийн таньц хоорондын лог таньцын зөрүү байна. ≥1.5 индексийг эерэг гэж үзнэ. Нэг малаас халдварын өмнө болон дараа нь авсан ийлдсийг шинжилбэл урвал илүү мэдрэмтгий байна. Каприпоксвирусийн эсрэг дархлаа ихэвчлэн эсээр дамжин үүсдэг тул ийлдсийн шинжилгээгээр сөрөг үр дүн үзүүлэх, ялангуяа вакцинжуулалтын дараа эсрэгбиеийн хариу урвал бага байж болох тул тухайн ийлдэс авч шинжилсэн малд дархлааны хамгаалалт байхгүй гэж үзэж болохгүй.

2.2. Флюоресценц эсрэгбиеийн шууд бус урвал

Каприпоксвирус халдааж бүрхүүл шил дээр ургуулсан эдийн өсгөвөр эсхүл микроскопын тавиур шил дээрх эдийн өсгөврийг флюоресценц эсрэгбиеийн шууд бус шинжилгээнд хэрэглэж болно. Вирус халдаагаагүй эдийн өсгөврийн хяналт, эерэг болон сөрөг хяналтын ийлдсийг хамт шинжилнэ. Вирус халдварлуулсан өсгөвөр болон хяналтын өсгөврийг ацетонд –20°C-д 10 минут бэхжүүлж 4°C-д хадгална. Шинжлэх ийлдсийг 1/5 харьцаагаар эхлэн фосфатын буфержүүлсэн давсны уусмал (ФБУ)-аар шингэлэх ба эерэг дээжийг флюоресцеин изотиоцианаттай коньюгатласан хонь-эсрэг гамма-глобулинаар илрүүлнэ (Davies & Otema, 1978). Орф вирус (хонины шөвөг яр өвчний вирус), үхрийн амны гүвдрүүт үрэвслийн вирус болон магадгүй бусад поксвирустэй солбицох урвал үзүүлж болно.

2.3. Вестерн блотын урвал

Шинжлэх ийлдсийг каприпоксвирус эсийн задрагийн эсрэг вестерн блот хийх нь хэдийгээр өндөр өртөгтэй, хэрэглэхэд төвөгтэй ч каприпоксвирусийн бүтцийн уургийн эсрэгбиеийг илрүүлэх мэдрэмтгий бөгөөд өвөрмөц систем юм (Chand нар, 1994).

2.4. Энзим холбоост дархлааны урвал

Лабораториуд өөрсдөө хийсэн, худалдаанд гарсан энзим холбоост эсрэгбиеийн урвалын цомог бэлэн байгаа боловч аль аль нь төрөл бүрийн каприпоксвирусийн (АТӨВ, эсхүл ХЦӨВ/ЯЦӨВ) эсрэгбиеийг хооронд нь ялгаварлаж чадахгүй байна.

В. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

1. Оршил:

1.1. Үндэслэл, хэрэглэх зориулалт

Каприпоксвирусийн сулруулсан амьд болон идэвхгүйжүүлсэн төрөл бүрийн вакциныг хонь, ямаанд цэцэг өвчний эсрэг хамгаалалт тогтооход хэрэглэж иржээ. Өдий хүртэл судлагдаад байгаа хонь, ямаа, үхрийн гаралтай каприпоксвирусийн бүх омогт тэднийг саармагжуулдаг эсрэгбие таньж холбогддог хэсэг нь ижилхэн учраас нэг омгийн халдвараар өвчлөөд эдгэрсэн мал бусад омгийн халдварт тэсвэртэй байдаг (Capstick, 1961). Иймээс хонь, ямаанд тэдгээрийн гарал үүсэл Ази эсхүл Африк байхаас үл хамааран вирусийн бүх хээрийн омгийн эсрэг хамгаалалт тогтооход каприпоксвирусийн нэг омгийг ашиглах боломжтой (Kitching нар, 1986; Kitching & Taylor, 1985). Гэсэн хэдий ч үйлдвэрлэл дээр хийсэн судалгаанаас үзэхэд зарим омог нэлээд эзэн-өвөрмөц байх бөгөөд ХЦВ-ийн эсрэг зөвхөн хонинд, ЯЦВ-ийн эсрэг зөвхөн ямаанд хамгаалалт тогтоодог байна.

Каприпоксвирусийн хэд хэдэн омгийг, жишээ нь хонинд Румыны болон RM-65 омгийг, ямаанд Майсорын болон Горган омгийг амьд вакцинд ашиглан түгээмэл хэрэглэж иржээ (Davies & Mbugwa, 1985). Нийтлэг хэрэглэж ирсэн Кенийн хонь, ямааны цэцэг өвчний вакцины вирус (KSGP) 0240 нь үнэн хэрэгтээ арьс товруутах өвчний вирус болохыг саяхан тогтоожээ (Tuppurainen нар, 2014). Вирусийн омгийг зөв ялган таньж, тэдний шинж чанар нь сулрах байдлыг сайтар судалж үхэр, хонь, ямаанд хэрэглэх вакцины омгийг сонгохдоо харгалзан үзнэ. Ашигласан вакцины омгоос вакцины хамгаалалтын тун хамаарна. 0240 омгоор вакцинжуулсны дараа хонь, ямаанд үүсэх каприпоксвирусийн эсрэг дархлаа нэг жил гаруй тогтдог бол Румыны омог наад зах нь 30 сар хамгаална.

Эдийн өсгөвөр ашиглан үйлдвэрлэсэн үхүүлсэн вакцин нь зөвхөн эс дотор боловсорч гүйцсэн вирусийн вирионыг агуулах ба үүнээс тогтвор сул боловч биологийн хувьд чухал ач холбогдолтой эсийн гаднах дугтуйт вирион агуулахгүй. Үүний улмаас вакцин нь эсийн гаднах дугтуйт вирионоос хамгаалах дархлааг өдөөхгүй тул хамгаалалт сул байдаг. Каприпоксвирусийн үхүүлсэн вакцин нь их сайндаа түр зуурын хамгаалал үүсгэнэ.

2. Уламжлалт вакцин үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны тодорхойлолт, тавигдах шаардлага

Вакцин үйлдвэрлэлийн зориулалтаар ашиглах байгууламж, үйлдвэрлэлийн бүх үйл явцын баримтжуулалт, бүртгэл хөтлөлтөд тавигдах ерөнхий шаардлагыг 1.1.8. *Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэлийн зарчим* бүлэгт тусгав. Баримтжуулалтад үйлдвэрлэлийн арга, үйлдвэрлэлийн явцад хэрэглэж байгаа эс, урвалж, вакцины цуврал тус бүр, эцсийн бүтээгдэхүүнийг шалгах шат бүрийн стандарт ажиллагааны заавар (САЗ)-ыг оруулна.

2.1. Эх омгийн шинж чанар

2.1.1. Биологийн шинж чанар

Вакцин үйлдвэрлэлд хэрэглэх каприпоксвирусийн омог бүрд түүний гарал үүсэл, эдийн өсгөвөр эсхүл амьтнаар зорчуулсан түүхийг тодорхойлон бичсэн баримт дагалдуулна. Омог нь түүнийг хэрэглэж болох заалттай бүх хонь, ямааны үүлдэр, түүний дотор хээлтэй болон өсвөр малд хэрэглэхэд аюулгүй байна. Омог нь халдвар дамжуулдаггүй, эдийн өсгөврөөр цааш зорчуулахад анх сулруулсан тэр хэвээрээ байж, хоруу чанартай хээрийн омгоор халдвар хийхэд нэгээс доошгүй жилийн хугацаанд бүрэн хамгаалж байх ёстой. Вакцины вирусийн эх омгийг тодорхой хэмжээгээр бэлтгэн хадгалж вакциныг тогтмол үйлдвэрлэхэд шаардагдах ажлын эх омгоор тогтвортой хангана.

2.1.2. Чанарын шалгуур (ариун чанар, цэвэршилт, гаднын зүйл агуулаагүй байх)

Эх омог бүрд түүнийг ялган таних, түүнчлэн хөндлөнгийн вирус, ялангуяа хилийн өвчин, үхрийн вируст диарейн вирус зэрэг пестивирус агуулаагүй, бактери, мөөгөнцөр эсхүл микоплазмаар бохирдоогүй болохыг шалгах шинжилгээ хийсэн байна. Ариун чанар эсхүл цэвэршилтийг шалгах ерөнхий аргыг 1.1.9 дүгээр бүлэгт оруулав. Эх омог нь зөвлөсөн замаар олгоход хонь, ямааны бүх үүлдэрт эмнэл зүйн хариу урвал үүсгэхгүй, аюулгүй байж хонь, ямааны бүх үүлдэрт каприпоксвирусийн эсрэг бүрэн дархлааг наад зах нь нэг жилийн турш тогтооно. Шаардагдах аюулгүй байдал болон идэвхийн шалгалтыг В.2.2.4 *Эцсийн бүтээгдэхүүний цувралын шалгалт* бүлэгт оруулав.

2.2. Үйлдвэрлэлийн арга

Үйлдвэрлэлийн аргыг үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны тодорхойлолт болгон баримтжуулна.

2.2.1. Үйлдвэрлэлийн явц

Вакцины эх омгийг хөлдөөн хатааж 2 мл-ийн цодонд –20°С-д хадгална. Эх омгийг нойтон байдлаар –20°С-д хадгалж болох ч –70°С эсхүл түүнээс доош хэмд хадгалбал илүү тогтвортой байна. Вирусийн гарцыг дээд зэргээр ихэсгэхийн тулд түүнийг ноосны чиглэлийн хониноос гаргаж авсан анхдагч эсхүл хоёрдогч эс - хурганы төмсөгний (LT) эсхүл хурганы бөөрний (LK) эсэд өсгөвөрлөнө. Веро эсийг түүнд сайн дассан омгийг өсгөвөрлөхөд хэрэглэж болно.

Вакцины цувралыг хоёрдогч LT эсхүл анхдагч LK эсийн шинэ дан үед үйлдвэрлэнэ. Эх омгийн цодонг GMEM эсхүл бусад тохирох тэжээлт орчноор сэргээж, бүлээн ФБУ-аар угаасан LT эсхүл LK эсийн дан үед халдварлуулсны дараа нэмэлт GMEM-ээр бүрхэхийн өмнө 37°С-д 15 минут байлгаж шингээнэ. 4-6 хоногийн дараа эс эмгэгшүүлэх нөлөө эрчимтэй (80-90%) явагдсан байна. Өсгөвөрт эс эмгэгшүүлэх өвөрмөц бус нөлөө үүссэн эсэх, тэжээлт орчин булингартсан эсхүл pH нь өөрчлөгдсөн эсэхийг шалгана. Өсгөврийг гурван удаа хөлдөөн гэсгээсний дараа цийдмэгийг зайлуулж 600 *g*-д 20 минут хурилдуурдана. Үйлдвэрлэлийн цувралд

хэрэглэх хангалттай хэмжээний вирус үйлдвэрлэхийн тулд вирусийн хоёр дахь зорчуулалтыг хийх шаардлага гарч болно. Амьд вакциныг эргэлддэг сав (roller bottle)-д үйлдвэрлэж болно.

Уг аргыг давтан хийж, дугаарласан колбо бүрээс өсгөврийг авч тус тусад нь тэнцүү эзлэхүүнтэй ариун, хөргөсөн 5%-ийн лактальбумины задраг болон 10%-ийн сахарозтой хольж, тус бүрийг нь дугаарласан саванд хийж -20 хэмд хадгална. Хадгалахын өмнө ариун чанарыг хянах зорилгоор сав бүрээс 0.2 мл-ийг авна. Вирус таньцлах зорилгоор нэмж 0.2 мл-ийг авна; арван савнаас авсан 0.2 мл дээжийг нийлүүлж 2 мл нийлмэл дээж болгон ашиглана. Вакцины цуврал үйлдвэрлэх бүрд хэрэгжүүлсэн бүх ажиллагааг тэмдэглэж хадгална.

Идэвхгүйжүүлсэн вакциныг үйлдвэрлэхдээ ихэвчлэн каприпоксвирусийн идэвхгүйжүүлээгүй хээрийн омгийг дээр дурдсан эдийн өсгөвөрт өсгөвөрлөөд 0.03%-ийн формальдегидээр идэвхгүйжүүлж хүчлүүрээр хэрэглэх хөнгөн цагааны усан исэлтэй тэнцүү хэмжээгээр хольж үйлдвэрлэнэ. Үйлчлэх механизмын хувьд формальдгид нь амьд бүх вирусийг бүрэн, найдвартай идэвхгүйжүүлэх боломжгүй учир түүнийг вирусийн зарим вакцинд үл тохирох идэвхгүйжүүлэгч гэж үзэх болсон байна. Каприпоксвирусийн тухайд энэ асуудал бүрэн судлагдаагүй байна.

2.2.2. Субстрат, тэжээлт орчинд тавих шаардлага

Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаанд хэрэглэж буй бүх найрлагын техникийн тодорхойлолт, эх үүсвэрийг баримтжуулж, гаднын зүйл (бактери, мөөгөнцөр, микоплазм, вирус) агуулаагүй болохыг шалган баталгаажуулна. Шалгах дэлгэрэнгүй аргачлалыг 1.1.9 дүгээр бүлэгт оруулав. Антибиотикийн хэрэглээ нь зөвшөөрөл олгодог эрх бүхий байгууллагын шаардлагад нийцсэн байна.

2.2.3. Үйлдвэрлэлийн явцын хяналт

i) Эс

Эсийг скрепи өвчнөөр тайван ноосны үүлдрийн хонин сүргээс гаралтай эрүүл нялх хурганы төмсөг эсхүл бөөрнөөс гаргаж авна. Ургуулах явцад эсэд эмгэгшил үүссэн эсэх, хэвийн хэлбэртэй (ихэвчлэн фибробласт) байгаа эсэхийг шалгана. Эдгээр эсийг ихэвчлэн арав хүртэл удаа зорчуулж болно. Эсийг вакцин үйлдвэрлэхэд ашиглах үед хяналтын халдвар хийгээгүй эсийн өсгөврийг зэрэгцүүлэн ургуулж, цаашдын ажиглалтад зориулж дараагийн наад зах нь гурван удаагийн зорчуулалтыг шалгахад ашиглана. Иммунофлюоресценц эсхүл иммунопероксидазагийн аргыг ашиглан үхрийн вируст диарей эсхүл хилийн өвчний вирусийн эс үл эмгэгшүүлэгч омог байгаа эсэхийг шалгана. Боломжтой бол вакцин үйлдвэрлэхийн өмнө эсийг бэлтгэж, шалгах ба 10%-ийн DMSO (диметил сульфоксид), 90%-ийн ҮХИ (үхрийн хээлийн ийлдэс)-ийн ариун уусмалд 2×10^7 эс/мл агуулсан байхаар 1-2 мл-ээр хуваан савлаж шингэн азотод хадгалж нөөцөлнө.

ii) Ийлдэс

Өсгөвөрлөх болон хадгалах тэжээлт орчинд хэрэглэх үхрийн ийлдэс нь тархи сархиатах өвчний үүсгэгч бодис болон каприпоксвирусийн эсрэгбие агуулаагүй бөгөөд пестивирус болон бусад вирус, гаднын бактери, микоплазм, мөөгөнцрийн бохирдолгүй болохыг шалгасан байна.

iii) Тэжээлт орчин

Тэжээлт орчин нь пестивирус болон бусад вирус, гадны нбактери, микоплазм, мөөгөнцрийн бохирдолгүй болохыг шалгасан байна.

iv) Вирус

Эх вирус болон эцсийн вакциныг эдийн өсгөврийн цодон эсхүл бичил таньцын хавтанд таньцлана. Вакцины дээжид хөндлөнгийн вирус, түүний дотор пестивирусийн эс эмгэгшүүлдэг эсхүл эмгэгшүүлдэггүй омог байгаа эсэхийг шалгах бөгөөд энэ шинжилгээнд вакцины вирусийн өөрийн үзүүлж болох нөлөөг арилгах үүднээс дээжийг пестивирусийн эсрэгбие илрүүлэх шинжилгээгээр сөрөг дүн үзүүлсэн, каприповурисийн эсрэг өндөр таньц бүхий

дархлааны ийлдэстэй хольж бэлтгэнэ. Вакциныг ариун чанарын шалгалт, таньцлалтыг хийж дуустал –20°C ба түүнээс нам температурт байлгаж болох бөгөөд үүний дараа 100 тунд хүрэлцэх хэмжээгээр тооцож нэг цодонд 1 мл-ээр хувааж хийгээд хөлдөөн хатаана. Лактальбумины задраг, сахарозоор шингэлж авсан вакцины өсгөврийг хөлдөөж хатаасны дараа хамгийн бага таньц нь log_{10} 4.5 $TCID_{50}$ байх ба энэ нь log_{10} 2.5 $TCID_{50}$ хээрийн тунтай тэнцэнэ. Таньцыг баталгаажуулахын тулд хөлдөөж хатаасан бэлдмэлээс санамсаргүй байдлаар сонгосон таван цодонд дахин таньцлана.

2.2.4. Эцсийн бүтээгдэхүүний цуврал шалгах

i) Ариун чанар/цэвэршилт

Шалгах арга зүйг 1.1.9. *Мал эмнэлгийн зориулалтаар хэрэглэх биологийн материалын ариун чанар, бохирдолгүй болохыг шалгах* бүлэгт заасан.

ii) Аюулгүй чанар

Аюулгүй чанарыг судлахдаа каприпоксвируст мэдрэмтгий болох нь тогтоогдсон, ийлдсийн шинжилгээгээр сөрөг урвалтай өсвөр хонь, ямаанд статистикийн хувьд хүчинтэй вакцинжуулалтын судалгааг явуулна. Энд тодорхойлсон аргачлал нь хонь, ямаанд дархлаа төрүүлэх чанараараа адилхан 0240 гэх мэт вакцины омогт тохирно. Амьтныг омогт тохируулан сонгоно.

iii) Цувралын идэвхийг шалгах

Хэрэв вирусийн омгийн дархлаа тогтоох хамгийн бага тун тодорхойгүй бол идэвхийг заавал шалгана. Энэ шалгалтыг ихэвчлэн вакцин тарьсан болон хяналтын амьтны цавины урд хэвлийн тууш булчинд хоруу чанартай вирусийн таньцыг харьцуулах замаар хийнэ. Вакцин тарьсны дараа наад зах нь гурван амьтныг хяналтын гурван амьтны хамт сонгож цавины урд хэвлийн тууш булчингийн үсийг хусна. Халдвар хийх вирусийг ариун ФБУ-д 10-тын зэрэг (Log10)-ээр 6 цэгээр шингэлэн бэлтгэж, шингэлэлт тус бүрийг 0.1 мл-ээр цавины урд хэвлийн тууш булчингийн дагуу арьсан дор тарина; шингэлэлт тус бүрээс дөрвөн хэсэгт доош цувуулан тарина. Хяналтын амьтны тарьсан бараг бүх 24 хэсэгт хавагнаж хавдах боловч хамгийн бага шингэлэлтээр тарьсан дөрвөн хэсэгт хариу урвал бага эсхүл огт илрэхгүй. Вакцин тарьсан амьтанд 24 цагийн дотор халдвар хийсэн хэсэгт эхний хэт мэдрэгжилтийн урвал илэрч болох ч удалгүй намжина. Хамгийн их төвшрүүлэгтэйгээр халдвар хийсэн хэсэгт үхэжсэн жижиг хэсгүүд үүсэж болно. Үүссэн толбо/гүвдрүүг халдвар хийснээс хойш 8-10 хоногт хэмжинэ. Вакцин тарьсан болон хяналтын амьтанд халдварын вирусийн таньцыг тооцохдоо: таньцын зөрүү нь >log10 2.5 байвал хамгаалж байгаагийн нотолгоо гэж үзнэ.

2.3. Зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага

2.3.1. Аюулгүй чанарт тавих шаардлага

i) Вакцин хэрэглэх зааллтай болон үл хэрэглэх амьтанд аюулгүй байх чанар

Вакцин нь түүнийг хэрэглэхээр заасан бүх үүлдрийн хонь, ямаа, тэр дундаа өсвөр, хээлтэй малд аюулгүй байна. Түүнчлэн вакцинаас халдвар дамжихгүй, эсийн өсгөвөрт цааш зорчуулахад омог сулруулсан хэвээрээ байх ёстой.

Аюулгүй чанарын шалгалтыг эцсийн бүтээгдэхүүний цуврал бүрд B.2.2.4 дүгээр бүлэгт заасны дагуу хийнэ.

Вакцин нь түүнийг хэрэглэх заалтгүй амьтанд аюулгүй болохыг тогтоох шалгалтыг хулгана, усан гахайд B.2.2.4 дүгээр хэсэгт заасны дагуу хийнэ. Вакцинаас шалтгаалан ямар нэг эмгэг үүсэх ёсгүй.

ii) Сулруулсан/амьд вакцины хоруу чанар сэргэх

Хэрэглэхээр сонгосон вакцин нь түүнийг хэрэглэсэн амьтнаар цааш дамжих явцад эргэж хоруу чанартай болохгүй байх ёстой.

iii) Хүрээлэн буй орчинд нөлөөлөх байдал

Сулруулсан вакцин үхэр, хонь, ямааны популяцид байнга хадгалагдахгүй байх ёстой. 0240 омгийг ашигласан вакциныг *Bos taurus* үүлдэрт хэрэглэж болохгүй. Каприпоксвирусийн омгууд хүний эрүүл мэндэд аюулгүй. Ариун, гаднын бохирдуулагч бичил биетэн агуулаагүй байх зэрэг дээр дурдсан зүйлээс өөр сэрэмжлүүлэх зүйл байхгүй.

2.3.2. Үр нөлөөнд тавих шаардлага

i) МАА-н үйлдвэрлэлд

Вакцины үр нөлөөг С.2.2.4 дүгээр бүлэгт заасны дагуу лабораторийн нөхцөлд вакциндсан малд халдвар хийх туршилтаар харуулна. Вакцин үйлдвэрлэхэд ашиглаж байгаа тухайн омгийн үр нөлөөг дархлаа тогтооход шаардагдах хамгийн бага тунгаар тодорхойлж, одоогийн вирусийн таньцыг тогтоосон тохиолдолд эцсийн бүтээгдэхүүний цуврал бүрийн үр нөлөөг шалгах шаардлагагүй.

ii) Тэмцэх, устгах арга хэмжээнд

Энэ өвчин эндемик дэгдэлттэй улс оронд хонь, ямааны цэцэг өвчинтэй тэмцэх үр дүнтэй ганц арга нь вакцинжуулалт юм. Харамсалтай нь халдвар авсан, вакцин тарьсан малыг ялгаварлах маркер бүхий вакцин хараахан гараагүй байна.

Хонь эсхүл ямааг 0240 омгоор вакцинжуулсны дараа хоруу чанартай хээрийн вирусийн эсрэг дархлаа нэг жил гаруй хадгалагдах ба арьсанд зориуд халдвар хийхэд тархмал халдвар үүсэхээс гурваас доошгүй жил хамгаалах ба амьдралынх нь турш үр дүнтэй байна.

Бусад вакцины омгийн үүсгэх дархлааны үргэлжлэх хугацааг тодорхой болгох туршилтыг хонь, ямаа хоёуланд нь, тодорхой хяналтын дор, түүний үр дүнд каприпоксвирусийн хээрийн омог нөлөөлөх боломжгүй орчин нөхцөлд нь хийнэ. Идэвхгүйжүүлсэн вакцин нэг жил хүрэхгүй хугацаанд дархлаа тогтоодог бөгөөд энэ хэсгийн эхэнд дурдсан шалтгааны улмаас ихэвчлэн байгалийн замаар дамжин халдварласан каприпоксвирусийн эсрэг дархлаа сайн үүсгэхгүй байж болно.

2.3.3. Тогтвортой чанар

Бүх вакцины хүчинтэй хугацааг эхлээд 24 сарын хугацаатай тогтоодог. Вакцин тогтвортой эсэхийг бодит хугацаагаар шалгаж хүчинтэй хугацааны тохирцыг баталгаажуулна. Олон цуврал вакциныг хүчинтэй хугацаанд нь таньцлах замаар тогтмол шалгаж вакцины тогтвортой чанарыг тодорхойлно.

Зохих ёсоор зөв хөлдөөн хатаасан каприпокс вакцин, ялангуяа сахароз, лактоальбуман зэрэг бодисоор хамгаалсан вакциныг –20°С-д хадгалахад 25 жилээс дээш, 4°С-д хадгалахад 2-4 жил тогтвортой байдаг. Дээрхээс өндөр температурт хадгалахад тогтвортой байсан нотолгоо байдаг ч түүнийг урт хугацаанд шалгаж туршсан мэдээ байхгүй. Идэвхгүйжүүлсэн вакциныг 4°С-д хадгалах бөгөөд хадгалах хугацааг голдуу нэг жилээр тогтоодог.

Хөлдөөн хатаах бэлдмэлд сахароз, лактоальбумин зэрэг хамгаалагч бодисоос бусад хадгалааслагч шаардлагагүй.

3. Биотехнологид суурилсан вакцин

3.1. Худалдаанд гарсан вакцинууд, тэдгээрийн давуу тал

Одоогийн байдлаар каприпоксвирусийн эсрэг рекомбинант вакцин худалдаанд гараагүй байна. Гэвч бог малын мялзан өвчний вирус зэрэг хивэгч малын бусад эмгэг төрүүлэгчийн генд каприпоксвирусийн геномыг вектор болгон ашиглаж шинэ үеийн каприпоксын вакциныг хөгжүүлж байна (Berhe нар, 2003; Tuppurainen нар, 2014).

3.2. Биотехнологийн вакцинд тавигдах тусгай шаардлага

Хамаарахгүй.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

BALINSKY C.A, DELHON G, SMOLIGA G, PRARAT M, FRENCH R.A, GEARY S.J, ROCK D.L & RODRIGUEZ L.L. (2008). Rapid preclinical detection of sheep pox virus by a real-time PCR assay. *J. Clin. Microbiol.,* **46**, 438–442.

BERHE G., MINET C., LE GOFF C., BARRETT T., NGANGNOU A., GRILLET C., LIBEAU G., FLEMING M., BLACK D.N. & DIALLO A. **(2003).** Development of a dual recombinant vaccine to protect small ruminants against peste-des-petits-ruminants virus and capripoxvirus infections. *J. Virol*., **77**, 1571–1577.

BOWDEN T.R, BABIUK S.L, PARKYN G.R., COPPS J.S. & BOYLE D.B. (2008). Capripox virus tissue tropism and shedding: A quantitative study in experimentally infected sheep and goats. *Virology*, **371**, 380–393.

CAPSTICK P.B. (1961). Annual Report. Kenya Veterinary Department, Kenya, 45–47.

CHAND P., KITCHING R.P. & BLACK D.N. (1994). Western blot analysis of virus-specific antibody responses to capripoxvirus and contagious pustular dermatitis infections in sheep. *Epidemiol. Infect*., **113**, 377–385.

DAS A., BABIUK S. & MCINTOSH M.T. (2012). Development of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of capripoxviruses. *J. Clin. Microbiol*., **50**, 1613–1620.

DAVIES F.G. & MBUGWA G. (1985). The alterations in pathogenicity and immunogenicity of a Kenya sheep and goat pox virus on serial passage in bovine foetal muscle cell cultures. *J. Comp. Pathol*., **95**, 565–576.

DAVIES F.G. & OTEMA C. (1978). The antibody response in sheep infected with a Kenyan sheep and goat pox virus. *J. Comp. Pathol*., **88**, 205–210.

Fay P.C., Cook C.G., Wijesiriwardana N., Tore G., Comtet L., Carpentier A., Shih B., Freimanis G., Haga I.R. & Beard P.M. (2020). Madin–Darby bovine kidney (MDBK) cells are a suitable cell line for the propagation and study of the bovine poxvirus lumpy skin disease virus. J. Virol. Methods, **285**, 113943. doi: 10.1016/j.jviromet.2020.113943.

GELAYE E., LAMIEN C.E., SILBER R., TUPPURAINEN E.S., GRABHERR R. & DIALLO A.(2013). Development of a cost-effective method for capripoxvirus genotyping using snapback primer and dsDNA intercalating dye. *PLoS One*, **8** (10): e75971.

HAEGEMAN A., ZRO K., VANDENBUSSCHE F., DEMEESTERE L., VAN CAMPE W., ENNAJI M.M. & DE CLERCQ K. (2013). Development and validation of three Capripoxvirus real-time PCRs for parallel testing. *J. Virol.Methods*, **193**, 446– 451. doi: 10.1016/j.jviromet.2013.07.010. Epub 2013 Jul 11.

HEINE H.G., STEVENS M.P., FOORD A.J. & BOYLE D.B. (1999). A capripoxvirus detection PCR and antibody ELISA based on the major antigen P32, the homolog of the vaccinia virus H3L gene. *J. Immunol. Methods*, **227**, 187–196.

IRELAND D.C. & BINEPAL Y.S. (1998). Improved detection of capripoxvirus in biopsy samples by PCR. *J. Virol*. *Methods*, **74**, 1–7.

KITCHING R.P., HAMMOND J.M. & TAYLOR W.P. (1986). A single vaccine for the control of capripox infection in sheep and goats. *Res. Vet. Sci.,* **42**, 53–60.

KITCHING R.P. & SMALE C. (1986). Comparison of the external dimensions of capripoxvirus isolates. *Res. Vet. Sci*., **41**, 425–427.

KITCHING R.P. & TAYLOR W.P. (1985). Clinical and antigenic relationship between isolates of sheep and goat pox viruses. *Trop. Anim. Health Prod*., **17**, 64–74.

LAMIEN C.E., GOFF C.L., SILBER R., WALLACE D.B., GULYAZ V., TUPPURAINEN E., MADANI H., CAUFOUR P., ADAM T., EL HARRAK M., LUCKINS A.G., ALBINA E. & DIALLO A. (2011a). Use of the Capripoxvirus homologue of Vaccinia virus 30kDa RNA polymerase subunit (RPO30) gene as a novel diagnostic and genotyping target: development of a classical PCR method to differentiate Goat poxvirus from Sheep poxvirus. *Vet. Microbiol*., **149**, 30–39. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.09.038.

LAMIEN C.E., LELENTA M., GOGER W., SILBER R., TUPPURAINEN E., MATIJEVIC M., LUCKINS A.G. & DIALLO A. (2011b). Real time PCR method for simultaneous detection, quantitation and differentiation of capripoxviruses. *J. Virol. Methods*, **171**, 134–140.

LE GOFF C., LAMIEN C.E., FAKHFAFH E., CHADEYRAS A., ABU-ADULUGBAD E., LIBEAU G., TUPPURAINEN E., WALLACE D., ADAM T., SILBER R., GULYAZ V., MADANI H., CAUFOUR P., HAMAMMI S., DIALLO A. & ALBINA E. (2009). Capripoxvirus G-protein-coupled chemokine receptor, a host-range gene suitable for virus-animal origin discrimination. *J. Gen. Virol.*, **90**, 67–77.

MURRAY L., EDWARDS L., TUPPURAINEN E.S., BACHANEK-BANKOWSKA K., OURA C.A., MIOULET V. & KING D.P. (2013). Detection of capripoxvirus DNA using a novel loop-mediated isothermal amplification assay. *BMC Vet. Res*., **9**, 90.

OMOGA D.C.A., MACHARIA M., MAGIRI E., KINYUA J., KASIITI J. & HOLTON T. (2016) Molecular based detection, validation of a LAMP assay and phylogenetic analysis of capripoxvirus in Kenya. *J. Adv. Biol. Biotech.,* **7**, 1–12.

PARVIN R., CHOWDHURY E.H., ISLAM M.T., BEGUM J.A., NOORUZZAMAN M., GLOBIG A., DIETZE K., HOFFMANN B. & TUPPURAINEN E. (2022). Clinical Epidemiology, Pathology, and Molecular Investigation of Lumpy Skin Disease Outbreaks in Bangladesh during 2020–2021 Indicate the Re-Emergence of an Old African Strain. *Viruses*, **14**, 2529. doi: 10.3390/v14112529. PMID: 36423138; PMCID: PMC9698944.

STUBBS S., OURA C.A., HENSTOCK M., BOWDEN T.R., KING D.P. & TUPPURAINEN E.S. (2012). Validation of a high-throughput real-time polymerase chain reaction assay for the detection of capripoxviral DNA. *J. Virol. Methods*, **179**, 419–422.

TUPPURAINEN E.S.M., PEARSON C.R., BACHANEK-BANKOWSKA K., KNOWLES N.J., AMAREEN S., FROST L., HENSTOCK M.R., LAMIEN C.E., DIALLO A. & MERTENS P.P.C. (2014). Characterization of sheep pox virus vaccine for cattle against lumpy skin disease virus. *Antiviral Res*., **109**, 1–6.

TUPPURAINEN E.S.M., VENTER E.H. & COETZER J.A.W. (2005). The detection of lumpy skin disease virus in samples of experimentally infected cattle using different diagnostic techniques. *Onderstepoort J. Vet. Res.,* **72**, 153–164.

WOLFF J. & BEER M. & Hoffmann B. (2021). Probe-Based Real-Time qPCR Assays for a Reliable Differentiation of Capripox Virus Species. *Microorganisms*, **9**, 765. https://doi.org/10.3390/microorganisms9040765

ZHAO Z., FAN B., WU G., YAN X., LI Y., ZHOU X., YUE H., DAI X., ZHU H., TIAN B., LI J. & ZHANG Q. (2014) Development of loop-mediated isothermal amplification assay for specific and rapid detection of differential goat Pox virus and Sheep Pox virus. *BMC Microbiol.,* **14**, 1–10.

ZRO K., AZELMAT S., BENDOURO Y., KUHN J.H., EL FAHIME E. & ENNAJI M.M. (2014a). PCR-based assay to detect sheeppox virus in ocular, nasal, and rectal swabs from infected Moroccan sheep. *J. Virol. Methods*, **204**, 38–43.

ZRO K., ZAKHAM F., MELLOUL M., EL FAHIME E. & MUSTAPHA M. (2014b). A sheeppox outbreak in Morocco: isolation and identification of virus responsible for the new clinical form of disease. *BMC Vet Res*., **10**, 31.

*
* *

ЖИЧ: Хонины цэцэг ба ямааны цэцэг өвчнийг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори бий (Дэлгэрэнгүй мэдээллийг ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас авна уу: https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

Хонины цэцэг ба ямааны цэцэг өвчнийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудтай холбогдож авна уу.

ЖИЧ: 1989 ОНД АНХ, 2024 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

БҮЛЭГ 46 (3.9.1)

ГАХАЙН АФРИК МЯЛЗАН (ГАХАЙН АФРИК ХАЛУУРЛЫН ВИРУСИЙН ХАЛДВАР)

А. УДИРТГАЛ

Гахайн Африк мялзан (ГАМ) одоогоор гурва тив дамжин (Африк, Ази, Европ) 50 гаруй улсад тархжээ. 1960-1970 оны хооронд ГАМ Африк тивээс гадагш хэд хэдэн удаа дэгдсэн нь бүртгэгдсэн байна. ГАМ 2007 онд Гүрж улсад нэвтэрч тэндээс Оросын Холбооны улс зэрэг хөрш улсуудад тархаж улмаар уг зүүн Европын улсуудыг хамран баруун тийш тэлсээр 2014 гэхэд Европын холбооны улсуудад хүрсэн байна. Энэ үеэс хойш Европын баруун болон өмнөд хэсэгт тархжээ. Эдгээр бүх улсад уг өвчний эзэн амьтад болох тэжээвэр болон зэрлэг гахай аль аль нь өртжээ. 2018 оны 8 дугаар сард ГАМ БНХАУ-д анх бүртгэгдэж улмаар Ази тивд тархсан байна.

ГАМ өвчний вирус (ГАМӨВ) дугтуйтай, том хэмжээний ДНХ агуулсан, икосаэдрон (хорин талт) хэлбэртэй нарийн нийлмэл вирус юм. ГАМӨВ одоогоор *Asfaviridae* овгийн, *Asfivirus* (Dixon нар, 2005) төрлийн цорын ганц гишүүнд тооцогдож байна. Эсийн доторх вирусийн биетүүдээс 60 гаруй бүтцийн уургийг ялган тогтоосон байна. Халдвар авсан гахайн макрофагад халдвартай холбоотой нэг зуу гаруй уураг тодорхойлогдсоноос наад зах нь 50 нь халдвар авсан эсхүл халдвар аваад эдгэрсэн гахайн ийлдэстэй урвалд орж байсан байна (Sánchez-Vizcanno & Arias, 2012). ГАМӨВ-ийн геном нь давхар утаслаг, шугаман бүтэцтэй ДНХ бөгөөд 170.000-аас 193.000 хос суурьтай, 150-иас 167-ийн хооронд, 125.000 орчим хос суурь бүхий тогтвортой төвийн муж болон хувьсамхай төгсгөл бүхий нээлттэй уншигдах хүрээ агуулна. Эдгээр хувьсамтгай муж нь вирусийн геномын хувьсамтгай байдлыг нөхцөлдүүлдэг таван багц генийг кодолно. ГАМӨВ-ийн хэд хэдэн омгийн геномын нуклеотидийн бүрэн дараалыг тогтоогоод байна (Bishop нар, 2015; Chapman нар, 2011; De Villiers нар, 2010; Portugal нар, 2015). ГАМӨВ-ийн янз бүрийн омог өвчин үүсгэх чадавхаараа адилгүй бөгөөд эсрэгбие илрүүлэх шинжилгээгээр илэрдэг гэж одоогоор үзэж байгаа вирусийн цорын ганц ийлдсэн хэвшил байна.

Уг өвчин үүсгэгчийн 24 хүртэлх генийн хэвшлийг ялгаж өгдөг капсидийн үндсэн уураг болох p72 уургийг кодлогч, B646L нээлттэй уншигдах хүрээний 3’ төгсгөлийн нуклеотидийн дарааллыг тогтоох замаар энэхүү өвчнийг молекул эпидемиологийн түвшинд судалж байна (Achenbach нар, 2017; Bo- shoff нар, 2007; Quembo нар, 2018). ГАМ өвчний ойр хамааралтай вирусийн доторх дэд бүлгийг ялгаварлахын тулд B602L генийн доторх төв хэсгийн хувьсамхай мужид (CVR) орших нуклеотидийн богино давтагдах дараалалд (TRS) дүн шинжилгээ хийх (Gallardo нар, 2009; Lubisi нар, 2005; Nix нар, 2006) болон геномын баруун буюу 3 төгсгөлд орших (Gallardo нар, 2014) I73R ба I329L генийн хоорондох мужийн дараалалд дүн шинжилгээ хийнэ. Вирусийн p54 уургийг кодлогч E183L ген, p30 уургийг кодлогч CP204L ген, (CD2v) уураг кодолдог EP402R ген зэрэг бусад хэд хэдэн ген нь өвчин үүсгэгчийн тархалтыг мөшгөн тогтоох зорилгоор өөр өөр нутаг орноос цуглуулсан ГАМӨВ-ийг шинжлэхэд маш ач холбогдолтой арга хэрэгсэл болох нь батлагдаад байна.

ГАМ өвчний вирус нь цочмогдуу, цочмог, архаг явцтай өвчин, эмнэл зүйн шинж тэмдэггүй халдвар үүсгэх зэрэг янз бүрийн хам шинжээр илэрнэ. Гэрийн тэжээвэр амьтдаас зөвхөн тэжээвэр гахай л ГАМ өвчний вирусийн байгалийн халдвар авна. Европ зэрлэг гахай, зэрлэгшсэн гахай, энэ өвчинд мэдрэмтгий бөгөөд гэрийн тэжээвэр гахайтай адилхан эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлэн өвчлөх ба хорогдлооroo ч адилхан байдаг. Африкийн вартхог (*Phacochoerus aethiopicus*), Африкийн улаан голын гахай *(Potamochoerus porcus)*, ойн том гахай (*Hylochoerus meinertzhageni*) зэрэг Африкийн зэрлэг гахай энэ өвчинд тэсвэртэй ба уг халдварт эмнэл зүйн цөөвтөр шинж үзүүлэх эсхүл огт үзүүлэхгүй өнгөрнө. Эдгээр зүйлийн зэрлэг гахай Африкт ГАМ өвчний вирусийн жинхэнэ эзэн эх үүсвэр нь болно (Costard нар, 2013; Sánchez-Vizcaíno нар, 2015)

Өвчний нууц үе ихэвчлэн 4-19 хоног байна. Хоруу чанар өндөр омгоор халдварлахад өндөр халуурах, тэжээлээ идэхгүй болох, арьс, дотор эрхтэнд цус харвах, 4-10 хоногт үхэх, зарим тохиолдолд эмнэл зүйн шинж тэмдэг илрэхээс өмнө үхлээр төгсдөг цочмогдуу болон цочмог цусархаг өвчин үүсгэх бөгөөд үхлийн түвшин өндөр буюу 100%-д хүрэх тохиолдол ч гарна. Хоруу чанар багатай омгоор халдварласан үед гахай бага зэрэг халуурах, тэжээлийн дуршил буурах, номойрох зэрэг эмнэл зүйн хөнгөн шинж тэмдэг үзүүлдэг нь гахайн бие махбодод гарч болох олон янзын өөрчлөлттэй андуурагдаж ГАМ өвчинд үл сэжиглэхэд хүргэж болзошгүй юм. Дунд зэргийн хоруу чанартай омгууд

цочмогоос цочмогдуу янз бүрийн хэлбэрээр өвчлүүлдэг нь тодорхой болжээ. Хоруу чанар бага, цус шингээх чанаргүй омгууд ийлдсийн эерэг урвал бүхий цусархаг бус, ажиглагдах шинж тэмдэггүй халдвар үүсгэдэг авч зарим амьтны уушги эсхүл яс товойх хэсгийн болон бэртэлтэй бусад хэсгийн арьсанд илэрхий гэмтэл үүсдэг байна. Цочмог, цочмогдуу, архаг аль ч хэлбэрээр өвчилж эдгэрсэн амьтанд халдвар орогносоор байх боломжтой тул вирус тээгч болж үлдэнэ. ГАМӨВ-ийн орогнолын биологийн үндсийг болон тийнхүү орогнох нь уг өвчний эпидемиологид ямар үүрэгтэйг өдий хүртэл сайтар тогтоогоогүй байна.

ГАМ өвчнийг гахайн сонгомол мялзан (ГСМ) өвчнөөс эмнэл зүйн шинж тэмдэг, бие бүтцийн эмгэг хувирлын алинаар нь ч ялгаварлах боломжгүй ба харин гахайн цочмог явцтай, цусархаг, халууралт бүхий аливаа өвчний хам шинжээс энэ хоёр мялзан өвчнийг ялгаварлан оношилж байх хэрэгтэй. Энэ хоёр өвчнийг ялгаварлан оношлоход лабораторийн шинжилгээ чухал ач холбогдолтой.

ГАМ өвчнөөр тайван гэх боловч тайван бус хэмээгдэн сэжиглэгдэж байгаа улс оронд гахайн цагаан эс эсхүл хөндийт ясны чөмгийн өсгөвөрт халдвар хийж вирус ялган авах, ПГУ-аар геномын ДНХ ялган авах эсхүл флюоресцент эсрэгбиеийн шууд урвалаар эдийн түрхэц эсхүл эдийн хөлдөөсөн зүсмэгт эсрэгтөрөгч илрүүлэхэд чиглэсэн лабораторийн шинжилгээ хийнэ. Эдүгээ ПГУ нь эд, этилен-диамин тетра цууны хүчил (ЭДТА) бүхий цус, ийлдэсний сорьцод ГАМӨВ-ийн ДНХ-г халдварын эхний үе шатад илрүүлж чадах хамгийн мэдрэмтгий арга болоод байна. ПГУ ялангуяа лабораторид ирүүлсэн сорьц вирус ялган авах, эсрэгтөрөгч илрүүлэх шаардлага хангахааргүй болтлоо ялзарч муудсан тохиолдолд илүү ач холбогдолтой. Энэ өвчний цочмог, цочмогдуу, архаг хэлбэрээр өвчилж өнгөрсөн гахайд ихэвчлэн хэдэн долоо хоногийн туршид вирус үржсээр байх тул энэ өвчний бага эсхүл дунд зэргийн хоруу чанартай вирусээр халдварласан гахайд ГАМ өвчний вирусийн ДНХ-г илрүүлэхэд ПГУ маш чухал арга хэрэгсэл болно. Вирусийг гахайн цагаан эс эсхүл хөндийт ясны чөмгийн эсийн өсгөвөрт халдвар хийж ялгаж авна.

Ямар ч вакцин хэрэглээнд гараагүй байгаа учир хэрэв ГАМӨВ-ийн эсрэгбие илэрвэл халдвар нэгэнт авсныг илтгэх ба энэхүү эсрэгбие нь халдварын эхний долоо хоногоос эхлэн үүсэж удаан орогносоор байх тул энэ нь өвчнийг ялангуяа цочмогдуу, архаг явцтай байх үед найдвартай оношлох маркер болж өгнө.

Африк, Европт тохиолддог халдварын эпидемиологийн хэв маяг өөр өөр байдаг тул ГАМ өвчний эпидемиологи нарийн төвөгтэй байдаг. ГАМ өвчин дамжин тархах мөчлөгт тэжээвэр гахай, зэрлэг гахай, Африкт орших гахайн овгийн зэрлэг зүйл, зөөлөн биет хачиг зэрэг оролцоно (Sánchez-Vizcan- no нар, 2015). Халдварын эх уурхай болж байдаг *Ornithodoros* төрлийн зөөлөн биетэй хачиг тархсан бүс нутагт ГАМӨВ-ийг илрүүлэх нь өвчний эпидемиологийн талаар илүү сайн ойлголттой болоход хувь нэмэр болохоос гадна өвчинтэй тэмцэх, устгах үр дүнтэй хөтөлбөрийг хэрэгжүүлэхэд чухал ач холбогдолтой юм (Costard нар, 2013).

ГАМ хүнд халдварлахгүй ба нийтийн эрүүл мэндэд халгүй (Sánchez-Vizcanno нар, 2009). ГАМӨ-ий вирустэй 1.1.4 *Биоаюулгүй ажиллагаа ба биохамгаалал: Мал эмнэлгийн лаборатори, туршилтын амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандарт* бүлгийн дагуу биологийн эрсдэлийн дүн шинжилгээнд тулгуурлан тогтоосон тусгаарлалтын зохих түвшинд харьцаж ажиллана).

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. ГАМ өвчнийг оношлох шинжилгээний арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	**Зорилго**					
	Популяци халдваргүйг тогтоох	Бодгалийг шилжилт хөдөлгөөнд оруулахаас өмнө халдваргүйг тогтоох	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах	Халдварын тархалт тогтоох - тандалт	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгч илрүүлэх						
Вирус ялгах / HAD test [(a)]	–	–	++	+++	++	–
ФЭБУ	–	–	++	++	+	–
Эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА	+	++	+	+	+	–

Энгийн ПГУ	++	++	++	++	++	–
Бодит цагийн ПГУ	+++	+++	+++	+++	+++	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ЕЛИЗА	+++	+++	+++	+	+++	–
ИПШБУ [б]	+++	+++	+++	+	+++	–
ФЭБШБУ[б]	+++	+++	+++	+	+++	–
Иммуноблотын урвал[б]	++	++	+++	+	++	–

Түлхүүр үг:
+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
++ = энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй;
HAD = haemadsorption; Цус шингээх сорил
ФЭБУ = флюоресцент эсрэгбиеийн урвал;
ПГУ = полимеразагийн гинжин урвал;
ЕЛИЗА = энзим холбоост дархлааны урвал;
ИПШБУ = иммунпероксидазагийн шууд бус урвал
ФЭБШБУ = флюоресцент эсрэгбиеийн шууд бус урвал
[а] Өнөөг хүртэл ялган аваад байгаа ГАМӨВ-ийн зарим өсгөвөр цус шингээх чанаргүй тул цус шингээх сорилын эерэг дүнг ПГУ зэрэг бусад шинжилгээгээр баталгаажуулна.
[б] Ийлдэс судлалын баталгаажуулах шинжилгээ болгон зөвлөсөн арга.

1. Үүсгэгчийг илрүүлэх

ГАМ өвчний сэжиг илэрсэн тохиолдолд дараах сорьц авч лабораторид илгээнэ. Үүнд үл бүлэгнүүлэгчтэй цус (ПГУ-ын шинжилгээнд ЭДТА-тай, вирус ялгахад гепарин эсхүл ЭДТА-ай), ийлдэс, эд, гол төлөв дэлүү, тунгалгийн зангилаа, ясны чөмөг, уушги, гүйлсэн булчирхай, бөөрний сорьц орно. Эдгээр сорьцыг хөлдөөхгүйгээр аль болохоор хүйтэн нөхцөлд хүргэж өгнө. Сорьцыг лабораторид хүлээж аваад боловсруулалгүй удахаар бол –70°C-д хадгална. Сорьцыг үргэлж хүйтэн хэлхээ бүрдүүлэн хүргэх боломжгүй тул түүнийг глицеринтэй физиологийн уусмалд хийж илгээвэл хэдийгээр сорьцоос вирус ялгах магадлал бага зэрэг буурах болов ч сорьцыг лабораторид амжиж хүргэснээр өвчний дэгдэлттэй тэмцэх ажилд тус болно.

1.1. Вирус ялган авах

1.1.1. Сорьц бэлтгэх

i) Ариутгасан элс бүхий уур нухуурт 0.5–1.0 г эдийн дээж хийж нухан эдийн цийдмэг бэлтгээд 5-10 мл буфержүүлсэн давсны уусмал эсхүл антибиотиктой эдийн тэжээлт орчин нэмнэ. Өөр нэг хувилбар: эдийн дээжийг цодон саванд буфер эсхүл тэжээлт орчин, ариутгасан, зориулалтын үрэл эсхүл хэлтэрхийтэй хамт хийж гомогенизатороор нэгэн жигдийн цийдмэг болгоно.

ii) Цийдмэгийг 1000 *g-ээр* 5 минут хурилдуурдаж тунгалагшуулаад дээд хэсгийг вирус ялган авахад ашиглана.

1.1.2. Цус шингээх урвал

Цус шингээх (HAD) урвал нь (de León нар, 2013) гахайн цусны улаан эс ГАМ өвчний вирусээр халдварласан гахайн моноцит, макрофагийн гадаргууд наалддаг онцлог дээр үндэслэгдсэн ба ялган аваад байгаа ихэнх өсгөвөр удам зүйн хувьд цус шингээх чанартай байдаг. Цус шингээх урвалаар эерэг дүн үзүүлбэл ГАМ өвчний оношилгоо баталгаажна. Цус шингээх чанаргүй цөөн тооны вирусийг ялган авсны ихэнх нь суларсан эсхүл хоруу чанаргүй байх боловч тэдгээрийн зарим нь гахайн Африкийн хэв шинжит, цочмог хэлбэрийн мялзан үүсгэнэ. Өвчний сэжигтэй гахайнаас бэлтгэсэн цус эсхүл эдийн цийдмэгийг өмнө нь өвчлөөгүй цоо эрүүл гахайн цуснаас бэлтгэсэн цагаан эсийн анхдагч өсгөвөр эсхүл уушгины цулцангийн макрофагийн эсийн өсгөвөрт тарьж уг урвалыг явуулна. Урвал явуулах хугацаанд өсгөврийг бохирдуулахгүй байх арга хэмжээ авна.

1.1.2.1. Цагаан эсийн анхдагч өсгөвөрт сорил тавих арга зүй

i) Гахайнаас фибрингүйжүүлсэн шинэхэн цус шаардагдах хэмжээгээр авна.

ii) 700 *g*-д 30 минут хурилдуурдаж цагаан эсийн хөвмөлийг хурааж авна. Цагаан эс дээр түүнээс гурав дахин их аммонийн хлоридийн 0.83%-ийн уусмал нэмнэ. Холиод тасалгааны хэмд 15 минут байлгана. 650 *g*-д 15 минут хурилдуурдаж дээд шингэн хэсгийг болгоомжтой хурааж авна. Тунашийг тэжээлт орчинд эсхүл фосфатын буфержүүлсэн давсны уусмал (ФБУ)-д угаана.

iii) Гахайн ийлдэс 10–30%, антибиотик агуулсан эдийн өсгөврийн тэжээлт орчинд эсийг 106–107 эс/мл төвшрүүлэгтэй байхаар тооцож уусган сэргээнэ. Өвөрмөц бус цус шингээлт үүсгэхгүйн тулд тэжээлт орчинд цагаан эс авч бэлтгэсэн тэр гахайнаас авсан ийлдэс эсхүл сийвэн байх ёстой. Хэрэв шинжлэх ийлдэс их олон бол эсийн өвөрмөц бус наалдалт үүсэхээс хамгаалах чанартай болохыг нь урьдчилан тогтоосон ийлдсээр гомолог ийлдсийг орлуулж болно.

iv) Эсийн цийдмэгийг 96 үүртэй бичил хавтанд үүр бүрд 200 мкл (300,000 эс/үүр) хуваарилан хийгээд 5%CO_2 бүхий чийгшүүлэгчтэй дулаан тогтоогуурт 37°C-д өсгөвөрлөнө. Үүний оронд цийдмэгийг 160 ×16 мм хэмжээний цодонд 1.5 мл-ээр хуваж хийгээд налуу байрлалд (босоо байрлалаас 5–10°налуу) 37°C-д тавьж болно.

   Жич: Тогтмолжсон оношилгоонд ердөө 2-4 хоногийн настай эсийн өсгөвөр хангалттай мэдрэмтгий.

v) Бэлтгэсэн дээжээс гурав хоногийн дараа гурван цодонтой эсийн өсгөвөр бүрд 0.2 мл/цодон харин хавтангийн гурван үүр бүрд 0.02 мл (1/10 эцсийн шингэлэлт)/үүр хэмжээгээр тарилт хийнэ. Ялангуяа хээрийн дээжийг муу нөхцөлд ирүүлсэн бол өсгөвөрт арав дахин, зуу дахин шингэлэлтээр халдвар хийх нь тохиромжтой байдаг.

vi) Эерэг хяналтын эсийн өсгөврийг цус шингээх чанартай вирусээр халдварлуулах: халдварлуулаагүй сөрөг хяналтын өсгөвөр нь өвөрмөц бусаар цус шингээх магадлалтай эсэхийг хянаж байх ач холбогдолтой.

vii) Буфержүүлсэн давсны уусмалд 1%-иар шинэхэн бэлтгэсэн гахайн улаан эсийн бэлдмэлээс цодон тус бүрд 0.2 мл нэмнэ. 96 үүртэй хавтанд бол үүр тус бүрд гахайн улаан эсийн 1%-ийн бэлдмэлээс 0.02 мл-ийг нэмнэ.

viii) Эсийн өсгөврийг 7-10 хоног өдөр бүр микроскопоор харж эс эмгэгшүүлэх нөлөө (ЭЭН) болон цус шингээлтийг шалгана.

ix) Үр дүнг унших

   Цус шингээлт нь халдвар авсан эсийн гадаргууд гахайн улаан эс олон тоогоор наалдсанаар илэрнэ. Харин хийсэн халдварын эс хордуулах нөлөө, Ауэскийн өвчний вирус эсхүл эсийн тунадсанд флюоресцент эсрэгбиеийн урвал (ФЭБУ)-оор эсхүл ПГУ-аар (дор үз) илэрдэг гахайн Африкийн мялзангийн цус үл шингээдэг вирусийн нөлөөгөөр цус шингээлт алга болж наалдамхай эсийн тоо цөөрснөөр ЭЭН илэрнэ. Хэрэв ямар нэг өөрчлөлт илрэхгүй, эсхүл иммунфлюоресценц болон ПГУ-аар сөрөг үр дүн гарвал дээрх хурилдуурдалтаар үүссэн дээд талын шингэнээс гурван удаа хүртэл цагаан эсийн шинэхэн өсгөвөрт сэлгэн өсгөвөрлөнө. Бүх өсгөвөрт ПГУ болон нуклеотидийн дараалал тогтоох аргаар баталгаажуулалт хийнэ.

1.1.3. Гахайн ясны чөмгийн эсэд вирус ялган авах

Цус шингээлтийн сорилд шаардагдах гахайн фибрингүйжүүлсэн цусаар найдвартай, байнга хангах боломжгүй нөхцөлд ГАМ өвчний вирус ялган авах өсгөврийн нэг хувилбар болгон ясны чөмгийн анхдагч эсийн өсгөврийг ашиглаж болно. Халдвар авсан эсийг флюоресцент эсрэгбиеийн шууд бус урвал (ФЭБШБУ)-аар илрүүлнэ. Илрүүлэх энэ аргын давуу тал нь түүнд вирусийн цус үл шингээх удмын хэв шинж нөлөөлдөггүйд оршино. Мөн цус шингээлтийг гахайн улаан эс ашиглан ФЭБУ-аар илрүүлэхийн оронд дээр дурдсан арга зүйн дагуу гахайн цагаан эсийн анхдагч өсгөвөр эсхүл уушгины цулцангийн макрофагийн өсгөвөр ашиглаж болно.

1.1.3.1. Ясны чөмгийн эсийн өсгөвөр ашиглан шинжилгээ хийх арга зүй

i) Эсийн өсгөврийн 25 см^2 эзлэхүүнтэй колбод 12.5% үнээний хэлийн ийлдэс (ҮХИ), антибиотик агуулсан тэжээлт орчинд 5 × 10^7 эс/мл-ээр тарьж 37°C-д 3 хоног өсгөвөрлөнө.

ii) Тэжээлт орчныг болгоомжтой авна. Дан үе эс амархан гэмтдэг учраас хэрэв дан үе эс ихээхэн хөндөгдсөн бол тэжээлт орчныг хурилдуурдаж (1000 *g*, 3 минут) гэмтсэн эсийг сэргээнэ. Шинжлэх дээжээс 1 мл-ийг өсгөврийн колбод тарьж 37°C-д 1 цаг өсгөвөрлөнө.

iii) Тарьцыг аваад дан үе эсийг ФБУ-аар аяархан зайлж угаана. Энэ шатад эс их хэмжээгээр хөндийрсөн байвал тарьц болон ФБУ-ыг дахин хурилдуурдана.

iv) Өсгөврийн колбод шинэхэн тэжээлт орчин нэмээд 5% CO_2 бүхий чийгшүүлэгчтэй дулаан тогтоогуурт 37°C хэмд 5-7 хоног өсгөвөрлөнө.

v) Эсийн өсгөврийн дээд шингэнийг хурилдуурын хуруу шилэнд хурааж аваад эсийн үлдэгдлийг хурилдуурдаж авна. Улмаар –70°C-д хөлдөөж хадгалах эсхүл шууд дамжуулан өсгөвөрлөнө.

vi) ГАМӨВ-ийн эсрэгтөрөгчийг гэрэлтдэг эсрэгбиеэр будах үйлдлийг эсийн өсгөврийн колбоос авч микроскопын эерэг цэнэгтэй тавиур шил дээр хатаасан халдвартай эс дээр хийж болно. Эхлээд ариутгасан эс хусагчаар эсийн өсгөврийн колбоны дотор хананаас эсийг хусаж авна. Хурилдуурын хуруу шилнүүдэд хуваж хийгээд 1000 *g*-д 3 минут хурилдуурдана.

vii) Эсийн тунашийг 1 мл эсийн өсгөврийн тэжээлт орчин, эсхүл ФБУ-аар уусган сэргээгээд тавиур шил дээр 300 мкл-ийг дусаагаад агаарт хатааж ацетоноор тасалгааны хэмд 10 минут бэхжүүлнэ.

viii) Тавиур шилийг шинэхэн ФБУ-д 3-4 удаа дүрж угаагаад ГАМӨВ-ийн эсрэг иммунглобулинтай коньюгатласан флюоресцеин изотиоцианат (ФИТЦ)-аар зөвлөсөн шингэлэлтээр эсхүл урьдчилан таньцалсан шингэлэлтээр, чийгээ барьдаг саванд 37°C-д 1 цаг будна.

ix) Хяналтын эерэг болон сөрөг тавиур шилийг дээрхийн адилаар бэхжүүлж, будна.

x) Тавиур шилийг шинэхэн ФБУ-д 3-4 удаа дүрж угаагаад будсан тавиур шилийг ФБУ/глицеринд байлгаж хэт ягаан босоо гэрэлтэй микроскопоор зохих хамгаалалт, гэрлийн тохирох шүүлтүүр хэрэглэн харж шалгана.

xi) *Үр дүнг унших*

Хэрэв гахайн ясны чөмгийн халдварлуулсан эсийн цитополазмд өвөрмөц гэрэлтэлт ажиглагдвал шинжилсэн дээж эерэг байна.

1.2. Флюоресцэнт эсрэгбиеийн урвалаар эсрэгтөрөгч илрүүлэх

ФЭБУ-ыг хээрийн нөхцөлд өвчний сэжигтэй болон лабораторид халдварлуулсан гахайн эдийн дээжид эсрэгтөрөгч илрүүлэх нэмэлт шинжилгээнд ашиглаж болно. ФЭБУ-аар эерэг, эмнэл зүйн шинж тэмдэг болон зохих гэмтэл илэрсэн бол ГАМ өвчний урьдчилсан онош тогтоож болно. Энэ аргыг цус шингээлт ажиглагдаагүй цагаан эсийн өсгөвөрт ГАМӨВ илрүүлэхэд ашиглан вирусийн цус үл шингээгч омгийг ялган таньж болно. Мөн энэ арга ГАМӨВ болон Ауэскийн өвчин зэрэг бусад вирус болон эс эмгэгшүүлэгч халдварын үүсгэсэн ЭЭН-г ялгаварлана. Гэвч цочмогдуу болон архаг өвчний тухайд ФЭБУ нь мэдрэх чанарын хувьд ихээхэн багасдагийг тэмдэглэх нь чухал юм. Ийнхүү мэдрэх чанарын бууралт нь халдвартай гахайн эдэд үүссэн эсрэгтөрөгч-эсрэгбиеийн хам нэгдэл нь АМӨВ-ийн эсрэгтөрөгч болон илрүүлэгч эсрэгбиеийн коньюгатын хооронд саад болдогтой холбоотой байж болох юм (Sánchez-Vizcaíno & Arias, 2012).

1.2.1. Шинжлэх аргачлал

i) Шинжлэх эдийн хөлдүү зүсмэг эсхүл даралтат түрхэц эсхүл тавиур шил дээр халдварлуулсан цагаан эсийн өсгөвөр бэлтгээд агаарт хатааж ацетоноор тасалгааны хэмд 10 минут бэхжүүлнэ.

ii) ГАМӨВ-ийн эсрэг иммунглобулинтай коньюгатласан флюоресцеин изотиоцианат (ФИТЦ)-аар зөвлөсөн шингэлэлтээр эсхүл урьдчилан таньцласан шингэлэлтээр, чийгээ барьдаг саванд 37°C-д 1 цаг будна.

iii) Хяналтын эерэг болон сөрөг тавиур шилийг дээрхийн адилаар бэхжүүлж, будна.

iv) Тавиур шилийг шинэхэн цэвэр ФБУ-д 4 удаа дүрж угаагаад будсан тавиур шилийг ФБУ/глицеринд байлгаж хэт ягаан гэрэлтэй микроскопоор зохих хамгаалалт, гэрлийн тохирох шүүлтүүр хэрэглэн харж шалгана.

v) *Үр дүнг унших*

Хэрэв лимфоид эрхтний холтослог давхаргад эсхүл бусад эрхтний бэхжүүлсэн макрофагд эсхүл халдварлуулсан цагаан эсийн өсгөвөрт цитоплазмын өвөрмөц мөхлөгт гэрэлтэлт ажиглагдвал шинжилсэн дээж эерэг байна.

1.3. Полимеразагийн гинжин урвалаар вирусийн геном илрүүлэх

Энэ өвчний бүхий л мэдэгдэж байгаа вирусийн генийн хэвшилд хамаарах өргөн хүрээний өсгөврийн, тэр дундаа цус шингээх чанаргүй вирус болон бага хоруу чанартай вирус аль алийг илрүүлэн ялган танихын тулд өвчин үүсгэгчийн геномын маш тогтвортой мужаас загварчилсан праймер ашиглан явуулах ПГУ-ын аргыг боловсруулаад байна. ПГУ-ыг ялангуяа лабораторид ирүүлсэн сорьц вирус ялган авах, эсрэгтөрөгч илрүүлэх шаардлага хангахааргүй болтлоо ялзарч муудсан, түүнчлэн сорьцыг лабораторид хүлээж авахаас өмнө вирус идэвхгүйжсэн байж болзошгүй баттай үндэслэлтэй тохиолдолд гахайн эдийн дээжид вирусийн ДНХ-ийг ялган тогтооход ач холбогдолтой байжээ. ПГУ мэдрэх болон өвөрмөц чанар өндөр, хэрэглэхэд өндөр бүтээмжтэй байдаг тул түүнийг өвчний сэжигтэй тохиолдолд илрүүлэх болон баталгаажуулах аль ч шинжилгээнд ашиглах нь зүйтэй.

ГАМ өвчний вирусийг илрүүлэхэд ашиглах энгийн болон бодит цагийн хэд хэдэн хувилбар ПГУ-ыг боловсруулснаас (Agüero нар, 2003; Basto нар, 2006; Fernández-Pinero нар, 2013; King нар, 2003; Tignon нар, 2011) гадна ДМАЭМБ-д албан ёсоор бүртгүүлсэн нэг цомгийг оролцуулаад ПГУ-ын нэлээд хэдэн цомог худалдаанд гарчээ. ГАМ болон ГСМ өвчнийг нэгэн зэрэг мөртөө хооронд нь ялгаварлан илрүүлдэг дуплекс БЦ-ПГУ аргыг боловсруулсан байна (Agüero нар, 2004; Haines нар, 2013). Хэрэглэж байгаа ПГУ-ын арга зүй нь тухайн шинжилгээний ажлын тавьсан зорилгыг хангаж байгааг 1.1.6. *Халдварт өвчний оношилгооны аргыг баталгаажуулах зарчим, арга* болон 2.2.3. *Нуклеин хүчлийг илрүүлэх аргыг боловсруулах, оптимизаци хийх* бүлэг дэх ПГУ-ын аргын дэлгэрэнгүй мэдээллийн дагуу баталгаажуулсан байх ёстой.

Дээж бэлтгэхээс эхлээд шинжилгээний арга зүйг багтаасан ПГУ-ын баталгаажсан дараах гурван арга зүйг (Agüero нар, 2003; Fernández-Pinero нар, 2013; King нар, 2003) дор тодорхойлов. Эдгээр арга зүй нь ерөнхий зааварчилгаа болж өгөх бөгөөд ПГУ-ын арга зүйн эхлэл болно. Урвалын хамгийн тохиромжтой нөхцөл (тогтмол дулаанд байлгах температур ба хугацаа, багаж хэрэгслийн загвар, нийлүүлэгч, түүнчлэн праймер, dNTP зэрэг урвал тавихад хэрэглэх урвалжийн төвшрүүлэг) нь янз бүр байж болох тул эдгээр тодорхойлсон нөхцөлд эхлээд үнэлгээ хийх зүйтэй.

1.3.1. Дээж бэлтгэх арга

Лабораторид ирүүлсэн сорьцоос хамааруулан ПГУ-д тохирох темплат бэлтгэхэд зориулсан ДНХ ялгах хэд хэдэн цомог худалдаанд гарсан нь хэрэгцээ хангаж байгаа бололтой. Иш татсан нийтлэлүүдээс дэлгэрэнгүй мэдээлэл авч болох (Agüero нар, 2003; Fernández-Pinero нар, 2013; King нар, 2003) ба одоо хэрэглэж байгаа аргыг лавлах лабораториуд[2]-аас авч болно. ГАМ өвчний вирусийг илрүүлэхдээ ГСМ өвчний вирустэй зэрэгцүүлэн илрүүлж болно (Бүлэг 3.9.3 *Гахайн сонгомол мялзан өвчин*: ГСМӨ вирусийг молекулын түвшинд илрүүлэх арга).

ПГУ-ын шинжилгээнд эсийн өсгөврийн дээд шингэн, ЭДТА-тай цус, ийлдэс, шингэрүүлсэн эд зэрэг янз бүрийн сорьцыг ашиглана. Зэрлэг бодонгоос цусны арчдас авч шинжилж болно.

Эрхтэн, эдийн сорьцын хувьд эхлээд тэднийг ариун 1^X ФБУ-д 1/10 нэгэн жигдийн шингэн болгосны дараа 12,000 *g*-ээр 5 минут хурилдуурдаж тунгалагшуулна. Шингэний дээд хэсгээс нуклеин хүчлийг ялгаж авна. Зарим үед зэрэгцүүлээд дээрх

шингэний дээд талын шингэнийг 1/10-аар шингэлж бэлтгэнэ (өөрөөр хэлбэл хэрэв нэгэн жигд болгосон эдийн шингэн булингартай ба/эсхүл геномын ДНХ агууламж хэт их гэмээр үед).

ДНХ ялгахад хэрэглэх хяналтын дээж: нуклеин хүчил ялгах бүрдээ наад зах нь хяналтын нэг эерэг, нэг сөрөг дээжийг хамт хэрэглэнэ. Эерэг хяналтын дээж нь ГАМ өвчний вируст эерэг ийлдэс, ЭДТА бүхий цус, эсхүл эдийн 1/10 жигдрүүлсэн шингэн (шинжилж буй эдийн дээжтэй нэг төрлийн эдийн дээж байх). Эерэг хяналтыг бэлтгэхдээ ялган авч байгаа ДНХ-ийн хэмжээг илрүүлж байгаа тэр хязгаарт ойрхон байхаар (өөрөөр хэлбэл бодит цагийн ПГУ-д бол мөчлөгийн босго хэмжээг [Ct] 32±2-д тохируулна) тохируулахыг чухалчлан зөвлөдөг. Сөрөг хяналтад ус эсхүл ГАМӨВ-д сөрөг ЭДТА бүхий цус, ийлдэс эсхүл эдийн нэгэн жигд болгон шингэн байж болно. Хяналтын дээжийг шинжлэх дээжтэй хамт боловсруулна. Нуклеин хүчлийн бэлдмэлийн чанар ПГУ-аар нуклеин хүчлийг олшруулах үйл ажиллагааны үр ашигт нөлөөлнө.

Цомог үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу ДНХ-ийг ялгана. Улмаар молекулын шинжилгээнд зориулсан ус ашиглан нуклеин хүчлийг уусгаж авна (ингэснээр ГАМ, шаардлагатай бол ГСМ шинжлэх тохиолдолд ДНХ болон РНХ хоёул ялгарна). Уусгаж авсан ДНХ-ийг тэр даруйдаа эсхүл –20°С-д хадгалж байгаад хожим хэрэглэнэ.

1.3.2. Энгийн ПГУ-аар нуклеин хүчлийг олшруулах (Agüero нар, 2003)

Энэ арга зүйд тодорхойлсон праймерийн цомгийг нэг урвалаар хоёр вирусийн геномыг нэгэн зэрэг, гэхдээ ялгаварлан илрүүлдэг мултифлекс БЦ-ПГУ-ын ГСМ өвчний вирусийн өвөрмөц праймерийн цомогтой харьцуулан үзэж болно (Agüero нар, 2004).

ДНХ-ийг олшруулах шатны хяналтын дээж: ПГУ явуулах бүрд наад зах нь нэг эерэг, нэг сөрөг хяналт оруулна. ГАМӨВ-д эерэг ДНХ 2 мкл-ийг эерэг хяналтын дээжээр авна. ДНХ олшруулалтын аргыг хэрэглэхэд ДНХ гарцыг ПГУ-ын аргын илрүүлэх хязгаарт ойрхон байлгахыг (өөрөөр хэлбэл бодит цагийн ПГУ-ын босго утга Ct 32 ±2 байна) чухалчлан зөвлөдөг. Сөрөг хяналтын дээжид нуклеазагүй ариун 2 мкл ус эсхүл ГАМӨВ агуулаагүй, ЭДТА бүхий ийлдэс эсхүл нэгэн жигд болгосон шингэнээс ялган авсан ДНХ байна.

1.3.2.1. Нөөц уусмал

i) Нуклеазагүй ариун ус.

ii) Идэвхгүйжихээс хамгаалсан ДНХ полимераза, ПГУ-ын буфер, магнийн хлорид, бүгд худалдаанд гарсан.

iii) ПГУ-ын нуклеотидийн холимог, dNTP тус бүр нь 10 mM, худалдаанд гарсан.

iv) Праймерийг 20 пмоль/мкл төвшрүүлэгтэй бэлтгэнэ: праймер PPA-1 дараалал 5’-AGT-TAT-GGG-AAA-CCC-GAC-CC-3’ (хөтлөх праймер); праймер PPA-2 дараалал 5’-CCC-TGA-ATC-GGA-GCA-TCC-T-3’ (буцаах праймер).

v) 10× ачаалагч буфер: 0.2% ксилен цианол, 0.2% бромфенолын хөх, 30% глицерин.

vi) Агарозын гель бэлтгэх TAE буфер (50х):Трис суурь (242 г); мөсөн цууны хүчил (57.1мл); 0.5 М ЭДТА, pH 8.0 (100 мл); нэрмэл ус (1 литр хүртэл).

vii) Агарозын 2%-ийн уусмал: 1х TAE буферт 2%-ийн уусмал бэлтгэх агароз худалдаанд гарсан.

viii) ДНХ-ийн молекул жингийн жиших хяналт: 100 хос суурь жиших маркер худалдаанд гарсан.

ix) Давхар мушгиа ДНХ нэвчдэг будаг, худалдаанд гарсан

1.3.2.2. Ердийн ПГУ-ын арга зүй

i) Шинжлэх дээжийн тооноос наад зах нь нэгээр илүү тооны дээжид хүрэлцэх хэмжээний ПГУ-ын мастер холимгийг бичил хурилдуурын ариун 1.5 мл цодонд бэлтгэнэ

ii) Дээж тус бүрд 25 мкл эцсийн эзлэхүүн бүхий ПГУ-ын холимог болон дор заасан эцсийн төвшрүүлэг бүхий дараах урвалжийг бэлтгэнэ: 1х ПГУ буфер, 2 мМ магнийн хлорид (үүнийг ПГУ буферт оруулж болно), 0.2 мМ dNTP холимог, праймер РРА-1, 20 пмоль/мкл (0.25 мкл, эцсийн төвшрүүлэг 0.2 μМ), праймер РРА-2, 20 пмоль/мкл (0.25 мкл, эцсийн төвшрүүлэг 0.2 мкМ), 0.625 U hot-start ДНХ полимераза, нуклеазагүй болгосон ус эсхүл ариун нэрмэл ус.

iii) Хэрэглэгдэх тооны ПГУ-ын 0.2 мл цодон тус бүрд 23 мкл ПГУ-ын холимог нэмнэ.

iv) ПГУ-ын цодон тус бүрд ялган авсан ДНХ-ийн темплатаас 2 мкл-ийг нэмнэ. ПГУ явуулах бүрдээ эерэг (2 мкл ГАМӨВ-ийн ДНХ) болон сөрөг урвалтай хяналтын дээжийн (2 мкл нэрмэл ус) хамт шинжилнэ

v) Бүх цодонг автомат дулаан сэлгэгчид байрлуулаад дараах программаар ажиллуулна: 95°С-д 10 минут нэг мөчлөг.

95°С-д 15 секунд 40 мөчлөг,

62°С-д 30 секунд, 72°С-д 30 секунд.

72°С-д 7 минут нэг мөчлөг

4°С-д байлгах.

Жич: Хэрэглэж байгаа ДНХ полимеразагаас хамаарч дулаан сэлгэх программ янз бүр байж болох ба дээр заасан нөхцөл нь зөвхөн лавлагаа болох бөгөөд анхны арга зүйгээр тохируулсан программ болно (Agüero нар, 2003).

vi) Программ дуусахаар нь ПГУ-ын цодонг гаргаад тус бүрд нь 2.5 мкл 10х ачаалах буфер нэмнэ

vii) Бүх дээжийг 1х ТАЕ буферт 2%-иар бэлтгэсэн, ДНХ будагч бодис бүхий (хэрэглэж байгаа будгаас хамаарч төвшрүүлгийг үйлдвэрлэгчийн зааврыг баримтлан тохируулна) агарозын гельд ачаална.

viii) Гель тус бүрийн нэг үүрт ДНХ жиших хяналтыг нэмнэ.

ix) Гелийг 150–200 вольтын тогтмол гүйдэлд 30 орчим минут гүйлгэнэ.

x) Гелийг хэт ягаан эсхүл цэнхэр гэрэлд харж шалгана. Дээж эерэг бол ПГУ-ын эерэг хяналтын бүтээгдэхүүнтэй зэрэгцэн үелсэн толбо үүсгэнэ. Шинжилсэн дээж, эерэг хяналтын дээж дэх ПГУ-ын бүтээгдэхүүний хэмжээг ДНХ стандарт жиших хяналттай харьцуулж тогтооно. Эерэг хяналтын ПГУ-ын бүтээгдэхүүн 257 хос суурь хэмжээтэй байна. Сөрөг хяналтын дээжид ямар нэг толбо үүсэхгүй.

1.3.3. Бодит цагийн ПГУ-ын 1-р арга зүй (King нар, 2003)

1.3.3.1. Нөөц уусмал

i) Нуклеазагүй эсхүл тохирох ариун нэрмэл ус, ПГУ-ын мастер холимог (2×).

ii) Праймер 50 пмоль/мкл төвшрүүлэгтэй: праймер 1 дараалал 5’-CTG-CTC-ATG-GTA-TCA-ATC-TTA-TCG-A-3’ (эерэг утгат утаслаг); праймер 2 дараалал 5’-GAT-ACC-ACA-AGA-TC(AG)-GCC-GT-3’ (сөрөг утгат утаслага).

iii) Флюоресцент бодисоор тэмдэглэсэн, гидролиз проб 5 пмоль/мкл төвшрүүлэгтэй: (5’-[6-карбокси-флюоресцейн (FAM)]-CCA-CGG-GAG-GAA-TAC-CAA-CCC-AGT-G-3’-[6-карбокси-тетраметил-родамин (TAMRA)]).

1.3.3.2. ПГУ-аар олшруулах

i) Шинжлэх дээжийн тооноос нэгээр илүү тооны дээжид хүрэлцэх хэмжээний дор тодорхойлсон ПГУ-ын мастер холимгийг дээж тус бүрд бичил хурилдуурын ариун 1.5 мл цодонд бэлтгэнэ.

Нуклеазагүй эсхүл ариун ус (7.5 мкл); (2х төвшрүүлэг) ПГУ-ын холимог (12.5 мкл); праймер 1, 50 рмол (1.0 мкл); праймер 2, 50 пмоль (1.0 мкл); флюоресцент бодисоор тэмдэглэсэн проб, 5 пмоль (1 мкл).

ii) ПГУ-ын холимгоос 22 мкл-ийг гэрлийн нягтыг хэмжих хавтангийн шинжлэх дээж тус бүрийн үүрт нэмнэ.

iii) Ялган авсан ДНХ-ийн темплат эсхүл ДНХ ялгах үйлдлийн хяналт болгосон хоосон дээжээс 3 мкл-ийг нэмээд үүр тус бүрийг сайтар битүүлэн бүрхэнэ.

iv) Хавтанг тохирох багажаар 1 минут хурилдуурдаж үүр бүрийн агуулагдахууныг холино.

v) Хавтанг ПГУ-аар олшруулах нуклеотидийн дараалал тогтоох системд (флюоресцент FAM суваг бүхий бодит цагийн ПГУ-ын машинд) байршуулж дараах программаар машиныг ажиллуулна.

50°C-д 2 минутаар нэг мөчлөг,

95°C-д 10 минутаар нэг мөчлөг,

95°C-д 15 секунд 40 мөчлөг, 58°C-д 1 минутаар 40 мөчлөг.

Жич: Тодорхой зорилгоор програмчилсан дулаан сэлгэгч байхгүй бол ердийн дулаан сэлгэгч ашиглаж ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг гэрэлтэлтийн төгсгөлийн цэг уншигчаар эсхүл 1.5%-ийн агарозын гель дээр электрофорез тавьж хэмжих хувилбар бий. ПГУ-ын бүтээгдэхүүн 250 хос суурь байна.

vi) *Үр дүнг унших*

ПГУ бүрийн босго утгыг нуклеин хүчлийн олшруулалтын хүснэгтийг (мэдээлэгч будгийн гэрэлтэлт ба мөчлөгийн тооны хүснэгт) үндэслэн тогтооно. Шинжилсэн дээж сөрөг байвал, жишээ нь халдварлаагүй сөрөг дээж болон ДНХ ялгах үйлдлийн хяналт болгосон хоосон дээжийн босго утга-Ct >40.0 байна. Шинжилсэн эерэг дээж болон эерэг хяналтын дээжийн босго утга-Ct < 40.0 (илт эерэг дээжийн босго утга Ct <30.0).

Худалдаанд гарсан төрөл бүрийн олшруулалтын цомгийг ашиглан энд бичсэн арга зүйд өөрчлөлт оруулан ПГУ-ын бүтээгдэхүүний гарцыг ихээхэн нэмж болох болов ч олшруулалтын тэдгээр цомгийг хэрэглэхийн өмнө бүрэн баталгаажуулсан байх хэрэгтэй. Fernández-Pinero нар (2010) түргэн олшруулалтын арга зүйг ашиглан хийсэн ийм нэг өөрчлөлтийг оношилгооны зориулалтаар баталгаажуулжээ (дэлгэрэнгүй арга зүйг Fernández-Pinero нарын 2013 оны бүтээлээс авах боломжтой).

1.3.4. Бодит цагийн ПГУ-ын 2-р арга зүй (Fernández-Pinero нар, 2013)

Бодит цагийн ПГУ-ын энэхүү арга нь халдварын эхэн үед, мөн вирус цусаар тархах түвшин ихэвчлэн харьцангуй бага байдаг удаан хугацаанд үргэлжлэх архаг халдвартай амьтанд ГАМӨВ-ийн ДНХ-ийг хамгийн өндөр мэдэрч илрүүлдэг болох нь харагджээ (Fernández-Pinero нар, 2013; Gallardo нар, 2015a).

1.3.4.1. Уусмал

i) Нуклеазагүй ариун ус

ii) Бодит цагийн ПГУ-ын хэд хэдэн цомог худалдаанд гарсан. Сонгосон цомгоо хэрэглэхийн өмнө оношилгоонд тохирох эсэхийг баталгаажуулна.

iii) 20 пмоль/мкл төвшрүүлэгтэй праймер бэлтгэнэ: праймер ASF-VP72-F дараалал 5’-CCC-AGG-RGA-TAA-AAT-GAC-TG-3’ (хөтлөх праймер); праймер ASF-VP72-R дараалал 5’- CAC-TRG-TTC-CCT-CCA-CCG-ATA-3’ (буцаах праймер).

Жич: нуклеотидийн код, R = A+G холимог суурийн байрлал

iv) Тэмдэглээт гидролиз проб (10 пмоль/мкл, FAM мэдээлэгч будгаар тэмдэглэсэн), хэрэглэхэд бэлэн байдлаар худалдаан гарсан, (Fernández-Pinero нар, 2013 дэлгэрэнгүйг үз).

Жич**:** өвөрмөц проб олдохгүй бол адилхан төвшрүүлэг, урвалын нөхцөлтэйгөөр дараах стандарт пробоор орлуулж болно (5’-[6-карбокси- флюоресцейн (FAM)]-TCC-TGG-CCR-ACC-AAG-TGC-TT-3’-[бараан квинчер (BHQ)])

1.3.4.2. ПГУ-ын олшруулалт

ДНХ-ийг олшруулах шатны хяналтын дээж: ПГУ явуулах бүрд наад зах нь нэг эерэг, нэг сөрөг хяналт оруулна. ГАМӨВ-д эерэг ДНХ 2 мкл-ийг эерэг хяналтын дээжээр

авна. ДНХ олшруулалтын аргыг хэрэглэхэд ДНХ гарцыг ПГУ-ын аргын илрүүлэх хязгаарт ойрхон байлгахыг (өөрөөр хэлбэл бодит цагийн ПГУ-ын босго утга Ct 32±2 байна) чухалчлан зөвлөдөг. Сөрөг хяналтын дээжид нуклеазагүй ариун 2 мкл ус байна.

i) Шинжлэх дээжийн тооноос наад зах нь нэгээр илүү тооны дээжид хүрэлцэх хэмжээний ПГУ-ын мастер холимгийг дор дурдсаны дагуу дээж тус бүрд зориулан бичил хурилдуурын ариун 1.5 мл цодонд бэлтгэнэ

ii) ПГУ-ын холимогт орох зүйл: нуклеазагүй болгосон ус эсхүл ариутгасан нэрмэл ус (7 мкл), мастер холимог 2х (10 мкл), праймер ASF-VP72-F, 20 пмол/мкл (0.4 мкл), праймер ASF-VP72-R, 20 рмол/µл (0.4 µл), флюоресцент бодисоор тэмдэглэсэн проб 10 пмол/мкл (0.2 мкл).

iii) Шаардагдах тооны ПГУ-ын 0.2 мл тунгалаг цодон тус бүрд 18 мкл ПГУ-ын холимог нэмнэ.

iv) ПГУ-ын тунгалаг цодон тус бүрд ялган авсан ДНХ-ийн темплатаас 2 мкл-ийг нэмнэ. ПГУ явуулах бүрдээ эерэг (2 мкл ГАМӨВ-ийн ДНХ) болон сөрөг урвалтай хяналтын дээж (2 мкл нэрмэл ус) хамт шинжилнэ

xi) Бүх цодонг ПГУ-ын дулаан сэлгэгчид (FAM гэрэлтэлтийн суваг бүхий) байрлуулаад дараах программаар ажиллуулна:

95°C-д 5 минут нэг мөчлөг.

95°C-д 10 секунд 60°C-д 30 секунд 45 мөчлөг,

Мөчлөг бүрийн төгсгөлд FAM сувгаар гэрэлтэлтийг бүртгэж байхаар програмчилна.

Жич: байгаа ДНХ полимеразагаас хамаарч тогтмол дулаанд барих программ янз бүр байж болох ба дээр заасан нөхцөл нь ерөнхий бөгөөд тохируулсан программ нь анх нийтлүүлж байсан (Fernández-Pinero нар, 2013) тэр хэвээрээ байгаа болно

v) Үр дүнг унших

Гэрэлтэлтийн суурь дохионоос дээшээ гарч мэдрэгдэн илрэх хэмжээнд хүрсэн гэрэлтэлтийн цэгийг босго утга (Ct) гэх ба энэ нь ПГУ-ын төхөөрөмжийн программаар автоматаар хэмжигдэнэ. Энэ цэг нь тухайн шинжилж байгаа дээж эерэг болохыг заах гэрэлтэлтийн эхний цэг юм.

Эерэг дээжид нуклеин хүчлийн олшруулалт сигмоид хэлбэрийн муруйгаар илрэх ба босго утга Ct <40 байна.Босго утга Ct ≥38 бүхий дээжийг хэрэв олшруулалтын муруй сигмоид хэлбэртэй байсан бол эргэлзээтэйд тооцож баталгаажуулах шинжилгээ давтан хийнэ. Сөрөг дээжийн гэрэлтэлт суурь дохионоос доогуур байх ба төхөөрөмж ямар нэг босго утга Ct заахгүй.

Ийлдэс судлалын үр дүн эсхүл эпидемиологийн мэдээлэл ГАМӨВ-ийн халдвар байх боломжтой гэж тогтоогоогүй нөхцөлд хэрэв дээжийн босго утга >40 заавал сөрөг гэж үзнэ. Энэ тохиолдолд ПГУ-ын сөрөг дүнг баталгаажуулахын тулд шинжилгээг давтан хийнэ.

1.4. Эсрэгтөрөгч илрүүлэх энзим холбоост дархлааны урвал

Эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА-г үндсэн аргыг орлуулан ашиглаж болох болов ч мэдрэх чанараар ПГУ болон цус шингээлтийн сорилоос үлэмж доогуур учраас дангаар нь вирус илрүүлэх зорилгоор ашиглаж болохгүйгээс гадна үр дүнг ПГУ эсхүл цус шингээлтийн сорилоор баталгаажуулж байх хэрэгтэй. Гахайн цус, дэлүү, тунгалгийн зангилааны дээж шинжлэх худалдаанд гарсан цомгийг үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу хэрэглэнэ. Уг цомог нь давхар эсрэгбиетэй, сэндвич хэлбэрийн ЕЛИЗА юм. Хавтангийн үүрний ханыг вирусийн капсидийн уурагт өвөрмөц ИГЭБ-ээр бүрсэн ба эерэг дээж дэх ГАМ өвчний вирустэй холбогдоно. Угаалтын дараа пероксидазатай коньюгаталсан капсидийн ууураг дээрх янз бүрийн эпитопд өвөрмөц хоёрдогч ИГЭБ-ийг нэмнэ. Энэхүү хоёрдогч эсрэгбие баригч эсрэгбиетэй холбогдох ба түүнийг тохирох субстрат нэмэх замаар илрүүлнэ.

2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ

Хэрэглэхэд хялбар, харьцангуй өртөг бага, нарийн багаж төхөөрөмж, тусгай өрөө тасалгаа шаардагддаггүй учраас ийлдэс судлалын шинжилгээ нь хамгийн өргөн хэрэглэгддэг оношилгооны арга юм. ГАМ-ын эсрэг хэрэглэх вакцин байхгүй учраас хэрэв мал, амьтанд ГАМВ-ийн эсрэгбие илэрвэл энэ нь вакцинаар үүссэн байж болох эсрэгбие биш харин өвчин үүсгэгч вирусийн халдварын эсрэгбие болохыг ямагт илтгэж тул уг өвчний оношилгоонд ач холбогдолтой.

Үүнээс гадна ГАМ өвчний эсрэг эсрэгбие халдварын дараахан (7–10 өдөр) биед илэрч сараар зогсохгүй жилээр ч орогноно. Хоруу омгоор халдварласан тэжээвэр болон зэрлэг гахай дархлааны хариу урвалын дүнд өвөрмөц эсрэгбие үүсэхээс өмнө ихэвчлэн үхчихдэг. ГАМ өвчний вирусийн сулруулсан болон хоруу чанар багатай омог эргэлдэж вирусийн халдвар байнга гардаг нутагт өвчилж өнгөрсөн болон вирусийн халдвартай ч шинж тэмдэг үзүүлдэггүй гахайг ийлдэс судлалын аргаар илрүүлэх нь чухал байдаг. Вирусийг бүрэн саармагжуулж чадах эсрэгбие байхгүй.

Цус, ийлдсийг шинжлэхэд тохиромжтой, хамгийн өргөн хэрэглэдэг арга бол ЕЛИЗА (Gallardo нар, 2015b; Sánchez-Vizcaíno, 1987) юм, ЕЛИЗА-аар эерэг урвалтай дээжийг ФЭБШБУ, ИПШБУ эсхүл иммуноблот зэрэг хөндлөнгийн аргаар (Gallardo нар, 2015b; Pastor нар, 1989) ашиглан баталгаажуулна. Хоруу чанартай ГАМВ-ийн халдвар авсан гахай биед нь уг вирусийн эсрэгбие үүсэхээс өмнө үхчихдэг тул ихэнхдээ үүсгэгчийн эсрэгбие илэрдэггүй. Харин сул, дунд зэрэг хоруу чанартай ГАМВ-ийн халдвар авсан гахайн биед уг вирусийн эсрэгбие үүснэ. Вирусийн эсрэг эсрэгбиеийг хээрийн нөхцөлд илрүүлэхэд хэрэглэх (хажуу тийш нэвчдэг) баталгаажсан арга худалдаанд гарчээ.

Сүүлийн жилүүдэд ГАМ өвчний ийлдсийн шинжилгээний аргын өвөрмөц болон мэдрэх чанарыг Африк болон Европт гарсан энэ өвчний гаралт, тархалтын янз бүрийн нөхцөл байдалд үнэлэх судалгааг эрчимтэй явуулж байна. Энэ судалгаагаар одоогоор Зүүн Европт эргэлдэж байгаа ГАМВ-ийн II генотипийн өсгөвөр болон илүү хувьсамхай нь мэдэгдээд байгаа зүүн Африкийн өсгөврийг шинжлэн судалжээ. Дээрх судалгааны дүнд мал, амьтны шилжилт хөдөлгөөний өмнө баталгаажуулах шинжилгээ хийхэд хэрэглэхийг зөвлөж байгаа ДМАЭМБ-ын арга нь (1 р хүснэгт үз) эпидемиологийн янз бүрийн нөхцөлд ГАМ өвчний вирусийн эсрэгбиеийг нарийвчлал болон мэдрэх чанар сайтайгаар илрүүлж байгааг харуулжээ (Gallardo нар, 2013; 2015b).

ГАМ эндемик нутагт өвчний сэжигтэй тохиолдлыг баталгаажуулахад ийлдэс судлалын стандарт аргыг (ЕЛИЗА) ийлдэс судлалын бусад хувилбар (ФЭБШБУ, ИПШБУ, иммунблотын урвал) аргуудтай хамтруулах болон эсрэгтөрөгч н хэрэглэж болно. Зарим улсад халдварын эерэг урвалын 95 гаруй хувийг ФЭБШУ болон ФЭБУ-ыг хослуулан хэрэглэж ялган тогтоосон байна.

Гахай хоруу чанаргүй эсхүл хоруу чанар багатай омгоор халдвар авсан нөхцөлд халдварыг илрүүлэх цорын ганц зам нь ийлдэс судлалын арга байж болох юм.

2.1. Энзим холбоост дархлааны урвал

ЕЛИЗА нь бага эсхүл дунд зэргийн хоруу чанартай вирусээр халдварласан гахайд ГАМ өвчний вирусийн эсрэгбиеийг шууд илрүүлэх арга юм. Одоогоор ГАМ өвчний вирусийн эсрэгбиеийг өрсөлдөөнт болон шууд зарчмын аргаар тархвар зүйн янз бүрийн нөхцөлд илрүүлэхэд баталгаажсан хэд хэдэн цомог худалдаанд гарчээ. Шууд бус ЕЛИЗА аргад ашиглах уусдаг эсрэгтөрөгч бэлтгэх нь хамгийн хямдхан хувилбар бөгөөд түүнийг ашиглах аргыг дор сийрүүлэв:

Дор тодорхойлсон иммунблотын урвал, ФЭБШБУ эсхүл ИПШБУ зэрэг баталгаажуулалтын дараагийн шинжилгээ хийх аргыг эргэлзээтэй үр дүн гарсан, эсхүл ийлдсийг муу хадгалснаас боллоо гэж сэжиглэх үед эерэг дүн үзүүлсэн нөхцөлд хийнэ.

2.1.1. ЕЛИЗА урвалын эсрэгтөрөгч бэлтгэх

Гахайн ийлдэс оролцуулсан орчинд ургуулсан халдвартай эсээс ЕЛИЗА урвалын эсрэгтөрөгч бэлтгэнэ (Escribano нар, 1989).

i) Дасгасан вирусээр нэг эс дэх халдвартай вирусийн хэлтэрхийн тоо 10 байхаар MS (сармагчны эдээс гаргаж авсан) эсийг халдварлуулж, гахайн 2%-ийн ийлдэс агуулсан тэжээлт орчинд өсгөвөрлөнө.

ii) Халдвар хийснээс хойш 36–48 цагийн дараа ЭЭН эрчимтэй байгаа үед эсийг хурааж авна. ФБУ-аар угааж, 650 *g*-д 5 минут хурилдуурдаж тунадасжуулж эсийн тунашийг pH 8.0 бүхий 5 мМ Трис/HCl-д бэлтгэсэн 0.34 М сахарозоор угаан эсийн тунашийг хурилдуурдана.

(iii) -аас (v) хүртэл шатыг мөсөн дээр тавьж хийнэ:

iii) Эсийн тунашийг pH 8.0 бүхий 5 мМ Трис/HCl-д бэлтгэсэн 67 mM (175 см^2 колбо тутамд 1.8 мл) сахарозод уусган сэргээгээд 5 минутын дараа 10 минут зайлагч тавьж орхино.

iv) 1% (ж/э)-ийн эцсийн төвшрүүлэгтэй болгон “Нонидет P-40” үл ионжуулагч угаалгын бодис нэмээд 10 минут тавьж (5 минутын дараа зайлна) эсийг задална.

v) pH 8.0 бүхий 0.4 М Трис/HCl-д эцсийн төвшрүүлэг 64% (ж/ж) болгон сахароз нэмээд 1000 *g-ээр* 10 минут хурилдуурдаж эсийн бөөмийг тунаана.

vi) Дээд шингэн хэсгийг аваад pH 8.0 бүхий 0.25 мМ Трис/HClд ЭДТА (2mM эцсийн төвшрүүлэгтэй), бета-меркаптоэтанол (50 mM эцсийн төвшрүүлэгтэй), NaCl (0.5 М эцсийн төвшрүүлэгтэй) нэмнэ.

vii) pH 8.0 бүхий 50мМ Трис/HCl -д 20% (ж/ж сахарозын үеийг 4°C-д 100,000 *g* 1 цаг хурилдуурдана.

Сахарозын үеийн дээр тогтсон хэсгийг авч ЕЛИЗА д эсрэгтөрөгч болгон хэрэглэнэ. –20°C-д хадгална.

2.1.2. Шууд бус ЕЛИЗА аргачлал (Pastor нар, 1990)

i) 96 үүртэй ЕЛИЗА бичил хавтангийн үүр бүрд 0.05 М карбонат/бикарбонатын буферт шингэлсэн (яаж шингэлэхийг заасны дагуу эсхүл шингэлэлтийг урьдчилан таньцалж тогтоосон) pH 9.6 бүхий 100 мкл эсрэгтөрөгч нэмж үүрний ханыг бүрнэ.

ii) 4°C-д 16 цаг байлгаад pH 7.2 бүхий ФБУ-д бэлтгэсэн 0.05% Твин 20 уусмалаар тав дахин угаана.

iii) Шинжлэх ийлдэс, эерэг, сөрөг хяналтын ийлдсийг pH 7.2 бүхий ФБУ-д бэлтгэсэн 0.05% Твин 20 уусмалд 1/30-аар шингэлээд эсрэгтөрөгчөөр ханыг нь бүрсэн хавтангийн хос үүр тус бүрд 100 мкл шингэлсэн ийлдэс нэмнэ.

iv) Хавтанг 37°C-д 1 цаг байлгаад (хавтан зайлагч ашиглаж болно) pH 7.2 бүхий ФБУ-д бэлтгэсэн 0.05% Твин 20 уусмалаар тав дахин угаана.

v) Үүр тус бүрд ФБУ-д бэлтгэсэн 0.05% Твин 20 уусмалаар шингэлсэн (яаж шингэлэхийг заасны дагуу эсхүл шингэлэлтийг урьдчилан таньцалж тогтоосон) А ууараг /тунхууны пероксидазагийн коньюгат (Pierce) 100 мкл нэмнэ.

vi) Хавтанг 37°C-д 1 цаг байлгасны дараа (хавтан зайлагч ашиглаж болно) pH 7.2 бүхий ФБУ-д бэлтгэсэн 0.05% Твин 20 уусмалаар тав дахин угаана.

vii) Субстрат: Дараах байдлаар бэлтгэсэн DMAB/MBTH субстратаас үүр бүрд 200 мкл-ийг нэмнэ. Хавтан бүрд шаардагдах эзлэхүүн нь 10 мл DMAB-ийн 80.6 мМ уусмал + 10 мл MBTH-ийн 1.56 мМ уусмал + 5 мкл 30%-ийн H_2O_2 байна.

   а. DMAB/MBTH субстрат бэлтгэх

      DMAB – 3-диметиламинбензоины хүчил; MBTH – 3-метил-2-бензотиазолинон гидразон гидрохлорид моногидрат

   б. DAMB 80.6 мМ уусмал.

      315 г DAMB хүчлийг 1000 мл pH 7 бүхий 0.1 М фосфатын буферт уусгаад, (5.3 г KH_2PO_4, 8.65 г Na_2HPO_4 дээр 1000 мл хүртэл нэрмэл ус нэмнэ) тасалгааны хэмд 1 цагийн турш тасралтгүй зайлах явцдаа NaOH (5 М)-аар pH-г 7-д тохируулан бэлтгэнэ. Юүлүүр ашиглан шүүнэ.

   в. MBTH 1.56 мМ уусмал

      0.3646 г MBTH-ыг 1000 мл pH 7 бүхий 0.1 М фосфатын буферт уусгаад (5.3 г KH_2PO_4, 8.65 г Na_2HPO_4 дээр 1000 мл хүртэл нэрмэл ус нэмнэ) тасалгааны хэмд 1 цагийн турш тасралтгүй зайлах явцдаа давсны өтгөн хүчлээр pH-г 6.25-д тохируулан бэлтгэнэ. Юүлүүр ашиглан шүүнэ.

Субстратыг нөөц уусмал байдлаар бэлтгэж жижиглэн хувааж –20°C-д хадгална. DAMB ба MBTH уусмалыг хэрэглэхийнхээ яг өмнө тэнцүү (1:1) харьцаагаар хольж шаардагдах хэмжээгээр 30% H_2O_2 нэмнэ.

0.04% ортофенилен-диамин (OPD)-ыг DMAB/MBTH-ын оронд хэрэглэж болох хувилбар бий. Үүнийг фосфатцитратын pH 5.0 бүхий буферт 10 мкл/25 мл харьцаагаар бэлтгэнэ. Субстратаас үүр бүрд 100 мкл нэмнэ. **Жич:** OPD субстрат хэрэглэх үед хуурамч эерэг урвалын тоо ихэсдэг.

viii) Тасалгааны хэмд 6-10 минут (сөрөг хяналтын дээж өнгөтэй болохоос өмнө) байлгана. Өнгө тодрох хугацаа нь субстратын үүрэнд нэмэх үеийн температур болон өрөөний температураас хамаарна.

ix) Үүр бүрд 3 N хүхрийн хүчлээс 100 мкл-ийг нэмснээр урвал зогсоно.

x) Үр дүнг унших: Эерэг ийлдэсний дээжийн өнгө тунгалаг (OPD субстрат хэрэглэсэн бол шар, DMAB/MBTH субстрат хэрэглэсэн бол хөх) байх ба түүнийг энгийн нүдээр уншиж болох ч бүх ийлдэс эерэг урвалтайг ялган танихын тулд шаардлагатай бол үүр тус бүрийн гэрэл шингээлтийг ЕЛИЗА урвалд зориулсан спектрофотометрийн 600–620 нм (DMAB/MBTH субстрат) эсхүл 492 нм (OPD субстрат)-д хэмжинэ. DMAB/MBTH субстрат хэрэглэж байгаа үед эерэг хяналтын дээжийн гэрэл шингээлтийн дундаж утга сөрөг хяналтын дээжийн гэрэл шингээлтийн дундаж утгаас дөрөв дахин их байвал уг шинжилгээг хүчинтэй гэж үзнэ. OPD субстрат хэрэглэж байгаа бол хавтан дахь сөрөг хяналтын дээжийн гэрэл шингээлтийн дундаж утгаас хоёр дахин их гэрэл шингээлт өгч байгаа аливаа ийлдсийг эерэг гэж үзнэ.

Үр дүнг зөв тооцож гаргахын тулд дээж сөрөг, тодорхойгүй, эерэг болохыг ялгаварлан тогтоох босго утгыг тооцоолно. Дараах тэгшитгэлээр босго утгыг тогтооно:

Босго утга = сөрөг ийлдэсний гэрлийн нягт x1 + эерэг ийлдэсний гэрлийн нягт x0.2.

а. Босго утгаас –0.1-ээр бага гэрлийн нягттай ийлдсийг сөрөг гэж үзнэ.

б. Босго утгаас +0.1-ээр их гэрлийн нягттай ийлдсийг эерэг гэж үзнэ.

в. Босго утгаас ±0.1 хэмжээний гэрлийн нягттай ийлдсийг тодорхойгүй гэж үзээд үр дүнг ИПШБУ, ФЭБШБУ эсхүл иммунблотын урвалын аргаар баталгаажуулна.

Энд өгүүлсэн шууд бус ЕЛИЗА арга хэрэглэхэд тогтмол дулаанд барих хугацаа, температур, буфер, эсрэгтөрөгчийн болон дээжийн төвшрүүлэг, түүнчлэн коньюгат, субстратын төрөл, төвшрүүлгийг тохируулах замаар түүнийг сайжруулж баталгаажуулаад байгаа бөгөөд халдварын эхний үед цуглуулсан ийлдэсний сорьцыг шинжилсэн өмнөх шинжилгээний аргын мэдрэх чанараас илүү өндөр болсон байна (Fernández-Pacheco нар, 2016). Товчхондоо шинжлэх болон хяналтын ийлдсийг саатуулагч буферт (0.05% Твин 20, 2% тосгүйжүүлсэн сүү, 2% гахайн хэвийн ийлдэс агуулсан ФБУ) 1/10-аар шингэлж ЕЛИЗА хавтангийн нэг үүрийг хяналтын үүр болгон (100 мкл саатуулагч буфер) хоосон үлдээсэн байна. Ийлдсийг хавтан зайлагч дээр тавьж 37±2°C-д 2 цаг байлгана. Урьдчилан таньцалсан ажлын шингэлэлт (А уургийн зөвлөсөн хязгаар 1:5000– 1:20000, 1 мг/мл) бүхий коньюгатыг хавтан зайлагч дээр тавьж 37±2°C-д 45 минут байлгана. Төгсгөлд нь шинэ субстрат хэрэглэн үүр бүрд 100 мкл субстратын уусмал (ABTS [2,2'-азино-ди(3-этил-бензотиазолин)-6-сульфоны хүчил]-диаммонийн давс) нэмээд харангуй газар тасалгааны хэмд 30 минут байлгана. Урвалыг үүр бүрд 100 мкл зогсоогч уусмал (1% натрийн додецил сульфат) нэмж зогсоогоод үр дүнг гэрлийн 405 нм долгионы уртад хэмжинэ. Хавтангийн хоосон үүрний гэрэл шингээлтийн дундаж (OD хоосон) <0.250 байвал шинжилгээг хүчинтэй гэж үзнэ. Босго утга (БУ)-ыг сөрөг хяналтын дээжийн гэрлийн нягтын дундаж × 2 гэж тооцно. Босго утгын индекс (БУИ) нь шинжлэх дээжийн үр дүнг илтгэх ба түүнийг дээжийн гэрлийн нягтын дунджийг босго утгад хувааж гаргана (БУИ/БУ). Ийлдсний дээжийн БУИ ≤1 бол сөрөг гэж үзнэ. БУИ >1 ≤1.25 бол эргэлзээтэй, БУИ >1.25 бол эерэг гэж үзнэ.

2.2. Шууд бус иммунпероксидазагийн урвал (Gallardo нар, 2015b)

ИПШБС нь бэхжүүлсэн эс дээр эсрэгтөрөгч-эсрэгбиеийн хам нэгдлийн үүсэлтийг пероксидаза энзимийн үйлчлэлээр илрүүлэх дархлааны эсийн химийн шинжилгээний арга юм. Энэ аргаар шинжилгээ хийхдээ Африкийн ногоон сармагчны бөөрний (Vero) эсхүл MS эсийг эдгээр эсэд дасгасан ГАМӨВ-ийн өсгөврөөр халдварлуулна. Халдвар авсан эсийг бэхжүүлж ГАМӨВ-ийн эсрэг өвөрмөц эсрэгбие үүссэн эсэхийг илрүүлэх эсрэгтөрөгч болгон

ашиглана. ГАМ өвчнөөр тайван нутгаас гаралтай ийлдэс ЕЛИЗА урвалаар эерэг дүн үзүүлсэн болон ГАМ өвчнөөр эндемик нутгаас гаралтай ийлдэс ЕЛИЗА урвалаар тодорхойгүй дүн үзүүлсэн нөхцөлд ИПШБС-ыг баталгаажуулах арга болгон ашиглана. Мэдрэх чанар, гүйцэтгэлийн хувьд гайхалтай энэ аргыг цус, биеийн шингэн, эдийн сорьцын шүүдэс шинжлэхэд хамгийн сайн арга юм (Gallardo нар, 2015b).

2.2.1. ГАМ өвчний дасгаж, бэхжүүлсэн вирусээр үүрнийх нь ханыг бүрсэн 96 үүртэй хавтан бэлтгэх

i) Хуваагдлын харьцаа 1:2 бүхий MS эсхүл Веро эсээс дэд өсгөвөр хийж 96 үүртэй бичил хавтангаас сонгосон үүрнүүдэд шингэлсэн эсийн цийдмэгийг тарааж хийнэ (ургалтын талбай/үүр/үүр 0.32 см^2).

ii) Веро эсийг 24, эсхүл MS эсийг 48 цаг 37±3°C хэмд, чийгшүүлэгчтэй, 5% CO_2 бүхий дулаан тогтоогуурт хавтангийн үүрний 80–90%-д хоорондоо салалгүй үргэлжлэн бүрхэж ургах хүртэл өсгөвөрлөнө. 24 эсхүл 48 цаг өсгөвөрлөсний дараа 96 үүртэй бичил хавтанд ургасан эсийн өсгөврийн тэжээлт орчныг болгоомжтой асгана.

iii) Тусдаа лонхонд ГАМ-ын дасгасан вирусийн тохирох шингэрүүлэлтийг (ҮХИ-гүй тэжээлт орчинд) түүний m.o.i. (нэг эс дэх халдвартай вирусийн хэлтэрхийн тоо) нь 0.025-0.05 хооронд байхаар бэлтгэнэ.

Дараах томьёогоор шингэлэлтийн зэргийг тооцоолно

$$\text{шингэлэлтийн зэрэг} = \frac{0.7 \text{ x вирусийн таньц x эзлэхүүн}}{\text{эсийн тоо x m.o.i}}$$

iv) Халдварлуулах материалаас 100 мкл/үүр хэмжээгээр хавтанг халдварлуулаад 37±3°C хэмд, чийгшүүлэгчтэй, 5% CO_2 бүхий дулаан тогтоогуурт дараах байдлаар өсгөвөрлөнө:

   а. Халдварлуулсан Веро эстэй хавтанг 18±1 цаг

   б. Халдварлуулсан MS эстэй хавтанг 24±1 цаг: энэ тохиолдолд 37±3°C-д 2 цаг болгосны дараа 200 мкл эзлэхүүнийг +4%-ийн ҮХИ-тэй тэжээлт орчноор (эцсийн төвшрүүлэг 2% SFBi) дүүргэнэ.

v) Эсийг бэхжүүлэх: халдварлуулсан материалыг вакуум сорогчоор авсны дараа ГАМ өвчний вирусээр халдварласан эсийн бүтэн үеийг 70% метанол, 30% ацетоноор тасалгааны хэмд 8 ±2 минут бэхжүүлнэ. Төгсгөлд нь хавтан зайлагч дээр тавьж ФБУ-аар 3-5 удаа тус бүр 5 минутаар угаана.

vi) Бэхжүүлж хатаасан ИПШБС хавтанг шууд хэрэглэх ба эсхүл <–10°C-д хадгална.

2.2.2. ИПШБС-ын аргачлал

i) ГАМӨВ-ийн ИПШБС-ын хавтангийн цанг арилгаад өрөөний хэмд (18–25°C) 30 минут байлгаад

ii) Саатуулах үе шат: хавтангийн үүр бүрд 100 мкл саатуулагч уусмал хийж саатуулалт хийнэ (ФБУ/0.05%Твин 20, pH 7.2 [±0.2]/сүү 5%). Хавтан зайлагч дээр тавьж 37 ±2°C-д 1 цаг байлгана.

iii) Дээжийг урьдчилан тогтмол дулаанд байлгах: 96 үүртэй, тусдаа бичил хавтанд дээж (ийлдэс, цус, шингэн, эдийн шүүдэс) болон хяналтыг (эерэг, хязгаар, сөрөг) саатуулагч уусмалаар 1/40 харьцаагаар шингэлнэ. (ФБУ/0.05%Твин 20, pH 7.2 [±0.2]/сүү 5%, 2% SFB). Үүр бүрд 100 мкл нэмээд хавтан зайлагч дээр тавьж 37 ±2°C-д 1 цаг байлгана.

iv) Дээж бэлтгэх: Нэг цагийн дараа ГАМӨВ-ийн ИПШБС-ын хавтангаас саатуулагч шингэнийг асгаад үүр бүрд тогтмол дулаанд байлгаж байсан дээж болон хяналтаас 100 мкл нэмнэ. Хавтан зайлагч дээр тавьж 37±2°C-д 45 минут байлгана.

v) Угаах шат: Үүр бүрд 100 мкл 1х-ФБУ нэмж хавтан зайлагч дээр тавьж 37 ±2°C-д 5 минутаар тус бүр 3 удаа угаана.

vi) Үүр бүрд саатуулагч уусмалаар 1/5000-аар шингэлсэн А уураг пероксидазагийн коньюгатаас 100 мл-ийг нэмнэ. Хавтан зайлагч дээр тавьж 37 ±2°C-д 45 минут байлгана.

vii) Угаах шат: үүр бүрд 100 мкл 1х-ФБУ нэмж хавтан зайлагч дээр тавьж 37 ±2°C-д 5 минутаар тус бүр 3 удаа угаана.

viii) Үүр бүрд 50 мкл субстратын уусмал нэмж тасалгааны хэмд (18– 25°C) 5-10 минут байлгана.

Субстратын уусмал: субстратын уусмалыг хэрэглэх болохоороо бэлтгэнэ. Цуу хүчлийн 5 мл буфер + 5 мкл H_2O_2 -д 300 мкл нөөц уусмал хийж (энэ хэмжээний холимгийг 96 үүртэй нэг хавтанд хэрэглэнэ) холино.

а. Нөөц уусмал: АЕС (3-амино-9-этилкарбазол) 20 мг-тай нэг шахмалыг 2.5 мл диметилформамидэд уусган 4 ±3°C-д харанхуй газар байлгана.

б. Цуу хүчлийн буфер 74 мл А уусмал + 176 мл Б уусмал. Тасалгааны хэмд хадгална. Хүчинтэй хугацаа 6 сар.

1. Уусмал А: 0.2 N мөсөн цууны хүчил (1.155 мл цууны хүчлийг 100 мл усанд уусгана). Тасалгааны хэмд хадгална.

2. Уусмал Б: 0.2 М натрийн цууны хүчил (100 мл усанд 2.72 г [±0.05] AcNa tri-hydrated). Тасалгааны хэмд хадгална.

ix) Үүр бүрд 1 × ФБУ-аас 100 мкл-ийг нэмж урвалыг зогсооно.

x) Үр дүнг унших: ГАМ өвчинд эерэг дээжтэй, ГАМ өвчний вирусээр халдварласан үүрэнд улаан эсийн цитоплазмын гүн улаан өнгө үүснэ. Үүрэнд цитоплазмын гүн улаан өнгө үүсвэл ГАМ өвчинд эерэг, үүсэхгүй бол сөрөг гэж үзнэ.

Бусад өвчний эсрэг вакцинжуулсан амьтнаас авсан сорьцтой холбоотой зарим онцлог нөхцөлд шинжилгээний хавтангийн зарим үүрэнд өвөрмөц бус бүдэг улаан дэвсгэр өнгө үүсэж болох юм. Ийм тохиолдолд дээжийг халдварлуулаагүй эс болон халдварлуулсан эстэй нэгэн зэрэг харьцуулан шинжлэх хэрэгтэй.

2.3. Флюоресцент эсрэгбиеийн шууд бус урвал

ГАМ өвчнөөр тайванд тооцогдох нутгаас гаралтай, ЕЛИЗА урвалаар эерэг дүн үзүүлсэн болон энэ өвчин эндемик нутгаас гаралтай, ЕЛИЗА урвалаар тодорхойгүй үр дүн үзүүлсэн ийлдсийг баталгаажуулах зорилгоор энэ урвалыг (Sánchez-Vizcaíno, 1987) ашиглана.

2.3.1. Шинжлэх аргачлал

i) ГАМӨВ-ээр халдварлуулсан гахайн бөөрний эсхүл сармагчны эсийн 5 х 10^5 эс/мл төвшрүүлэгтэй цийдмэг бэлтгээд түүнээс жижиг дуслыг тавиур шил дээр тараагаад агаарт хатааж тасалгааны хэмд 10 минут ацетонд бэхжүүлнэ. Тавиур шилийг хэрэглэх хүртлээ –20°C-д хадгална.

ii) Шинжлэх ийлдсийг 56°C-д 30 минут халааж идэвхгүйжүүлнэ.

iii) Буфержүүлсэн давсны уусмалд тохируулан шингэлсэн шинжлэх ийлдэс, эерэг, сөрөг хяналтын ийлдсийг халдварлуулсан болон халдварлуулаагүй хяналтын аль аль эсийн тавиур шил дээр нэмээд чийгээ барьдаг хайрцагт 37°C-д 1 цаг байлгана.

iv) Тавиур шилийг шинэхэн цэвэр ФБУ-д дөрвөн удаа дүрж угаагаад дараа нь нэрмэл усаар угаана.

v) Гахай эсрэг иммунглобулин/ФИТЦ эсхүл А уураг/ФИТЦ коньюгатыг урьдчилан тогтоосон эсхүл зөвлөсөн шингэлэлтээр бүх тавиур шил дээр нэмээд чийгээ барьдаг хайрцагт 37°C-д 1 цаг байлгана.

vi) Тавиур шилийг шинэхэн цэвэр ФБУ-д дөрвөн удаа дүрж угаагаад дараа нь нэрмэл усаар угаагаад ФБУ/глицеринд бэхлээд тохирсон хаалт, шүүлтүүр бүхий хэт ягаан гэрлийн микроскопоор харж шалгана.

vii) Үр дүнг унших: халдварлуулсан эс дээрх эерэг хяналтын ийлдэс эерэг байх ёстой бол бусад бүх хяналт урвалын үр дүнг үнэлэхийн өмнө сөрөг байх ёстой.

Хэрэв халдварласан өсгөвөр өвөрмөц флюоресцэнц гэрэлтэлт өгвөл ийлдэс эерэг байна.

2.4. Иммунблотын шинжилгээний арга (Pastor нар, 1989)

Энэ шинжилгээний аргыг тодорхой нэг ийлдсийн шинжилгээний эргэлзээтэй үр дүнг баталгаажуулахад IFAT болон IPT аргыг орлуулан хэрэглэнэ. Энэ арга нь халдвар авснаас хойш хоёр дахь долоо хоногоос үүсдэг ГАМ өвчний сул эерэг дээжийг илрүүлэхэд тохиромжтой юм. Гахайд өвөрмөц эсрэгбие үүсгэдэг вирусийн уургийг тодорхойлоод байна. Эдгээр полипептидийг эсрэгтөрөгчийн тууз дээр байрлуулах ба халдвараас 9 хоногийн дараа өвөрмөц эсрэгбиетэй урвалд орж байгаа нь иммуноблотын урвал харагджээ.

2.4.1. Эсрэгтөрөгчийн тууз бэлтгэх

i) ЕЛИЗА урвалын эсрэгтөрөгч бэлтгэх В.2.1. хэсэгт заасан ёсоор вирусийн цитоплазмын уусдаг уургийг бэлтгэнэ.

ii) 17% акрил-амид/N,N'- (DATD) гель дээр молекул жингийн тохирох жиших стандартын хамт электрофорез явуулна.

iii) Уургийг шилжүүлэх буфер орчинд (196 мМ глицин, 25 мМ Трис/HCl, pH 8.3-д найруулсан 20% метанол) 5 mA/см тогтмол гүйдлийн электрофорезоор 14 × 14 cm^2 хэмжээтэй нитроцеллюоз хальс дээр шилжүүлнэ.

iv) Хальсыг хатааж, электрофорезоор гүйлгэсэн уураг байгаа талд нь тэмдэглэгээ хийнэ.

v) Шүүлтүүрийн нэг захаас нэг туузыг тасалж аваад дор дурдсанаар иммуноблот хийнэ. Зэрэгцүүлэн гүйлгэсэн молекул жингийн жиших стандарттай харьцуулж байгаад 23-25 kDa уураг агуулж байгаа хэсгийг олж тогтоогоод тэр хэсгийг 0.5 см өргөнтэй тууз болгон жижиглэнэ. Тууз бүрийн электрофорезоор шилжүүлсэн уураг байгаа талыг нь тэмдэглэнэ.

Эдгээр тууз нь (ойролцоогоор 4 см урт) иммунблотод ашиглах эсрэгтөрөгч бүхий тууз бөгөөд түүнд цочмог өвчилсөн эсхүл өвчлөөд өнгөрсөн гахайн ийлдэс дэх эсрэгбие урвалд орох уураг агуулагдана.

2.4.2. Хлорнафтолын субстрат уусмал бэлтгэх

Энэ уусмалыг яг хэрэглэхийнхээ өмнө бэлтгэнэ.

i) 2 мл метанолд 6 мг 4-хлор-1-нафтол уусгаад түүнийгээ алгуурхан 10 мл ФБУ-д байнга зайлангуутаа хийнэ.

ii) Ватманы 1 номерийн (сонголтоор) цаасан шүүлтүүрээр шүүхэд үлдсэн цагаан тунадсыг авна.

iii) Ус төрөгчийн хэт исэл 30% H_2O_2 4 мкл нэмнэ

2.4.3. Шинжлэх аргачлал

Эсрэгтөрөгчийн туузыг дархлааны урвал явуулах хугацаанд тэмдэглээтэй талыг ясагт дээш харуулж барина.

i) Саатуулагч буферт (ФБУ-д тосгүйжүүлсэн хуурай сүү 2%) эсрэгтөрөгчийн туузыг 37°С-д 30 минут тасралтгүй зайлж байлгана.

ii) Шинжлэх ийлдэс, эерэг, сөрөг хяналтын ийлдсийг саатуулагч буферт 1/40 харьцаагаар шингэлж бэлтгэнэ.

iii) туузыг тохирох ийлдсэнд хийж 37°С-д 45 минут тасралтгүй зайлж байлгана. Эсрэг болон сөрөг хяналтын ийлдсэнд тус бүр эсрэгтөрөгч бүхий туузыг хийж тогтмол температурт байлгана Энэ хоёр тууз хяналт болно. Саатуулагч буферт дөрөв дахин угааж сүүлийн угаалтыг 5 минут тасралтгүй зайлах маягаар хийнэ.

iv) А уураг/тунхууны пероксидаза коньюгатыг саатуулагч буферт зөвлөсөн эсхүл урьдчилан тогтоосноор (голдуу 1/1000) шингэлээд эсрэгтөрөгчийн бүх туузад нэмж 37°С-д 45 минут тасралтгүй зайлж байлгана. Саатуулагч буферт дөрөв дахин угааж сүүлийн угаалтыг 5 минут тасралтгүй зайлах маягаар хийнэ.

v) Субстратын уусмал бэлтгээд эсрэгтөрөгчийн тууз дээр нэмээд тасалгааны хэмд 5-15 минут тасралтгүй зайлж байлгана.

vi) Уургийн толбо илт бараан болохоор нь нэрмэл ус хийж урвалыг зогсооно.

vii) Үр дүнг унших: эерэг ийлдэс эсрэгтөрөгчийн тууз дахь вирусийн хэд хэдэн уурагтай урвалд орох ба тэдгээр нь уургийн нэг ижил шинж төрхтэй, эсрэгтөрөгчийн өнгөний тодролт нь эерэг ийлдсийн хяналтынхтай адилхан байх ёстой.

B. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

Одоогоор ГАМ өвчинд зориулан худалдаанд гаргасан вакцин байхгүй.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

ACHENBACH J.E., GALLARDO C., NIETO-PELEGRÍN E., RIVERA-ARROYO B., DEGEFA-NEGI T., ARIAS M., JENBERIE S., MULISA D.D., GIZAW D., GELAYE E., CHIBSSA T.R., BELAYE A., LOITSCH A., FORSA M., YAMI M., DIALLO A., SOLER A., LAMIEN C.E. & SÁNCHEZ-VIZCAÍNO J.M. (2017). Identification of a New Genotype of African Swine Fever Virus in Domestic Pigs from Ethiopia. *Transbound. Emerg. Dis*., **64**, 1393–1404.

AGÜERO M., FERNÁNDEZ J., ROMERO L., SANCHEZ C., ARIAS M. & SÁNCHEZ-VIZCAÍNO J.M. (2003). Highly sensitive PCR assay for the routine diagnosis of African swine fever virus in clinical samples, *J. Clin. Microbiol*., **41**, 4431–4434.

AGÜERO M., FERNÁNDEZ J., ROMERO L., ZAMORA M.J., SANCHEZ C., BELÁK S., ARIAS M. & SÁNCHEZ-VIZCAÍNO J.M. (2004). A highly sensitive and specific gel-based multiplex RT-PCR assay for the simultaneous and differential diagnosis of African swine fever and Classical swine fever. *Vet. Res*., **35**, 1–13.

ALEJO A., MATAMOROS T., GUERRA M. & ANDRÉS G. (2018). A Proteomic Atlas of the African Swine Fever Virus Particle. *J. Virol*., **92**, pii: e01293-18. doi: 10.1128/JVI.01293-18.

BASTO A.P., PORTUGAL R.S., NIX R.J., CARTAXEIRO C., BOINAS F., DIXON L.K., LEITAO A. & MARTINS C. (2006). Development of a nested PCR and its internal control for the detection of African swine fever virus (ASFV) in *Ornithodoros erraticus*. *Arch. Virol.,* **151**, 819–826.

BISHOP R.P., FLEISCHAUER C., DE VILLIERS E.P., OKOTH E.A., ARIAS M., GALLARDO C. & UPTON C. (2015). Comparative analysis of the complete genome sequences of Kenyan African swine fever virus isolates within p72 genotypes IX and X. *Virus Genes*, **50**, 303–309.

BOSHOFF C.I., BASTOS A.D., GERBER L.J. & VOSLOO W. (2007). Genetic characterisation of African swine fever viruses from outbreaks in southern Africa (1973–1999). *Vet. Microbiol.,* **121**, 45–55.

CHAPMAN D.A., DARBY A.C., DA SILVA M., UPTON C., RADFORD A.D. & DIXON L.K. (2011). Genomic analysis of highly virulent Georgia 2007/1 isolate of African swine fever virus. *Emerg. Infect. Dis*, **17**, 599–605.

COSTARD S., MUR L., LUBROTH J., SANCHEZ-VIZCAINO J.M. & PFEIFFER D.U. (2013). Epidemiology of African swine fever virus. *Virus Res*., **173**, 191–197.

DE LEÓN P., BUSTOS M.J. & CARRASCOSA A.L. (2013). Laboratory methods to study African swine fever virus. *Virus Res*., **173**, 168–179.

DE VILLIER E.P., GALLARDO C., ARIAS M., DA SILVA M., UPTON C., MARTIN R. & BISHOP R.P. (2010). Phylogenomic analysis of 11 complete African swine fever virus genome sequences. *Virology*, **400**, 128–136.

DIXON L.K., ESCRIBANO J.M., MARTINS C., ROCK D.L., SALAS M.L. & WILKINSON P.J. (2005). *In:* Virus Taxonomy, VIIIth Report of the ICTV, Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J, Desselberger U.& Ball L.A., eds. Elsevier/Academic Press, London, UK, 135–143.

ESCRIBANO J.M., PASTOR M.J. & SANCHEZ VIZCAINO J.M. (1989). Antibodies to bovine serum albumin in swine sera: implications for false positive reactions in the sero diagnosis of African swine fever. *Am. J. Vet. Res.,* **50**, 1118–1122.

FERNÁNDEZ-PACHECO P., NIETO R., SIMÓN A., GARCÍA CASTEY T.A., MARTÍN E., ARIAS M. & GALLARDO C. (2016). Comparative evaluation of the performance of six ELISA tests for the detection of antibodies against African swine fever virus (ASFV). EPIZONE 10th Annual Meeting, Madrid, Spain, 27–29 September 2016, p. 107. https://www.epizone-eu.net/en/Home/Downloads.htm

FERNÁNDEZ-PINERO J., GALLARDO C., ELIZALDE M., RASMUSSEN T.B., STAHL K., LOEFFEN W., BLOME S., BATTEN C., CROOKE H., LE POTIER M.F., UTTENTHAL Å., LEBLANC N., ALBINA E., KOWALCZYK A., MARKOWSKA-DANIEL I., TIGNON M., DE MIA G.M., GIAMMARIOLI M., ARIAS M. & HOFFMANN B. (2010). EPIZONE ring trial on ASFV real-time PCR. Annual Meeting of National African swine fever Laboratories, 18 May 2010, Pulawy, Poland.

FERNÁNDEZ-PINERO J., GALLARDO C., ELIZALDE M., ROBLES A., GÓMEZ C., BISHOP R., HEATH L., COUACY-HYMANN E., FASINA F.O., PELAYO V., SOLER A & ARIAS M. (2013). Molecular diagnosis of African Swine Fever by a new real-time PCR using universal probe library. *Transbound. Emerg. Dis*., **60**, 48–58.

GALLARDO C., FERNÁNDEZ-PINERO J., PELAYO V., GAZAEV I., MARKOWSKA-DANIEL I., PRIDOTKAS G., NIETO R., FERNÁNDEZ- PACHECO P., BOKHAN S., NEVOLKO O., DROZHZHE Z., PÉREZ C., SOLER A., KOLVASOV D. & ARIAS M. (2014). Genetic variation among African swine fever genotype II viruses, eastern and central Europe. *Emerg. Infect. Dis.*, **20**, 1544–1547.

GALLARDO C., MWAENGO D.M., MACHARIA J.M., ARIAS M., TARACHA E.A., SOLER A., OKOTH E., MARTÍN E., KASITI J. & BISHOP RP. (2009). Enhanced discrimination of African swine fever virus isolates through nucleotide sequencing of the p54, p72, and pB602L (CVR) genes. *Virus Genes*, **38** 85–95.

GALLARDO C., NIETO R., SOLER A., PELAYO V., FERNÁNDEZ-PINERO J., MARKOWSKA-DANIEL I., PRIDOTKAS G., NURMOJA I., GRANTA R., SIMÓN A., PÉREZ C., MARTÍN E., FERNÁNDEZ-PACHECO P. & ARIAS M. (2015b). Assessment of African swine fever diagnostic techniques as a response to the epidemic outbreaks in Eastern European Union countries: How to improve surveillance and control programs. *J. Clin. Microbiol*., **53**, 2555–2565.

GALLARDO C., SOLER A., NIETO R., CARRASCOSA A.L., DE MIA G.M., BISHOP R.P., MARTINS C., FASINA F.O., COUACY-HYMMAN E., HEATH L., PELAYO V., MARTIN E., SIMON A., MARTIN R., OKURUT A.R., LEKOLOL I., OKOTH E. & ARIAS M. (2013). Comparative evaluation of novel African swine fever virus (ASF) antibody detection techniques derived from specific ASF viral genotypes with the OIE internationally prescribed serological tests. *Vet. Microbiol*., **162**, 32–43.

GALLARDO C., SOLER A., NIETO R., SÁNCHEZ M.A.S., MARTINS E., PELAYO V., CARRASCOSA A., REVILLA Y., SIMON A., BRIONES V., SÁNCHEZ-VIZCAÍNO J.M. & ARIAS M. (2015a). Experimental Transmission of African Swine Fever (ASF) Low Virulent Isolate NH/P68 by Surviving Pigs. *Transbound. Emerg. Dis*., **62**, 612–622.

HAINES F.J., HOFMANN M.A., KING D.P., DREW T.W. & CROOKE H.R. (2013). Development and validation of a multiplex, real- time RT PCR assay for the simultaneous detection of classical and African swine fever viruses. *PLoS One*, **8** (7).

KING D.P., REID S.M., HUTCHINGS G.H., GRIERSON S.S., WILKINSON P.J., DIXON L.K., BASTOS A.D.S. & DREW T.W. (2003). Development of a TaqMan® PCR assay with internal amplification control for the detection of African swine fever virus. *J. Virol. Methods*, **107**, 53–61.

LUBISI B.A., BASTOS A.D., DWARKA R.M. & VOSLOO W. (2005). Molecular epidemiology of African swine fever in East Africa. *Arch Virol.,* **150**, 2439–2452.

NIX R.J., GALLARDO C., HUTCHINGS G., BLANCO E. & DIXON L.K. (2006). Molecular epidemiology of African swine fever virus studied by analysis of four variable genome regions. *Arch. Virol*., **151**, 2475–244.

PASTOR M.J., ARIAS M. & ESCRIBANO J.M. (1990). Comparison of two antigens for use in an enzyme-linked immunosorbent assay to detect African swine fever antibody. *Am. J. Vet. Res.,***51**, 1540–1543.

PASTOR M.J., LAVIADA M.D., SANCHEZ VIZCAINO J.M. & ESCRIBANO J.M. (1989). Detection of African swine fever virus antibodies by immunoblotting assay. *Can. J. Vet. Res.,* **53**, 105–107.

PORTUGAL R., COELHO J., HÖPER D., LITTLE N.S., SMITHSON C., UPTON C., MARTINS C., (2015). Related strains of African swine fever virus with different virulence: genome comparison and analysis. *J. Gen. Virol*., **96** (Pt 2), 408–419.

QUEMBO C.J., JORI F., VOSLOO W. & HEATH L. (2018). Genetic characterization of African swine fever virus isolates from soft ticks at the wildlife/domestic interface in Mozambique and identification of a novel genotype. *Transbound. Emerg. Dis*., **65**, 420–431.

SÁNCHEZ-VIZCAÍNO J.M. (1987). African swine fever diagnosis. *In:* African Swine Fever, Becker Y., ed. Martinus Nijhoff, Boston, USA, 63–71.

SÁNCHEZ-VIZCAÍNO J.M. & ARIAS M. (2012). African swine fever. *In*: Diseases of Swine, tenth Edition, Straw B., D'Allaire S., Mengeling W., Taylor D., eds. Iowa State University, USA, pp.396–404.

SÁNCHEZ-VIZCAÍNO J.M., MARTINEZ-LÓPEZ B., MARTINEZ-AVILÉS M., MARTINS C., BOINAS B., VIAL L., MICHAUD V., JORI F., ETTER E., ALBINA E. & ROGER F. (2009). Scientific Review on African swine fever. CFP/EFSA/AHAW/2007/02, pp: 1–141.

SÁNCHEZ-VIZCAÍNO J.M., MUR L., GOMEZ-VILLAMANDOS J.C. & CARRASCO L. (2015). An update on the epidemiology and pathology of African swine fever. *J. Comp. Pathol*., **152**, 9–21.

TIGNON M., GALLARDO C., ISCARO C., HUTET E., VAN DER STEDE Y., KOLBASOV D., DE MIA G.M., LE POTIER M.F., BISHOP R.P., ARIAS

M. & KOENEN F. (2011). Development and inter-laboratory validation study of an improved new real-time PCR assay with internal control for detection and laboratory diagnosis of African swine fever virus. *J. Virol. Methods*, **178**, 161– 167.

*

* *

ЖИЧ: Гахайн Африк мялзан өвчнийг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори бий (ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас мэдээлэл авна уу: https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

Гахайн Африк мялзан өвчнийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудтай холбогдож авна уу.

ЖИЧ: 1990 ОНД АНХ, 2021 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

БҮЛЭГ 47 (3.9.2)

ГАХАЙН СОНГОМОЛ МЯЛЗАН ӨВЧИН (ГАХАЙН СОНГОМОЛ МЯЛЗАН ӨВЧНИЙ ВИРУСИЙН ХАЛДВАР)

А. УДИРТГАЛ

Гахайн сонгомол мялзан (ГСМ) өвчин, үхрийн вирусийн диарей (ҮВД) өвчин, хилийн өвчин үүсгэгч вирус нь *Flaviviridae* овгийн *Pestivirus*-ийн төрөлд багтдаг бөгөөд өөр хоорондоо эсрэгтөрөгчийн шинж чанар болон бүтцийн хувьд ойр хамааралтай юм. ГСМ өвчнөөр өвчилсөн гахайд илрэх эмнэл зүйн шинж тэмдэг, үхсэний дараах задлан шинжилгээгээр илрэх эмгэг хувирал нь вирусийн болон эзэн амьтны хүчин зүйлээс хамаарч маш их ялгаатай байна. Үүнээс гадна хивэгч амьтны пестивирусийн төрөлхийн халдвар авсан гахайд ГСМ өвчнөөс үл ялгагдам эмнэл зүйн шинжээр өвчлөх тохиолдол гарна. Блом нар (Blome нар, 2017c), Гангес нар (Ganges нар, 2020), Постель нар (Postel нар, 2018) ГСМ өвчний талаарх сүүлийн үеийн судалгааг хийж нийтлүүлжээ.

ГСМ өвчин дархлааны тогтолцоонд нөлөөлж цагаан эсийн тоо нэлэнхийдээ цөөрөх гол хэв шинж нь халдвар авсан амьтан халуурч эхлэхийн өмнө голдуу илэрдэг байна. Дархлаа дарангуйлагдсанаар өөр халдвар хавсарч өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдэг далдлагдаж болзошгүй.

Өвчилсөн гахайн нас, тухайн үед эргэлдэж байгаа вирусийн омгийн хоруу чанар зэрэг олон хүчин зүйлээс хамаарч өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдэг харилцан адилгүй илэрнэ. Халуурах, олноороо нэг дор бөөгнөрөх, тэжээл усандаа дургүй болох, номойрох, сульдах, нүдний салст бүрхэвч үрэвсэх, баас хатаж улмаар чацга алдах нь энэ өвчнөөр өвчилсөн бүх насны гахайд илрэх нийтлэг шинж тэмдэг юм. Үүнээс гадна гахайд гуйвах, тэнцвэрээ алдах, татганах шинж тэмдэг илэрч болно. Эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрснээс хойш хэд хоногийн дараа чих, хэвлий, гуяны дотор талд ялангуяа цэг маягаар цус харвах эсхүл арьсных нь өнгө нил ягаан өнгөтэй болж хувирч магадгүй. Цочмог явцтай өвчилсөн амьтан 1-4 долоо хоногийн дотор үхнэ. ГАМ өвчний үед эмнэл зүйн ямар нэг шинж тэмдэг үзүүлэхгүйгээр гэнэт үхнэ гэж байхгүй.

Амьтны нас, үүлдэр, эрүүл мэндийн байдал, вирусийн омог зэргээс шалтгаалан халдвар авсан амьтан эмнэл зүйн цочмогдуу эсхүл архаг хэлбэрээр, түүнчлэн шинж тэмдэг үзүүлэхгүйгээр өвчилж болно. Халдварын эдгээр хэлбэр нь хэдэн долоо хоногоос хэдэн сараар эсхүл түүнээс ч удаан үргэлжилж болно. Архаг өвчний үед өсөлт зогсох, тэжээлийн дуршил буурах, сэлгэх маягаар халуурах, чацга алдах шинж тэмдэг илэрнэ. Шинж тэмдэггүйгээр өвчилсөн амьтанд халдвар орогнож ийлдсэнд вирус их, бага хэмжээгээр орших мөртөө эсрэгбие үүсгэхгүй байх боломжтой.

Төрөлхийн орогномол халдвар мэдэгдэхгүйгээр хэдэн сараар үргэлжилж болох бөгөөд халдвар сүрэгт цөөн хэдэн торойгоор хязгаарлагдах эсхүл олон тооны торойг өвчлүүлж болно. Орогномол халдвартай тооройд ГАМ-ын вирусийн эсрэг эсрэгбие үүсдэггүй бөгөөд ихэнх тохиолдолд амьдралынх нь туршид вирус цусанд нь тархаж, вирусийг ялгаруулна. Эмнэл зүйн өвөрмөц бус шинж тэмдэг илэрнэ: халуурах шинж тэмдэг илрэхгүйгээр турж эцэж болно. Архаг болон орогномол халдвар үргэлж үхлээр төгсөнө. Сүргийн хорогдлын түвшин таамаглаж байснаас бага зэрэг өндөр байх магадлалтай.

Цочмог халдварын үед үлэмж бие бүтцийн эмгэг хувирал мэдэгдэхээргүй эсхүл илрэхгүй байж болно. Ерөнхийдөө тунгалгийн зангилаа хавдаж улаан эрээн болсон, тэжээл боловсруулах эрхтний ийлдсэн болон салст бүрхэвч дээр цус харвасан байна. Дэлүүнд шигдээс үүссэн байж болно. Цочмогдуу болон архаг халдварын үед дээрх эмгэг хувирлаас гадна ходоод гэдэсний замын салст бүрхэвч, төвөнхийн халхавч, гүйлсэн булчирхай, төвөнхөд үхжилт эсхүл “товх” хэлбэрийн шархлаа ажиглагдана. Бие бүтцийн бичил эмгэг судлалын хувьд өвөрмөц хэв шинжит өөрчлөлтгүй. Эмгэг хувиралд тунгалгийн эдийн сөнөрөл, судасны эргэн тойрны эд дэх эсийн олшрол, нугас, тархины идээт бус, судас тойрсон цусны цагаан эсийн нэвчрэлтэй эсхүл нэвчрэлгүй үрэвсэл үүснэ.

Эмнэл зүйн шинж тэмдэг, задлан шинжилгээгээр илрэх эмгэг хувирал янз бүр байх учраас тэдгээр нь мадаггүй онош тавих баттай нотолгоо болж чаддаггүй. Гахайн Африкийн мялзан өвчин, гахайн арьсны үрэвсэл болон бөөрний эмгэгийн хам шинж (ГАБХШ), тогтолцооны PCV2 өвчин зэрэг вирусээр үүсдэг бусад өвчин, ялтаст эс цөөрөн арьс хүрэнтэх, цус үжих янз бүрийн нөхцөл байдал, үүний дотор тэр дундаа салмонеллез (ялангуяа *Salmonella choleraesuis*-ээр үүсдэг), ёлом, цусан халдвар,

актинобациллез (*Actinobacillus suis*-ээр үүсдэг), *Haemophilus parasuis*-ийн халдвар цочмог явцтай ГСМ өвчинтэй андуурагдаж магадгүй юм. Үнэн хэрэгтээ эдгээр бактери нь ихэнхдээ дагалдах халдвар үүсгэх бөгөөд тэдгээр эмгэг төрүүлэгчийг ялгаж авснаар тухайн өвчний жинхэнэ шалтгаан мэт болж ГСМ өвчин далдлагдан үлдэж болзошгүй юм. Үүний нэгэн адил үндсэн ГСМ өвчний халдварын оронд дагалдах халдвар болох ГАБХШ-тэй тэмцэхэд хүргэнэ.

Ийм учраас эмнэл зүйн шинж тэмдэг, задлан шинжилгээгээр илрэх эмгэг хувирлыг үндэслэж тавьсан түр оношийг лабораторийн судалгаа шинжилгээгээр баталгаажуулна. ГСМ өвчний оношилгоо, вакцинжуулалтын талаар саяхан нягтлан судалж нийтийн хүртээл болгосны дээр судалгаа шинжилгээнд байгаа асуудлыг тодорхойлжээ (Blome нар, 2017b; Ganges нар, 2020; Postel нар, 2018).

ГСМ өвчний вирусийн хүнд халдварлах эрсдэл тогтоогдоогүй байна. Өвчин үүсгэгч вирус лабораториос тархах өндөр эрсдэлтэй учир энэ гарын авлагын 1.1.4 *Биоаюулгүй ажиллагаа ба биохамгаалал: Мал эмнэлгийн лаборатори, амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандарт* бүлэгт тодорхойлсны дагуу биологийн эрсдэлийн шинжилгээ хийж биоаюулгүйн болон тусгаарлалтын арга хэмжээг тодорхойлно. Шаардлага хангах багаж төхөөрөмжтэй лаборатори ашиглах боломжгүй улс орон ДМАЭМБ-ын лавлах лабораторид сорьц илгээх хэрэгтэй.

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Гахайн сонгомол мялзан өвчнийг оношлох шинжилгээний арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	**Зорилго**					
	Популяци халдваргүйг тогтоох (b) (c) (e) (f)	Шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох (a) (b) (c) (e) (f)	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх (f)	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах (a) (b) (c) (d) (f)	Халдварын тархалт тогтоох – Тандалт (b) (e) (f)	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох (e) (f)
Үүсгэгч илрүүлэх (g)						
Вирус ялгах	–	+	–	+++	–	–
УТ-ПГУ	+	+++	++	+++	++	–
ЕЛИЗА (эсрэг төрөгч)	++	+	+	+	–	–
ФЭБШ	–	–	+	+	–	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ЕЛИЗА (эсрэгбие)	+++	+++	+++	–	+++	+++
ВСУ (ВСФЭШ эсхүл ПХСШ)	+	+++(h)	++	++	+++	+++

Түлхүүр үг:

+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
++ = энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
= энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй;
УТ-ПГУ = урвуу транскрипцт полимеразагийн гинжин урвал; ;
ЕЛИЗА= энзим холбоост дархлааны урвал;
ФЭБШ = флюоресцент эсрэгбиеийн шинжилгээ
ВСУ = вирус саармагжуулах урвал;
ВСФЭШ = вирус саармагжуулах флюоресцент эсрэгбиеийн шинжилгээ;
ПХСШ= пероксидаза холбоост саармагжуулах шинжилгээ
(a) Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 1-р хавсралтаас үзэх
(b) Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 2-р хавсралтаас үзэх
(c) Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 3-р хавсралтаас үзэх
(d) Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 4-р хавсралтаас үзэх
(e) Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 5-р хавсралтаас үзэх

(f) Энэ зорилгоор хэрэглэх шинжилгээний аргад өгсөн онооны үндэслэлийг 6-р хавсралтаас үзэх
(g) эмнэл зүйн нэг ижилхэн дээжээс үүсгэгч илрүүлэх аргыг хамтруулан хэрэглэхийг зөвлөдөг.
(h) ЕЛИЗА аргаар эсрэгбие эерэг тохиолдлыг баталгаажуулахад зориулсан.

ГСМ өвчний эхэнд илрэх нэг шинж тэмдэг нь цусаар вирус тархсан үед дагалдан илрэх халуурал юм. Гепарин (полимеразагийн гинжин урвалд [ПГУ]-д нөлөөлж магадгүй) эсхүл этилен тиамин тетра цууны хүчлээр үл бүлэгнүүлсэн бүтэн цус, халуурч байгаа амьтнаас авсан эдийн (ялангуяа гүйлсэн булчирхай) сорьцоос вирус эсхүл вирусийн нуклеин хүчил илрүүлэх нь халдвартай сүргийг халдварын эхэн үед илрүүлэх шалгарсан арга юм. Тэр тусмаа ГСМ өвчний дэгдэлт гахай, гахайн аж ахуйн бүтээгдэхүүний худалдаанд ноцтой хохирол учруулдаг учраас энэ бүх арга хэмжээ авах зайлшгүй шаардлагатай.

ГСМ өвчнийг оношлох лабораторийн арга нь вирус, вирусийн нуклеин хүчил, вирусийн эсрэгтөрөгч эсхүл өвөрмөц эсрэгбие илрүүлэхэд чиглэгдэнэ. Сорьц түүвэрлэлтийн зорилтот болон эрсдэлд суурилсан аргыг хэрэглэх, өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдэг илрээгүй нөхцөлд зөвхөн санамсаргүй түүврийн аргыг хэрэглэнэ. Вирус, вирусийн эсрэгтөрөгч, нуклеин хүчлийг илрүүлэх аргын мэдрэх чанарыг дээшлүүлэхийн тулд эмнэл зүйн шинжээр өвчилсөн болон халуурсан амьтнаас юуны түрүүнд сорьц авна. Вирус, вирусийн эсрэгтөрөгч, нуклеин хүчлийг илүү мэдэрч илрүүлэхийн тулд эмнэл зүйн шинжээр өвчилсөн болон халуурсан амьтнаас юуны түрүүнд сорьц авна. Эсрэгбие илрүүлэхийн тулд энэ өвчнөөр өвчилж эдгэрсэн амьтан, халдвартай эсхүл өвчилсөн амьтантай ойр хавьталд байсан амьтнаас юуны өмнө сорьц авч шинжилнэ.

Шинжилгээний үр дүнд зөв үнэлгээ өгөхийн тулд үзлэг хийж буй малын эмч уг өвчний үед зонхилон тохиолддог дээр дурдсан хоёр эсхүл түүнээс олон шинж тэмдгүүд нэгэн зэрэг эсхүл бүлэг бүлгээр илэрч байгаа эсэхэд онцгой анхаарна. Эхний шинжилгээгээр эерэг дүн үзүүлсэн сэжигтэй анхдагч тохиолдлыг хоёрдох шинжилгээний аргаар баталгаажуулах шаардлагатай.

Өвчилснөөс хойш гурав дахь долоо хоногт эсрэгбие үүсэх ба амьд үлдсэн амьтанд хэдэн жилээр эсхүл насан туршид нь (архаг өвчлөл орохгүй) хадгалагдаж болно. Вакцинжуулснаас хойш 10-14 хоногийн дараа эсрэгбие үүсэж вакцинжуулсан амьтанд хэдэн жил эсхүл өргөн хүрээтэй вакцинжуулалтын дараа түүнээс илүү урт хугацаагаар хадгалагдана. Эсрэгбие илрүүлэх сорьцыг өвчилж эдгэрсэн гахай, тэдгээртэй ойр хавьталд байсан амьтан, вакцинжуулсан популяциас ердийн (цус үл бүлэгнүүлэгчгүй) хуруу шилэнд авна. Холбогдох лабораторид бүх арга зүй, аргачлалыг баталгаажуулах хэрэгтэй ба лаборатори нь оношилгооны зориулалтаар хийх шинжилгээг гүйцэтгэн хангалттай үр дүн гаргах чадвартайгаа нотолсон байх хэрэгтэй. Лабораториуд хийж байгаа шинжилгээндээ шаардлагатай чанарын удирдлагыг хэрэгжүүлдэг, ДМАЭМБ-ын баталгаажуулалтын стандартын (энэ гарын авлагын 1.1.5 *Мал эмнэлгийн шинжилгээний лабораторийн чанарын удирдлага* бүлэг, 1.1.6 *Халдварт өвчний оношлох шинжилгээний баталгаажуулалт* бүлгийг үзэх) дагуу баталгаажуулалт хийдэг байх ёстой.

1. Өвчин үүсгэгчийг илрүүлэх

1.1. Вирус ялган авах

Эсийн өсгөвөрт вирус ялгах арга нь ГСМ өвчнийг оношлохын тухайд илүү мэдрэмтгий арга боловч хөлдөөсөн зүсмэгт хийдэг иммун флюоресценцийн аргыг бодвол хугацаа их шаарддаг арга юм. Эдийн бэлдмэл, цагаан эсийн бэлдмэл, бүхэл цусны сорьц, ийлдэс, сийвэн, арчдасан сорьц эсхүл үрийн шингэнээс вирус ялган авна. Түргэн хуваагддаг РК-15 эсийн урьдчилан бэлтгэсэн дан үе эсхүл эсийн цийдмэг хэлбэрээр бэлтгэсэн өсгөвөрт гүйлсэн булчирхайн 2%-ийн цийдмэг эсхүл өсгөвөрлөх орчинд хийсэн тохирох өөр бусад дээжээр нэгэн зэрэг халдааж үүсгэгчийг ялган авах нь хамгийн тохиромжтой.

Гахайн бусад дамжмал эсийг ашиглаж болох ч тэдгээр нь ГСМ өвчний вирусийг ялган авахад наад зах нь РК-15 эс шиг мэдрэмтгий болох нь тогтоогдсон, мөн пестивирус болон *Pestivirus*-ийн эсрэгбие агуулаагүй байх ёстой. Халдвар хийх ажилд гахайн нэг бус дамжмал эс ашиглах нь ерөнхийдөө эерэг үр дүнд хүрэх боломжийг бүрдүүлэх талаасаа давуу юм. Вирус өсгөвөрлөгдсөн ч эс эмгэшүүлэх нөлөө үзүүлдэггүй учраас вирус байгааг нэг (илрүүлэх шинжилгээ хийж байгаа бол) эсхүл хоёр зорчуулалтын дараа иммун будалтын аргаар нотлон харуулах ёстой. Үүний тулд эсийн өсгөвөрт флюоресцент гэрэлтэлт бүхий голомт байгаа эсэхийг 24-72 цагийн дараа флюоресцент эсрэгбиеийн шинжилгээний аргаар эсхүл аль болохоор 72 цаг өсгөвөрлөсний дараа (хамгийн багадаа 2 хоног, хамгийн их нь 5 хоног) иммунпероксидаза будалтаар шалгана. Жич: эерэг ба сөрөг хяналтыг шалгалтад ямагт хамт оруулна. Үхсэн эсхүл оношилгооны зорилгоор төхөөрсөн гахайнаас вирус ялган авахад гүйлсэн булчирхай хамгийн сайн тохирох эрхтэн

юм. Мөн түүний оронд эсхүл нэмээд дэлүү, бөөр, цутгалан гэдэс, тунгалгийн зангилаа ашиглаж болно. Оношилгооны аль ч лабораторид ашиглах үнээний хээлийн ийлдэс (ҮХИ) пестивирус болон *Pestivirus*-ийн эсрэгбие ямагт агуулаагүй байх хэрэгтэй. ҮХИ үйлдвэрлэгчийн баталгаанд найдах нь хангалтгүй байдаг учраас түүний цуврал бүрийг оношилгооны зорилгоор хэрэглэхийн өмнө пестивирус болон *Pestivirus*-ийн эсрэгбие агуулаагүй болохыг шалгаж тогтоох хэрэгтэй. Эс өсгөвөрлөх тэжээлт орчинд хийх ҮХИ-ийн эзлэх хувь (5–10%) тухайн лабораторийн эсийн өсгөвөрт дасгах, цааш ургуулан өсгөвөрлөхөд мөрддөг нөхцөлөөс хамаарна.

1.1.1. Вирус ялгах- 1 дүгээр аргачлал

i) Глутамин-антибиотикийн 100 дахин өтгөн нөөц уусмал бэлтгэх: глутамин (2.92 г)-ийг 50 мл нэрмэл усанд уусгаад (А уусмал) шүүх аргаар ариутгана. Дараах антибиотик тус бүрийг 5-10 мл ариутгасан нэрмэл усанд найруулна: пенициллин (10^6 олон улсын нэгж [ОУН); стрептомицин (1 г); микостатин (5 х 10^5 нэгж); полимиксин Б (15 х 104 нэгж); канамицин (1 г). Эдгээр уусмалыг нийлүүлнэ (Б уусмал). А ба Б уусмалыг үжилгүйжүүлсэн аргаар хольж 100 мл хүртэл ариун нэрмэл ус нэмээд 5 мл-ээр хувааж –20°С-д хадгална. Ариун нөхцөл хангагдсан, эсэд нөлөө үзүүлэхээргүй бол антибиотикийн бүрдэл нарийн байх нь чухал биш юм.

ii) Эдийн 1-2 г сорьцыг (эрхтний сорьц ойролцоогоор 1$см^3$) жижиглээд бага хэмжээний эсийн тэжээлт орчинд ариун элсний хамт хийж уур, нухуур эсхүл өөр хэрэгслээр нунтаглан нэгэн жигд зуурмаг болгоно. Үүний оронд нунтаглахад тохирох машин эсхүл 4°С -д жижиглэн жигдрүүлэгч автомат багаж ашиглаж болох ба энэ тохиолдолд эдийн сорьцыг хурц хутгаар жижиглээд 10-30 г-аар (эсхүл хэрэглэх тухайн багажид тохирох хэмжээгээр) тохирох саванд хийнэ. (Анхаар: сорьцыг өндөр хурдтай багажаар боловсруулахад амьд вирусийн тоо хэмжээ цөөрнө!)

iii) Хэнксийн тэнцвэржүүлсэн давсны уусмал (BSS) эсхүл Хэнксийн минимум эссенциал (МЕМ) орчин нэмж 10% (ж/э) цийдмэг болгоно. 10 мл цийдмэг тутамд 1 мл глутамин-антибиотикийн нөөц уусмал нэмнэ. Холимгийг тасалгааны хэмд 1 цаг байлгана.

iv) 1000–2500 *g*-д 15 минут хурилдуурдана. Дээд талын шингэнийг эсийн өсгөвөрт халдвар хийхэд ашиглана. Эс эмгэгшүүлэх нөлөө илэрсэн тохиолдолд 1/100 шингэлэлтийг зэрэгцүүлэн хэрэглэж болно. Шаардлагатай гэж үзвэл тариур хэлбэрийн шүүлтүүр хэрэглэн (0.45 мкм, дараа нь 0.22 мкм) ариутган шүүх арга хэрэглэж болно.

v) РК-15 дан үе эсийг трипсинжүүлээд эсийн цийдмэгийг 160 *g*-аар 10 минут хурилдуурдана. Дээд талын шингэн хэсгийг асгаад тунашийг өсгөвөрлөх орчинд (10 мл эсийн цийдмэг тутамд Еирлийн давстай Ийглийн МЕМ; 5–10% ҮХИ, хивэгчийн пестивирус болон *Pestivirus*-ийн эсрэгбие агуулаагүй; 0.2 мл глутамин-антибиотикийн нөөц уусмал) ойролцоогоор 2 х 106 эс/мл байхаар тооцож уусган сэргээнэ. Барагцаалбал 75 $см^2$ нэг колбо зохих төвшрүүлэг бүхий ойролцоогоор 50 мл эсийн цийдмэг буюу 8.5 х 10^6 эс агуулна.

Дээрх аргын оронд хурилдуурдахгүйгээр дараах арга зүйг хэрэглэж болно.

РК-15 дан үе эсээс өсгөвөрлөх орчныг асгаад 5 мл трипсин/версенийн тохируулсан (ATV) уусмалаар нэг эсхүл хоёр удаа угааж (250 мл колбод 5 мл ATV) ATV уусмалыг аваад шинэхэн ATV (250 мл колбод 2 мл ATV)-аар солино. Колбыг 37°С-д 5–15 минут эсхүл эс ховхортол байлгана. Дараа нь колбыг 5–10% ҮХИ агуулсан (250 мл колбод 8 мл орчин) эсийн өсгөврийн орчноор дүүргэн эсийг дахин сэргээнэ.

vi) Дараахын аль нэгийг сонгох:

Цийдмэгт халдвар хийх: эсийн цийдмэг (v дахь шатаас) есөн хэсэг, нэг хэсэг шинжлэх дээжийн дээд шингэн хэсгийг (iv дэх шатаас) холиод түүнээс 1.0-1.5 мл 6-8 ширхэг Лэйдэний бүрхүүл шилтэй хуруу шилэнд эсхүл эсийн өсгөврийн бусад тохирох колбо эсхүл аяганд халдвар хийнэ. Гурван хуруу шилэнд дан 1.0-1.5 мл эсийн цийдмэгээр халдвар хийж хяналтад авна. Дээжид халдвар хийж дууссаны дараа гурван хуруу шилэнд ГСМ өвчний вирус халдварлуулж эерэг хяналт болгоно. Эерэг нь тодорхой эдгээр вирусийн цийдмэгээс

хөндлөнгийн бохирдол үүсгэхгүй байх арга хэмжээ сайтар авна. Сөрөг эсийн өсгөвөр бэлтгэнэ. 5% CO_2 бүхий 37°C хэмд өсгөвөрлөнө.

эсхүл:

Урьдчилан бэлтгэсэн дан үе эсэд халдвар хийх: эд тус бүрээр: 1.0-1.5 мл эсийн цийдмэгийг (v дахь шатаас) 6-8 ширхэг Лэйдэний бүрхүүл шилтэй хуруу шилэнд эсхүл эсийн өсгөврийн бусад тохирох колбо эсхүл аяганд халдвар хийнэ. 37°C хэмд хамгийн багадаа 4 цаг, ихдээ 36 цаг (зайгүй үргэлжилсэн эсийн үе 50–80% тогттол) өсгөвөрлөнө. Дараа нь тэжээлт орчныг шавхаад дээд шингэн хэсгийг (iv дэх шатаас) 0.2 мл-ээр халдвар хийж 37°C хэмд 1-2 цаг өсгөвөрлөнө. Энэ хугацаанд эс хатах, үхэхээс хамгаалж 1-2 удаа аажуухан зайлж хөдөлгөхөөс гадна кальци магнигүй болгосон фосфатын буфержүүлсэн давсны уусмалаар (МФБУ) нэг удаа угаан зайлаад дээгүүр нь 1 мл өсгөвөрлөх орчин бүрхэн хийж 5% CO_2 бүхий орчинд 37°C хэмд өсгөвөрлөнө.

vii) Халдвар хийсний дараах 1, 2, 3 дахь хоногт хоёр өсгөврийг эерэг болон сөрөг хяналтын өсгөвөртэй хамт Хэнкс BSS, Хэнкс MEM, ФБУ-аар тус бүр 5 минутаар хоёр дахин угаагаад дараа нь бэхжүүлнэ. В.2.1 хэсэгт бичсэн эс бэхжүүлэх янз бүрийн арга хэрэглэж болно. Шилэн гадаргуу дээр өсгөвөрлөсөн эсийн өсгөврийг 100%-ийн ацетоноор (химийн задлан шинжилгээний зэрэглэлийн) 5 минут үйлчилж эсийг бэхжүүлнэ. Бэхжүүлэх өөр арга (жишээ нь 80°C-д наад зах нь 4 цаг эсхүл хонуут халуунаар бэхжүүлэх) хэрэглэж болно.

viii) Бэхжүүлсний дараа Б.1.2. хэсэгт бичсэний дагуу тохирох ажлын шингэлэлт бүхий ГСМ өвчний вирусийн эсрэг шууд эсхүл шууд бус коньюгатаар будна. ФБУ-аар тус бүр 5 минутаар 3 удаа угаасны дараа бүрхүүл шил дээрх өсгөврийг карбонат/бикарбонатаар буфержүүлсэн 90% глицеринд, pH>8.0, суулгаад флюоресцент гэрэлтэлт бүхий голомтыг харж шалгана.

Лейдэний хуруу шилний оронд 6 үүртэй бүрхүүл шил бүхий хавтан хэрэглэж болно. Мөн түүнчлэн хавтгай ёроолтой үүр бүхий бичил таньцын хавтан эсхүл М24 хавтанд ургуулсан өсгөврийг вирус ялгахад ашиглаж болох хувилбар бий. Энэ тохиолдолд пероксидаза холбоост саармагжуулах шинжилгээ (ПХСШ) гэсэн хойно өгүүлэх хэсэгт (ПХСШ; Хэсэг В.2.1) бичсэний дагуу хавтанг бэхжүүлж будна.

ix) Хэрэв гүйлсэн булчирхайн цийдмэг эсийг хордуулах нөлөөтэй нь илэрвэл түүнийг ахиулан шингэлэх эсхүл өөр эрхтэн хэрэглэх замаар шинжилгээг дахин хийнэ. Дан үе эсийг (дээрх) өмнө нь бэлтгэдэг аргыг хэрэглэвэл ийм асуудал гарахгүй.

1.1.2. Вирус ялгах- 2 дугаар аргачлал

ГСМ өвчнийг эрт оношлоход эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлэн өвчилсөн гахайн бүхэл цусны (гепарин эсхүл ЭДТА-аар боловсруулсан) сорьц сайн тохирно. Цусны цагаан эсийн үе эсхүл бусад бүрэлдэхүүн хэсгийг ашиглаж болох болов ч бүхэл цус хэрэглэх нь илүү хялбар учраас түүнийг чухалчилдаг. Дараах арга зүй хэрэглэнэ.

i) Бүхэл цусны сорьцыг –20°C-д хөлдөөгөөд 37°C-ын усан халаагуурт гэсгээн эсийг задална.

ii) М24-хавтан эсхүл бүрхүүл шилтэй Лейдэний хуруу шилэнд ойролцоогоор 50–80%-ийн зайгүй үргэлжилсэн ургалттай* болсон РК-15 дан үе эс дээр 100–300 мкл задарсан цус суулгаж түүнийг 37°C-д 1-2 цагийн турш эсийг хатаахгүй, үхүүлэхгүй байлгах үүднээс нэгээс хоёр удаа аяархан зайлж шингэх боломж олгоно. Дээж тус бүрээс ямагт хос өсгөвөр бэлтгэнэ.

iii) Суулгасан цусыг авч дан үе эсийг Хэнкс BSS эсхүл Хэнкс MEM эсхүл МФБУ-аар нэг удаа угаагаад өсгөвөрлөх шинэхэн тэжээлт орчин нэмнэ.

iv) Үргэлжлүүлэн 5% CO_2 бүхий дулаан тогтоогуурт 37°C-д 3-4 хоног

* Нэгэн зэрэг хийхэд мэдрэх чанараар үл мэдэг илүү ч аливаа гадаргууд эс наалдах чадварт цус үл бүлэгнүүлэгч бодис нөлөөлдөг учраас хэрэглэхэд тохиромж муу байдаг.

өсгөвөрлөсний дараа хавтанг хойно өгүүлэх ПХСШ-д бичсэний дагуу угаах, бэхжүүлэх, будах ба томорсон эсийн гадаргууд тохируулан үе шат бүрд 300 мкл-ийн эзлэхүүнийг хэрэглэнэ.

Жич: Энэ арга цочмог явцтай ГСМ өвчнийг илрүүлэхэд вирус ялгах ердийн аргаас (1 дүгээр арга) мэдрэх чанараар бага юм.

1.1.3. Вирус ялгах- 3 дугаар аргачлал

Мэдрэх чанарыг дээшлүүлэхэд хоёроос цөөнгүй удаагийн зорчуулалтаар вирус ялгана:

i) Эсийн өсгөврийн хуруу шилэнд эрхтний бэлдмэл эсхүл цусны задардсаас 200–300 мкл тарилт хийнэ (дор үз).

ii) Эсийн өсгөврийг 37°C-д 1-2 цаг өсгөвөрлөхдөө эсийг хатаахгүй, үхүүлэхгүй байлгах үүднээс нэгээс хоёр удаа аяархан зайлах ба МФБУ-аар хоёр удаа угаана.

iii) Өсгөврийг 5% CO_2 бүхий дулаан тогтоогуурт 37°C-д 72 цаг өсгөвөрлөнө. 5-10 % ФБУ бүхий Ийглийн МЕМ нь вирус өсгөвөрлөхөд маш сайн орчин юм. Дээж шинэхэн, эс хордуулах магадлал бага нөхцөлд нэгэн зэрэг тарилт хийх боломжтой.

iv) Эсийн өсгөврийн хуруу шил эсхүл хавтанг –80°C-д 1 цагаас багагүй хугацаагаар хөлдөөж дараа нь тасалгааны хэмд гэсгээнэ.

v) Эсийн өсгөврийн хуруу шил хэрэглэж байгаа бол тэдгээрийг 778 *g*-д 10 минут хурилдуурдана.

vi) Дээр дурдсан олон үүртэй хавтан эсхүл Лейдэний хуруу шилэн дэх эсийн өсгөврийн дээд талын 200–300 мкл шингэн хэсгийг 1-2 цаг өсгөвөрлөнө.

vii) Эсийн өсгөврийн хуруу шил эсхүл хавтанг МФБУ-аар угаагаад эсийн өсгөврийн орчноор дүүргэн 5% CO_2 бүхий дулаан тогтоогуурт 72-96 цаг байлгана.

viii) В.2.1. хэсэгт тодорхойлсны дагуу бэхжүүлж будна.

Тухайн өсгөвөр удаан ургаж байгаа юм шиг санагдвал өсгөврийн хуруу шилэнд хоёрдох зорчуулалт хийж өсгөврийн аяганд хийх гуравдах зорчуулалтад бэлтгэнэ.

Эерэг ба сөрөг хяналтыг ямагт адилхан аргаар бэлтгэж боловсруулна.

1.1.4. Урвуу транскрипцт полимеразагийн гинжин урвал (УТ-ПГУ)

УТ-ПГУ явуулах олон аргыг боловсруулсан бөгөөд одоо ч хөгжүүлсээр байна (Ganges нар, 2020; Postel нар, 2018). УТ-ПГУ ашиглан өвчний нууц үе, халдвар орогнож болох хожуу үе, өвчилсөн гахай эдгэрэх тохиолдолд удаан хугацаанд халдвартай амьтныг илрүүлж болно. УТ-ПГУ-аар зөвхөн вирусийн нуклеин хүчлийг илрүүлэх ба вирус ялган авах болон бусад аргаар шинжлээд сөрөг хариу гарсан тохиолдлыг энэ аргаар шинжлэхэд эерэг дүн үзүүлж болох юм. Ийм учраас УТ-ПГУ нь бусад аргаас (вирус ялгах, эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА, ФЭБУ зэрэг) илүү мэдрэмтгий юм.

УТ-ПГУ хурдан, мэдрэмтгий арга учраас түүнийг өвчний сэжигтэй тохиолдлыг илрүүлэх, баталгаажуулахад хэрэглэхэд тохирох арга хэмээн Европын холбоо зэрэг олон улс хүлээн зөвшөөрч хэрэглэж байна. Гэвч лабораторийн болзошгүй бохирдлоос үүдэлтэй хуурамч эерэг, дээжид ПГУ-ыг саатуулагч хүчин зүйл агуулагдаж байснаас хуурамч сөрөг үр дүн гарч болохыг санаж явах нь чухал юм. Ийм учраас өвчний эхний дэгдэлтийн шинжилгээний аливаа эерэг дүнг вирус ялгах эсхүл геномын өөр мужийг онилсон хоёрдох УТ-ПГУ тавих, эсхүл бодит цагийн УТ-ПГУ явуулах зэрэг бусад аргаар ямагт баталгаажуулж байх хэрэгтэй. Шинжилгээ хийх бүрдээ хангалттай тооны эерэг, сөрөг хяналтын дээж заавал шинжилж байх ёстойгоос гадна дотоод хяналтын дээж хамт шинжилж байхыг хатуу анхааран хэрэгжүүлнэ. ПГУ-ын талаар дэлгэрэнгүй мэдээллийг энэ бүлгийн 2.1.2. *Халдварт өвчний оношилгоонд хэрэглэх биотехнологийн дэвшил*, 2.2.3.

Нуклеин хүчил илрүүлэх шинжилгээний арга боловсруулах, оновчийг тохируулах бүлгийг тус тус уншина уу.

Шинжилгээний энэ аргаар ЭДТА бүхий цус, ийлдэс, хатуу эд эрхтэн, эсийн өсгөврийн дээд шингэнийг шинжилж болох ба өвчний дэгдэлтийн үеэр амжилттай хэрэглэж иржээ.

УТ-ПГУ явуулах амин чухал үе шат нь РНХ ялган авах юм. РНХ ялгахын өмнө болон дараа нь түүний бүрэн бүтэн байдлыг хангахад өндөр эрсдэл учирна. Иймд ялган авсан РНХ-ийн чанар, шинжилгээний үр дүнд нөлөөлдөг учраас РНХ ялгахын өмнө дээж боловсруулах, ялгасан РНХ-г хадгалахдаа болгоомжтой хандах хэрэгтэй. РНХ ялгах төрөл бүрийн аргыг боловсруулсан бөгөөд РНХ ялган авах өргөн сонголт бүхий цомгууд (роботоор ялгах систем бас бий) худалдаанд гарсан байна. РНХ ялгах аргыг лабораторидоо баталгаажуулсан байх хэрэгтэй.

Ердийн УТ-ПГУ, бодит цагийн УТ-ПГУ явуулах хэд хэдэн арга зүй боловсруулсан (Hoffmann нар, 2005; McGoldrick нар, 1998; Paton нар, 2000a; Risatti нар, 2005) ба аль тохирох арга зүйг хэвлэгдсэн мэдээллээс эсхүл ДМАЭМБ-ын ГСМ өвчний лавлах лабораториос [2] авч болно. УТ-ПГУ-ын үр дүнг агарозын гель дэх электрофорезоор (стандарт УТ-ПГУ) эсхүл лабораторийн орчинд ПГУ-ын бүтээгдэхүүн бохирдох эрсдэлийг дээд зэргээр бууруулдаг бодит цагийн хэмжлийн аргаар үнэлж гаргана. ГСМ өвний хээрийн омог, вакцины вирусийн С омгийг хооронд нь ялгаварлахад зориулсан бусад УТ-ПГУ-г боловсруулжээ. Зарим арга нь вакцины вирусийг, зарим нь ГСМ өвчний хээрийн өвөрмөц омгийг илрүүлэхэд голлон чиглэжээ (Liu нар, 2011; Zhao нар, 2008). УТ-ПГУ явуулах аливаа арга зүйг лаборатори тус бүр оношилгоонд ашиглахынхаа өмнө сайтар баталгаажуулж уг арга ажлын зорилгод нийцэж байгааг харуулсан байх ёстой. Аль ч УТ-ПГУ мэдрэх чанараараа наад зах нь вирус ялгах аргын түвшинд байгаа нь тогтоогдсон байх ёстой. Хофман нарын (Hoffmann нар, 2005) боловсруулсан, дараах праймерийн дараалал бүхий бодит цагийн УТ-ПГУ-ын арга зүй өргөн нэвтэрчээ. Хөтлөх праймер: CSF 100-F: 5’-ATG-CCC-AYA-GTA-GGA-CTA-GCA-3’, бага зэрэг өөрчилсөн буцаах праймер: CSF 192-R: 5’-CTA-YTG-ACG-ACT-RTC-CTG-TAC-3’. Пробын дараалал: CSF проб: 5’-FAM-TGG-CGA-GCT-CCC-TGG-GTG-GTC-TAA-GT-TAMRA-3’ (эсхүл BHQ1-3’). Олон улсын лаборатори хооронд харьцуулсан шинжилгээгээр энэ арга тогтвортой үр дүн өгсөн байна.

Зарчмын хувьд, сорьцыг нийлүүлээд шинжлэх боломжтой ч мэдрэх чанараараа наад зах нь дан сорьцоос вирус ялгах аргын мэдрэх чанараас өндөр байгааг харуулсан байх ёстой. Сорьц нийлүүлж шинжлэх аргыг хэрэглэхийн өмнө түүнийг сайтар баталгаажуулах хэрэгтэй.

ПГУ-аар оношлох ажилд чанарын хяналт чухал асуудал байдаг учраас лабораторийн бохирдлоос хамгаалах нь амин чухал юм.

1.1.5. Молекул эпидемиологи ба удамшлын хэвшил тогтоох

ГСМ өвчний молекул эпидемиологи нь ялган авсан вирус хоорондын удамшлын-генетик ялгааг харьцуулахад суурилна. ГСМ өвчний вирусийн РНХ-ийг УТ-ПГУ-аар олшруулан улмаар нуклеотидийн дараалал тогтоох нь эдгээр харьцуулалт хийх дарааллын мэдээлэл олж авах, мөн түүнчлэн вирусийн хувьсал, вирусийн омгийн гарал үүслийг тархвар зүйн үүднээс мөшгөн тогтоох, вирусээс хамгаалахад чиглэсэн вакцинжуулалтын үр нөлөөнд хяналт шинжилгээ хийх хамгийн энгийн арга юм. ГСМ өвчний вирусийн геномын янз бүрийн олон тооны мужийг молекул эпидемиологийн судлагдахуунаар сонгож болно (Paton нар, 2000b). Эдгээрээс хоёр мужийг эрчимтэй судалж шинээр ялган авсан вирусийг харьцуулж болох нуклеотидийн дарааллын арвин сан бүрдүүлжээ. Тэдгээрийн нэг нь геномын (150 нуклеотид) 5’-nontranslated муж (5’NTR) дотор, нөгөөх нь үндсэн Е2 гликопротеиний генийн дотор (190 нуклеотид) оршино. Товчхондоо, энэ арга эмнэл зүйн сорьц эсхүл ГСМ өвчний вирусээр цөөн зорчуулж халдварлуулсан эсийн өсгөврөөс вирусийн РНХ-ийг ялгах, УТ-ПГУ-аар 5’NTR эсхүл Е2 генийн дотор сонгож онилсон аль нэг эсхүл аль аль хэсгийг олшруулах, гарсан

[2] https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3

бүтээгдэхүүн дэх нуклеотидийн дарааллыг тогтоох, түүнийг генийн мэдээллийн санд хадгалагдаж байгаа нуклеотидийн дарааллын мэдээлэлтэй харьцуулах үйлдлийг хамарна. Нуклеотидийн дарааллын эдгээр мэдээллийг Герман улс дахь ДМАЭМБ-ын ГСМ өвчний лавлах лабораториос авч болно (Postel нар, 2016). ГСМ өвчний вирусийн болон бусад Пестивирусийн омгийн хэвшлийг нарийн тогтоох зорилгоор генийн олон мужид дүн шинжилгээ хийх аргыг өмнө тодорхойлсон болно (Becher нар, 2003). ГСМ өвчний ойр хамааралтай вирусийг хооронд нь ялгаварлахад Е2-ыг кодлогч бүрэн мужийг (1119 нуклеотид) задлан шинжлэх нь ач холбогдолтой стратеги болох нь харагджээ (Postel нар, 2012). Өвчний эхний дэгдэлтээс ялган авсан ГСМ өвчний вирусийг молекул эпидемиологийн судалгаа шинжилгээнд зориулан ДМАЭМБ-ын Лавлах лабораторид илгээх хэрэгтэй. Түүнийг илгээхийн өмнө эхлээд хүлээн авагч лабораторитой холбогдож импортын зөвшөөрөл олж авна. Өвчний анхны голомтоос ирүүлсэн вирусийн өсгөврийн шинж чанарыг дэлгэрэнгүй тогтоох, тэр дундаа геномын бүрэн дарааллыг өндөр бүтээмжтэй аргаар тодорхойлохыг чухалчлан зөвлөж байна.

1.2. Дархлаа судлалын арга

1.2.1. Флюоресцент эсрэгбиеийн шинжилгээ

Флюоресцент эсрэгбиеийн шинжилгээ (ФЭБШ) нь ГСМ өвчний вирусийн эсрэгтөрөгчийг гүйлсэн булчирхай, дэлүү, бөөр, тунгалгийн зангилаа, цутгалан гэдэсний төгсгөлийн хэсгийн хөлдөөсөн зүсмэгт илрүүлэх түргэн шинжилгээний арга юм. Эдийн сорьцыг хэд хэдэн (халуурсан болон/эсхүл өвчилсөн) амьтнаас (Bouma нар, 2001) авах ба хүйтэн нөхцөл бүрдүүлж хадгалааслагч бодис хэрэглэлгүй, хөлдөөлгүйгээр тээвэрлэнэ. Хөлдөөсөн зүсмэгийг флюоресцеин изотиоцианат (ФИТЦ) зэрэг флюоресцент маркертай коньюгатласан ГСМ эсрэг иммунглобулинээр шууд эсхүл хоёрдогч флюоресфент коньюгат ашиглан шууд бус аргаар будаад флюоресцэнцийн микроскопоор харж шалгана. Халдварын эхэн үед гүйлсэн булчирхайн эд шинжлэх нь илүү оновчтой бөгөөд учир нь халдвар нэвтэрсэн замаас үл хамаарч хамгийн түрүүнд гүйлсэн булчирхай вируст нэрвэгдэнэ. Цочмогдуу болон архаг явцтай үед ихэвчлэн цутгалан гэдэс эерэг дүн үзүүлж зарим үед эдийн дээжээс ганцаараа флюоресценц өгөх тохиолдох ч гарах ба амьд амьтны тухайд гүйлсэн булчирхайн сорьц шинжилгээнд тохиромжтой.

ФЭБШ-ээр шинжлэхэд сөрөг дүн үзүүлэх нь ГСМ өвчний халдварыг бүрэн үгүйсгэж чадахгүй. ГСМ өвчин үргэлжлээд байх төлөвтэй бол сорьц дахин авч УТ-ПГУ эсхүл эсийн өсгөвөрт вирус ялгах арга хэрэглэнэ. Зарим тохиолдолд өвчний сүүлийн шатанд саармагжуулагч эсрэгбие эерэг урвалыг далдлах нь бий.

ФЭБШ-г сайтар эзэмшээгүй лабораторид энэ аргыг хэрэглэхэд хуурамч үр дүн (эерэг ба сөрөг) гарах харьцангуй өндөр эрсдэлтэй байдаг. Ийм учраас энэ аргыг ашиглах туршлагатай, тогтмол ашигладаг, флюоресценцийг зөв үнэлэх сургалт дадлага хийсэн лабораторид л ФЭБШ-г ашиглах хэрэгтэй.

1.2.1.1. Шинжлэх аргачлал

Эдийн дээж шинжлэх бүрдээ эерэг болон сөрөг хяналтын зүсмэгийг хамт шинжилнэ. Шууд бус тэмдэглэх арга хэрэглэж байгаа бол халдварлуулсан хяналтын зүсмэгийг эхний эсрэгбиеийг тогтмол дулаанд барих боловсруулалт хийлгүйгээр бас хамт шинжилнэ. Хяналтын зүсмэгийг урьдчилан бэлтгээд ацетоноор бэхжүүлсний дараа –70°C-д хэрэглэх хүртлээ 2-3 жил хадгалж болно.

i) Гүйлсэн булчирхай, дэлүү, бөөр, цутгалан гэдэснээс 1 х 1 х 0.5 см хэрчмийг огтлон авч хөлдүү-цутгалтын бодис эсхүл хөлдөөгч тавцан дээрх нэрмэл усанд суулган бэхэлж өгнө.

ii) Эрхтний хэрчмийг хөлдөөгч тавцан дээр хөлдөөнө. Хөлдөөх температур –15°C-аас –20°C байна. Эдийн дээжийг шингэн азотод хөргөсөн н-Гептанд хийж огцом хөлдөөх сайн хувилбар бий.

iii) 4–8 мкм-ээс хэтрэхээргүй нимгэн зүсмэг бэлтгээд тосгүйжүүлсэн бүрхүүл шил дээр бэхэлнэ. Бүрхүүл шилний нэг буланг тайрч тэмдэглэгээ болгоод цаашид түүнийгээ нэг тийш (жишээ нь баруун хойд булан) харуулан бэхэлбэл ажилд

тустай.

iv) Эдийн дээж бүрд зориулан хэд хэдэн бүрхүүл шил бэлтгэнэ.

v) Тасалгааны хэмд 20 минут хатаана.

vi) Бэхэлсэн зүсмэгийг хатсаны дараа ацетонд (химийн задлан шинжилгээний зэрэглэлийн) –20°C-д 10 минут эсхүл 37°C-д 10 минут бэхжүүлнэ.

vii) ФБУ-д хальт дүрээд илүүдэл шингэнийг уудаг цаасаар авч чийгшүүлэгчтэй, тогтмол дулаантай хайрцагт баруун хойд тайрмал булангаар байрлуулна.

viii) Ажлын шингэлэлт (ФБУ-д шингэлсэн) бүхий ГСМ эсрэг иммунглобулинийг үндсэн зүсмэг дээр тараагаад хаалгыг нь хаасан харанхуй 37°C-ын хайрцагт 30 минут байлгана. Дараа нь коньюгатын уусмал ууршчихаагүй, эдийн зүсмэг хатчихаагүй болохыг шалгаж тогтооно.

Хоёрдогч ФИТЦ-ын коньюгат шаардлагатай гэж үзвэл зүсмэгийг тасалгааны хэмд ФБУ-аар тус бүр 2 минутаар таван удаа угаагаад ажлын шингэлэлт бүхий ФИТЦ-ын коньюгат нэмж өмнө дурдсанаар тогтмол температурт байлгана.

ix) Зүсмэгийг тасалгааны хэмд ФБУ-аар тус бүр 2 минутаар таван удаа (эсхүл гурван удаа 5 минутаар) угаана.

x) Зүсмэгийг дахин нэрсэн усанд (уусгагч) хальт дүрнэ.

xi) Шаардлагатай бол Эвансийн хөхөөр 30 секунд тодосгох будалт хийнэ.

xii) Зүсмэгийг уудаг цаасан дээр тавьж байгаад тогшин үлдэгдэл шингэнийг аваад бүрхүүл шилийг (бүрхүүл шил, тавиур шилний хооронд зүсмэг байх) тавиур шил дээр бэхлэгч буферээр бэхэлнэ.

xiii) Бэхлэгч илүүдэл шингэнийг уудаг цаасаар аваад зүсмэгийн флюоресценц гэрэлтэлтийг UV микроскопоор харж шалгана.

ГСМ өвчнөөр эерэг зүсмэгт халдвартай эсийн цитоплазмд алмаас эрдэнийн гялалзсан гэрэлтэлт харагдана. Гүйлсэн булчирхайд ялангуяа түүний хонхрын хучуур эд илэрхий тод гэрэлтэж харагдана. Бөөрний зүсмэгт бөөрний холтослог давхаргын ойрын болон холын тахир сувганцарт, бөөрний тархилаг давхаргад шээс цуглуулах цоргонд флюоресценц гэрэлтэлт хамгийн их байна. Цутгалан гэдсэнд флюоресценц гэрэлтэлт Либеркуны *булчирхай*н хучуур эсэд хамгийн тод байх бол харин дэлүүнд гэрэлтэлт сарнисан, артерийн судас орчимд лимфоид эсийн бөөгнөрөл үүснэ.

Ямар ч эмгэг төрүүлэгчгүй тусгай орчинд өсгөсөн гахайн ГСМ өвчний вирусийн эсрэг олон гарлын эсрэгбиеэс бэлтгэсэн ГСМ өвчний вирусийн эсрэг гамма-глобулиныг хэрэглэхийг зөвлөдөг. Үүнийг хэрэглэснээр вирусийн ямар ч жижиг хувилбарыг алдалгүй илрүүлэх боломжтой бөгөөд харин дутагдалтай тал нь янз бүрийн пестивирусийн эсрэгтөрөгчийг хооронд нь ялгаварлаж чаддаггүйд оршино. ГСМ өвчний вирусийг бусад пестивирусээс, ялангуяа ГСМ өвчнөөр тайван нутагт ялгаварлахын тулд ФЭБШ-ээр эерэг гарсан дээжээс хос дээж бэлтгэн ГСМ өвчний вирус болон бусад пестивирусийг (тухайлбал ҮВД өвчний вирус, хилийн өвчний вирус) хооронд нь ялгаж чаддаг ижил гарлын эсрэгбие (ИГЭБ) ашиглан шинжилнэ (Б.1.2.2 дугаар хэсэг). Оношийг баталгаажуулахын тулд УТ-ПГУ-ын (генетикийн хэвшил тогтоосон) үр дүнг эсхүл эсийн өсгөвөрт вирус ялган ИГЭБ ашиглан хэвшлийг тогтоосон үр дүнг хүлээх өөр нэг хувилбар бий.

Вакцины өөрчилсөн амьд вирусийн (ӨАВ) омог ихэвчлэн тунгалгийн захын зангилаа, гүйлсэн булчирхайн хонхрын хучуур эдэд үржинэ. ӨАВ омгоор вакцинжуулсан гахай вакцинжуулснаас хойш 2 долоо хоногийн дараа ФЭБШ-ээр шинжлэхэд эерэг дүн үзүүлж магадгүй юм (Ogawa нар, 1973). УТ-ПГУ-ын бүтээгдэхүүнд нуклеин хүчлийн дараалал тогтоох нь ГСМ өвчний хээрийн өсгөвөр, вакцины омгийг хооронд ялгаварлах боломж олгоно.

Коньюгатын ажлын шингэлэлтэд (1/30-аас багагүй) флюоресценцийн гэрэлтэлт хамгийн тод суурь өнгө хамгийн бага байна. Хүүрийн задрал, бактерийн бохирдол суурь гэрэлтэлтийг ихэсгэдэг учраас энэ шинжилгээг зөвхөн үхээд удаагүй амьтнаас авсан дээжид хийнэ.

1.2.2. Пестивирусийг ижил гарлын эсрэгбиеэр ялгаварлах иммун пероксидазагийн арга зүй

Ижил гарлын гурван янзын эсрэгбиеийг тунхууны пероксидаза эсхүл флюоресценцийн маркерийн аль нэгтэй коньюгатлаад эсхүл хулгана-эсрэг коньюгаттай холбон хэрэглэх нь ГСМ өвчний бүх хээрийн омог, ГСМ өвчний вирусийн болон ҮВД өвчний вакцины омгийг өвөрмөцөөр илрүүлэх боломжтой бөгөөд ингэснээр нэг талаас ГСМ өвчний хээрийн болон вакцины омгийг, нөгөө талаас ГСМ өвний вирус, ҮВД өвчний вирусийг хооронд нь мадаггүй ялгаварлах боломж олгож байна (Edwards *нар,* 1991). Үүний онцлог нь ГСМ өвчний вирусийн ИГЭБ бүх хээрийн омгийг, вакцины эсрэг ИГЭБ тухайн улсад хэрэглэж байгаа бүх вакцины омгийг ялгадагт оршино. *Бүх пестивирустэй ийнхүү сонгомол байдлаар урвалд ордог нэг ч ИГЭБ байхгүй юм* (Edwards нар, 1991). Вакцин хэрэглээгүй нутагт ГСМ өвчний вакцины омгийг ялгаварлахад ИГЭБ хэрэглэх хэрэггүй. Тунхууны пероксидазатай коньюгаталсан ГСМ-эсрэг олон гарлын иммунглобулиныг эерэг хяналтаар ашиглана. Ганцхан төрлийн ИГЭБ ашиглан гаргасан үр дүнгээр тухайн ялгасан вирус ГСМ өвчний үүсгэгч гэсэн баталгаа гаргахаас болгоомжлох хэрэгтэй. Найдвартай ИГЭБ, тэдгээрийн нийлүүлэгчийн талаар ГСМ өвчний ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториос зөвлөгөө авч болно. Ердийн нөхцөлд гахайд халдварлаж болох ҮВД өвчний янз бүрийн генетик хэвшил илэрсэн тохиолдол, хивэгч амьтдын бусад пестивирус тодорхойлогдох нь ихсэж байгаа нь ГСМ өвчний вирусийг бусад пестивирусээс ИГЭБ-ээр ялгаварлахад хүндрэл учруулна. Иймд ГСМ өвний вирусийг бусад пестивирусээс найдвартай ялгаварлахад УТ-ПГУ тавих, улмаар нуклеотидийн дараалал тогтоох аргыг зөвлөдөг юм.

Эдийн дээж шинжлэх бүрдээ эерэг болон сөрөг хяналтын зүсмэгийг хамт шинжилнэ. Шууд бус тэмдэглэх арга хэрэглэж байгаа бол халдварлуулсан хяналтын зүсмэгийг эхний эсрэгбиеийг тогтмол температурт байлгах боловсруулалт хийлгүйгээр бас хамт шинжилнэ. Хяналтын зүсмэгийг урьдчилан бэлтгээд ацетоноор бэхжүүлсний дараа –70°C-д хэрэглэх хүртлээ 2-3 жил хадгалж болно.

1.2.2.1. Шинжлэх аргачлал

i) ФЭБА-аар шинжлэхэд эерэг дүн үзүүлсэн гүйлсэн булчирхайн эсхүл гүйлсэн булчирхай байхгүй бол өөр эерэг эрхтний сорьцоос (дээр дурдсан ФЭБА-аар) найм эсхүл түүнээс олон хөлдүү зүсмэг (4–8 мкм) бэлтгэнэ.

ii) Зүсмэгийг бүрхүүл шил дээр байрлуулаад тасалгааны хэмд 20 минут хатааж химийн задлан шинжилгээний зэрэглэлийн ацетонд –20°C-д 10 минут бэхжүүлээд агаарт хатаана.

iii) Тохирох ИГЭБ-пероксидазагийн коньюгатыг ФБУ + 0.01% Твин + 5% адууны ийлдэс, pH 7.6 -д ажлын шингэлэлтээр бэлтгэнэ. (хоёрдох коньюгат хэрэглэж байгаа бол ФИТЦ-ИГЭБ, мөн түүнчлэн коньюгатлаагүй ИГЭБ хэрэглэж болно)

iv) Зүсмэгийг ФБУ-д хальт дүрээд илүүдэл шингэнийг уудаг цаасаар авч чийгшүүлэгчтэй, тогтмол дулаантай хайрцагт баруун хойд тайрмал булангаар байрлуулна.

v) Хоёр зүсмэг дээр ажлын шингэлэлт бүхий тохирох ижил гарлын коньюгатаар, өөр хоёр зүсмэг дээр ажлын шингэлэлт бүхий тохирох олон гарлын коньюгатаар (хяналт) бүрхэнэ.

vi) Хаалгыг нь хаасан харанхуй 37°C-ын хайрцагт 30 минут байлгана. Дараа нь коньюгатын уусмал ууршчихаагүй, эдийн зүсмэг хатчихаагүй болохыг шалгаж тогтооно.

vii) Зүсмэгийг тасалгааны хэмд ФБУ-аар тус бүр 10 секундээр зургаан удаа угаана.

viii) Зүсмэгийг шинээр бэлтгэсэн хромоген-субстратын* уусмалаар тасалгааны хэмд 5-15 минут будна.

ix) Зүсмэгийг 0.05 М цууны хүчлийн натрид, pH 5.0, дараа нь нэрмэл усанд зайлаад тавиур шил дээр бэхэлнэ.

x) Зүсмэгийг гэрлийн микроскопоор харж шалгана. Цитоплазм гүн улаанаар будагдсан бол холбогдох коньюгат ялгарсан вирусийг -вирусийн өсгөврийг таньж холбогдсоныг харуулах ба ийм дээжийг эерэг гэж үзнэ.

xi) Шинжилгээний үр дүнг үнэлэх:

Олон гарлын эсрэгбие	Доорх омогт өвөрмөц ижил гарлын эсрэгбие			Үнэлгээ
	ГМС омог	ГСМ вакцины омог	ҮВД вирусийн омог	
+	+	-	-	ГСМ өвчний хээрийн омог
+	+/-	+	-	ГСМ өвчний вакцины омог
+	-	-	+	ҮВД/хилийн өвчин үүсгэгч
+	-	-	-	ГСМ бус бусад *Pestivirus*[†]

[†]ГСМ өвчин үүсгэгч шинэ омог гарч болохыг ямагт санаж ГСМ өвчин гарч болох сэжигтэй тохиолдлоос гаралтай аливаа өсгөврийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораторид илгээж байх хэрэгтэй.

* Хромоген субстратын уусмал

A. Хромогений нөөц уусмал: 0.4% 3-амино-9-этил карбазол; N,N-диметил-формамид (1 мл).
Болгоомжил **ХОРТОЙ нэгдэл**. Энэ хоёр химийн бодис аль аль нь хавдар үүсгэдэг, нүд, арьс, амьсгалын замыг цочроно..

B. 0.05 М цуу хүчлийн натри, pH 5.0; 19 мл (мембран шүүлтүүрээр шүүж ариутгасан).

C. Субстратын нөөц уусмал (30% ус төрөгчийн хэт исэл).

А ба С нөөц уусмалыг 4°С-д харанхуй газар, В уусмалыг тасалгааны хэмд байлгана. 4°С-д А нөөц уусмалыг багадаа 6 сар, С уусмалыг нэг жил хадгалж болно. Хэрэглэхийнхээ яг өмнө 1 мл А уусмалыг 19 мл В уусмалд уусгана. Дараа нь 10 мл С нөөц уусмал нэмнэ. Сайн холиод зүсмэгийг будна.

1.2.3. Эсрэгтөрөгч илрүүлэх шинжилгээ

Халдвар авааД удаагүй байх сэжигтэй сүрэгт илрүүлэх шинжилгээ хийж амьд гахайд ГСМ өвчнийг түргэн оношлоход зориулсан эсрэгтөрөгч илрүүлэх энзим холбоост дархлааны урвалыг (ЕЛИЗА) боловсруулжээ. Энэ ЕЛИЗА нь ийлдэс, цусны цагаан эсийн бүлэг эсхүл бүлэгнүүлээгүй бүхэл цус алинд нь ч вирусийн янз бүрийн уургийн эсрэг ижил гарлын болон/эсхүл олон гарлын эсрэгбие ашигласан, хоёр эсрэгбиеийг давхарласан хэлбэрийн ЕЛИЗА юм. Үүнээс гадна зарим ЕЛИЗА цомог нь ийлдэс болон жижиглэн жигдрүүлээд тунгалагжуулсан эдийн дээж шинжлэхэд хэрэглэнэ. Энэхүү шинжилгээнд эсийн өсгөврийн тусгай багаж хэрэгсэл шаардлагагүй, автоматжуулахад тохиромжтой, үр дүн нь хагас өдөрт гардаг, хэрэглэхэд хялбар арга юм. Мэдрэх чанарын хувьд ялангуяа нас гүйцсэн гахайд вирус ялган авахаас доогуур байдаг сул талтай ба өвчний хөнгөн эсхүл эмнэл зүйн шинж тэмдэггүй тохиолдолд халуурах болон эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлсэн гахай бүхий сэжигтэй сүргийн бүх гахайг шинжлэх шаардлага гарна. Гэвч эдгээр аргын өвөрмөц чанар доогуур учир өвчин үүсгэгч илрүүлэх бусад арга (вирус ялгах, УТ-ПГУ, ФЭБШ) хэрэглэхийг зөвлөдөг.

Энэ арга ГСМ өвчнийг бодгаль амьтанд оношлоход тохиромжгүй б зөвхөн сүргийн түвшинд хэрэглэнэ.

Өвчний анхны тохиолдолд эерэг гарсан үр дүнг өөр арга (вирус ялгах, УТ-ПГУ, ФЭБШ) ашиглан баталгаажуулна.

2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ

ГСМ өвчний дархлаа дарангуйлах нөлөөний улмаас халдвар авснаас хойш 21-ээс доошгүй хоногт эсрэгбие үнэмшилтэй түвшинд илрүүлэх боломжгүй байдаг. Сүргийн түвшинд, ялангуяа үржлийн сүрэгт үлдсэн халдварын голомтыг илрүүлэхэд чиглэсэн ийлдсийн судалгаа шинжилгээ ГСМ өвчнийг устгах төгсгөлийн шатанд ач холбогдолтой байж болно. Эсрэгбиеийн таньцыг тогтоох нь эпидемиологийн үнэ цэнтэй мэдээлэл болох ба вирус нэвтэрсэн замыг илрүүлэхэд хэрэгтэй байх болно. Эсрэгбие илрүүлэх шинжилгээ нь ГСМ өвчний вакцинжуулалтын дараах хариу урвалыг үнэлэх хамгийн ач холбогдолтой арга бөгөөд вакцинжуулалтын хөтөлбөрийн салшгүй бүрэлдэхүүн хэсэг юм.

Хивэгч малын пестивирусийн халдварын тохиолдол ялангуяа үржлийн сүрэгт их гардаг учраас чухамдаа ГСМ, ҮВД, хилийн өвчний эсрэгбиеийг хооронд нь ялгаварлаж чадах шинжилгээний арга л ач холбогдолтой, вирус саармагжуулах, ИГЭБ ашигладаг ЕЛИЗА арга мэдрэх чанарын шаардлага

хангах ба харин гарсан эерэг үр дүнг харьцуулалт бүхий вирус саармагжуулах урвалаар баталгаажуулна.

Саармагжуулах урвалыг эсийн өсгөвөрт вирус нь тогтмол – ийлдэс нь янз бүр байх аргаар явуулна. ГСМ өвний вирус эс эмгэгшүүлдэггүй учраас эс үржүүлсний дараа саармагжаагүй элдэв вирусийг илрүүлэгч системээр илрүүлнэ. Үүнд ПХСШ болон вирус саармагжуулах флюоресцент эсрэгбиеийн арга ВСФЭБШ хамгийн өргөн хэрэглэгдэнэ. Аль аль аргыг бичил таньцын хавтанд гүйцэтгэнэ. Эдүгээ ПХСШ системийг илүүтэй хэрэглэж байгаа ба түүний үр дүнг уншихад хялбар, урвуу гэрлийн микроскоп ашиглан үр дүнг илрүүлэх давуу талтай юм.

2.1. Пероксидаза холбоост саармагжуулах шинжилгээ (ПХСШ)

Үүрний ёроол нь хавтгай бичил таньцын хавтанд ПХСШ явуулна. Хавсаргыг идэвхгүйжүүлэх, бактериар бохирдох эрсдэлийг багасгахын тулд вирус саармагжуулах урвал явуулахын өмнө ийлдсийг 56°C-д 30 минут идэвхгүйжүүлнэ. Олон улсын худалдааны зорилгоор хийх шинжилгээнд 1/5 анхны шингэлэлт бүхий ийлдэс (1/10 эцсийн шингэлэлт) ашиглах нь хамгийн зөв юм. Тухайн улсын доторх тандалтын ажилд 1/10 илрүүлэлтийн шингэлэлт (1/20 эцсийн шингэлэлт) хангалттай. Тохирсон хяналтын дээжийг шинжилгээ хийх бүрдээ хамт шинжилж урвалын өвөрмөц ба мэдрэх чанарыг хангана.

2.1.1. Шинжлэх аргачлал

i) Өсгөвөрлөх орчинд (Ийглийн МЕМ, 5–10% ҮХИ, антибиотик) ийлдсийг шингэлээд 50 мкл-ийг бичил таньцын хавтангийн хос үүрэнд хийнэ. ҮХИ нь хивэгчдийн пестивирус болон ҮВД, бусад пестивирусийн эсрэгбие аль алиныг агуулаагүй байх ёстой. Дээж бүрд зориулан гуравдах үүр гаргана. Энэ үүрэнд ийлдсийг дангаар нь вирусгүй хийх ба энэ нь ийлдсийн хяналт болно (эс эмгэгшүүлэх нөлөө болон/эсхүл өвөрмөц бус будагдалт).

ii) Өсгөвөрлөх орчноор 50 мкл-д ойролцоогоор 100 $TCID_{50}$ (эдийн өсгөврийн 50% халдварлуулах тун) агуулагдтал шингэлсэн 50 мкл вирусийн цийдмэгийг үүрнүүдэд нэмээд бичил хавтан зайлагч дээр 20 секунд тавьж доторх агуулагдахууныг холино. ГСМ Alfort 187 (генийн хэвшил 1.1) бол нийтлэг хэрэглэгддэг вирус юм. Хэдийгээр ГСМ өвчин үүсгэдэг ганцхан ийлдсэн хэвшил байдаг ч энэ шинжилгээнд ашиглаж байгаа вирусийн генийн хэвшлээс хамааран эсрэгбиеийн таньц янз бүр байх учраас сүүлийн үеийн генийн хэвшил болон тухайн улс, түүнтэй холбоотой улс оронд эргэлдэж байгаа хээрийн вирусийн өсгөврийг ашиглахыг чухалчлан зөвлөдөг юм. Лабораторийн ажилтай холбоотой аюулгүй ажиллагааг хангах үүднээс вакцины омгийг дээр зөвлөсөн вирус шиг ашиглаж болно.

iii) Хавтанг CO_2 бүхий дулаан тогтоогуурын чийгээ барьдаг хайрцагт 37°C-д 1 цаг байлгана.

iv) Хавтангийн бүх үүрэнд 2 х 105 РК-15 эс/мл агуулсан өсгөвөрлөх орчин нэмнэ.

v) Вирусийн урвуу таньцлалт хийж саармагжуулалт хийх хавтантай хамт байлгана.

vi) Эсийг 5% CO_2 бүхий дулаан тогтоогуурт 37°C-д үргэлжилсэн ургалттай болтол ургуулах ба үүнд ихэвчлэн 3-4 хоног шардагдана.

vii) Өсгөвөрлөх орчныг асгаад хавтанг 0.15 М NaCl эсхүл ФБУ-аар нэг удаа зайлна.

viii) Хавтанг алчуур дээр тавьж хатаана.

ix) дан үе эсийг бэхжүүлэх, вирус идэвхгүйжүүлэх хэд хэдэн аргын нэгийг хэрэглэнэ:

   а. Хавтанг 37°C-д 45 минут байлгаад дараагийн 45 минутаас доошгүй хугацаанд –20°C-д байлгана. Хөлдөөгчөөс хавтанг гаргаж үүрнүүдийг ФБУ-д 4%-иар бэлтгэсэн параформальдгидийн уусмал 100 мкл дүүргээд тасалгааны хэмд дахин 5-10 минут байлгана. Параформальдгидийг асгаад хавтанг 0.15 М NaCl -аар зайлна, эсхүл

   б. Хавтанг 70–80°C -д 2-3 цаг байлгана, эсхүл

в. Хавтанг 80%-ийн ацетонд бэхжүүлээд 70–80°C -д 1 цаг байлгана, эсхүл

г. Хавтанг ФБУ-д бэлтгэсэн 20%-ийн ацетонд 10 минут бэхжүүлээд 20–30°C-д 4 цаг хатаана. (Үс хатаагчаар түргэн хатааж болно, 3-5 минутын дараа бүрэн хатахад дан үе эс цайж харагдана), эсхүл

д. Хавтанг мөс шиг хүйтэн 99%-ийн этилийн спиртээр угааж 99%-ийн этанолд 45 минут бэхжүүлнэ. (Яаралтай будах шаардлагатай)

x) Үүр бүрд (96 үүрт хавтан) 1% Твин + 0.1% азид натри агуулсан pH 7.6 бүхий0.5 M NaC-д шингэлсэн ГСМ өвчний гахайн хэт дархлаатийлдэс эсхүл ИГЭБ 50 мкл нэмнэ. Твин 20 эсхүл Твин 80 хэрэглэж болно. 37°C-д наад зах нь 15–30 минут байлгана. Таньцлахийн өмнө эсрэг ийлдсийн ажлын шингэлэлтийг тогтооно: өөрөөр хэлбэл ПХСШ 1/30,000, таньцтэй ийлдсийг 1/100-д шингэлэн хэрэглэж болно..

xi) Хавтанг 1% Твин агуулсан, pH 7.6 бүхий 0.15 M NaCl эсхүл Твин агуулсан ФБУ-аар 3-5 удаа, дараа нь нэрмэл усаар нэг удаа угаана.

xii) Хавтангийн үүр бүрд 1% Твин агуулсан, pH 7.6 бүхий 0.15 M NaCl-д ажлын төвшрүүлэгтэй болтол шингэлсэн гахай-эсрэг эсхүл хулгана эсрэг тунхууны пероксидаза – IgG коньюгат 50 мкл нэмээд 37°C-д наад зах нь 15-30 минут харанхуй нөхцөлд байлгана.

xiii) Хавтанг 1% Твин агуулсан, pH 7.6 бүхий 0.15 M NaCl-аар 3-5 удаа угаана.

xiv) Үүр бүрд 50 мкл хромогений субстрат нэмж тасалгааны хэмд 15-30 минут будна. Энэ уусмалын талаар Б.1.2.2 пестивирусийг ИГЭБ-ээр ялгаварлах иммун пероксидазагийн арга гэсэн хэсэгт тодорхойлов.

xv) Дээд талын шингэнийг асгаад 1/3 харьцаатай ФБУ нэрмэл усаар нэг удаа угаана.

xvi) Шинжилгээний дүнг энгийн нүдээр харж уншина. Халдварласан үе эсийн цитоплазм нь нэлэнхийдээ эсхүл хэсэгчлэн улаавтар хүрэн өнгөөр будагдана. Бага чадлын микроскопоор дан үе эсийг шалгаж эцсийн цэгийн таньцлалтийг тогтооно. Халдвартай эсийн цитоплазм гүн улаанаар будагдана. Шинжилгээнд хоёр давтан хэрэглэх үүрэнд вирусийн өсгөвөржилтийг 50% саатуулж байгаа ийлдсийн хамгийн өндөр шингэлэлтийн эсрэг утгаар саармагжуулах таньц илэрхийлэгдэнэ. Таньцыг Карберийн (1931) тэгшитгэлээр тооцоолж болно.

xvii) Дараах хяналтыг шинжилгээнд хэрэглэнэ: эсийн хяналт, эерэг ийлдэс, шинжилж байгаа вирусийн урвуу таньцлалт. Саармагжуулалт хийх хавтанд нэмсэн урвуу таньцлалтад орох вирусийн шингэлэлт нь 4 log шингэлэлтийн хязгаарт байх ёстой. Чанарын дотоод хяналтын үүрэгтэй урвуу-таньцлалт нь 30-300 $TCID_{50/50}$ мкл-ийн төвшрүүлэгтэй вирус болохыг баталгаажуулна. Таньц нь мэдэгдэж байгаа ГСМ-ын эсрэгбиеийн лавлагаа эерэг ийлдсийг хамт хэрэглэх хэрэгтэй. Хэрэв лавлагааны ийлдэс нь зөв үр дүн үзүүлэхгүй, урвуу-таньцлалт нь хязгаараас давсан бол шинжилгээг давтан хийнэ. Лавлагааны ийлдсэнд лабораторийн дотоод журмын дагуу тодорхой хугацаанд хяналт-шинжилгээ хийж байна.

xviii) Урвуу таньцлалтийн таньцыг Карберийн (1931) тодорхойлсон аргаар тооцоолно.

Жич. Тогтмол температурт байлгах дээр заасан хугацаа бол зөвхөн баримжаа юм. Урвалжийг нөөцлөн хадгалахын тулд урвалжийн шингэлэлтийг оновчтой болгоод илүү удаан хугацаагаар тогтмол температурт байлгаж болно.

2.2. Флюоресцент эсрэгбие саармагжуулах шинжилгээ (ФЭСШ)

2.2.1. Лейдений хуруу шил, эсийн өсгөврийн бусад тохирох лонх, хавтангийн арга

i) Бүрхүүл шилтэй Лейдэний хуруу шил эсхүл эсийн өсгөврийн бусад тохирох лонх, хавтанд РК-15 эсийн 2 × 105 эс/мл төвшрүүлэгтэй цийдмэгийг суулгана.

ii) Өсгөврийг эсийн 70–80% нь үргэлжилсэн ургалттай болтол 37°C-д 1-2 хоног байлгана.

iii) Ийлдэсний хавсаргыг 56°C-д 30 минут байлгаж идэвхгүйжүүлнэ. Олон улсын худалдааны зорилгоор хийх шинжилгээнд хэрэглэх ийлдэсний анхны шингэлэлт 1/5 (1/10 эцсийн шингэлэлт) байх нь хамгийн зохистой.

iv) ГСМ өвчний вирус 200 $TCID_{50}$ агуулсан, ижил хэмжээний вирусийн цийдмэгээр шингэлсэн ийлдсийг 37°C-д 1-2 цаг байлгаад ийм маягаар ГСМ өвчний вирус 100 $TCID_{50}$ тогтмол агуулсан цийдмэгийг урвал бүрийн үүрэнд хэрэглэнэ.

v) Эсийн өсгөврөөс тэжээлт орчныг асгаад эсийн үе дээр ийлдэс/вирусийн холимгийг (iv үе шатаас) үелүүлж нэмээд чийглэг агаартай орчинд 37°C-д 1 цаг байлгана.

vi) Эсийн өсгөвөрт шаардагдах хэмжээний тэжээлт орчин нэмээд дахиад 2-3 хоног байлгана.

vii) Эсийн өсгөврөөс тэжээлт орчныг асгаад дан үе эсийг ФБУ-аар, pH 7.2 тус бүр 5 минутаар 2 удаа угааж цэвэр ацетон эсхүл параформальдгидаар 30 минут бэхжүүлнэ. Угаахаас өмнө 37°C-д 30 минут ажлын шингэлэлт бүхий коньюгатаар будна.

viii) Лейдэний хуруу шил ашиглаж байгаа бол бүрхүүл шилийг үрмэл захгүй тавиур шил дээр карбонат/бикарбонатаар буфержүүлсэн 90% глицеринээр pH>8.0 бэхлээд флюоресценц гэрэлтэлтийг шалгана. Хэрэв эсийн өсгөврийн лонх, хавтан ашиглаж байгаа бол түүн дээр шаардагдах хэмжээний ФБУ-ыг нэмж флюоресценц гэрэлтэлтийг шалгахаас өмнө эс хатчихаас хамгаална.

Бичил таньцын хавтанд ФЭБШ хийж байгаа үед ПХСШ арга зүйг іх дүгээр шат хүртэл (Б.2.1.1 хэсгийг үз) даган мөрдөж болно. Хавтанг дараа нь 37°C-д 30 минут ажлын шингэлэлт бүхий коньюгатаар будаад флюоресценц гэрэлтэлтийг шалгана. Жич: Флюоресценц гэрэлтэлт илрүүлбэл урвуу микроскопоор их өсгөлтийн дурандуур ашиглан бичил хавтангийн эгц дээрээс харж шалгах нь хамгийн зохистой юм.

2.3. ГСМ өвчний вирусийн халдвар, бусад пестивирусийн халдварыг хооронд нь ялгаварлах вирус саармагжуулан харьцуулах урвал

ҮВД, хилийн өвчин, бусад пестивирусээр халдварласан гахайн ийлдэс ФЭСШ болон ПХСШ-д саармагжуулах эсрэгбиеийн солбицох хариу урвал үзүүлдгээс тухайн гахай ГСМ өвчнөөр өвчилсөн мэт хуурамч эерэг дүн үзүүлж болзошгүй юм. Солбицох урвалын далайц нь *Pestivirus*-ийн тухайн омог, халдварласан болон шинжилгээний сорьц авсан хугацаанаас хамаарна (Wensvoort нар, 1989). ГСМ өвчний вирусийн халдвар болон бусад пестивирусийн халдвараар аль нь эерэг болохыг ийлдэс судлалын шинжилгээгээр хооронд нь ялгаварлаж чадахгүй нөхцөлд түүнийг тухайн улс эсхүл бүсийн төлөөлөл болж чадах ГСМ өвчний нэг эсхүл хэд хэдэн омог, ҮВДӨВ-ийн омог, хилийн өвчний наад зах нь нэг омог ашиглан харьцуулах шинжилгээ хийж баталгаажуулна. Вирус саармагжуулан харьцуулах урвал нь сэжигтэй ийлдэсний дээжийн хоёр дахин дараалсан ижил шингэлэлтийг вирусийн сонгосон омог тус бүрийн 100 $TCID_{50}$-ийн эсрэг хосоор шинжлэх эцсийн цэгийн таньцлалтын арга юм. Вирус саармагжуулан харьцуулах урвалыг ФЭСШ эсхүл ПХСШ арга зүйгээр явуулах ба ҮВДӨВ болон хилийн өвчний вируст тохирсон дамжмал эс нь хэрэглэнэ. Саармагжуулах таньц нь хоёр ижил үүрний 50%-д вирус өсгөвөрлөгдөхөөс сэргийлэх ийлдсийн хамгийн өндөр шингэлэлтийг урвуу утгаар илэрхийлдэг. Гурав дахин ялгаатай эсхүл хоёр таньцлалтын (хоёр дахин шингэлэх арга хэрэглэх үед) эцсийн цэгийн дундаас дээш байвал халдвар хамгийн өндөр таньц бүхий вирусийн зүйлээр үүссэн гэж үзэх гол хүчин зүйл гэж үзэх хэрэгтэй. Эцсийн тодорхой үр дүнд хүрэхийн тулд нэг ижил генийн хэвшлийн янз бүрийн ийлдсэн хэвшлийг ашиглах эсхүл халдварт өртсөн гахайн сүргээс нэлээд тооны гахай шинжлэх шаардлагатай.

2.4. Энзим холбоост дархлааны урвал

Өрсөлдөн холбогдох эсхүл холбогдолтыг саатуулах ЕЛИЗА болон үл өрсөлдөн холбогдох ЕЛИЗА (шууд бус, давхар эсрэгтөрөгчтэй ЕЛИЗА) гэсэн үндсэн хоёр хэлбэрийн хэд хэдэн ЕЛИЗА аргыг боловсруулжээ. ГСМ өвчнийг оношлох үйлчилгээнд голдуу E2 гликоуургийн эсрэгбие илрүүлэх аргыг хэрэглэдэг. Бодгаль гахайнаас авсан ийлдэс, сийвэнгийн сорьцыг ЕЛИЗА аргаар шинжилнэ. Богино хугацаанд олон тооны дээж шинжлэн судалдаг болж байгаа нь тандах судалгааг сүргийн түвшинд явуулахад тохирсон арга болж байна. Хэдийгээр вирусийн эргэлтгүй болж вакцинжуулалтыг үргэлжлүүлсээр байгаа улс оронд

зөвхөн хэрэглэж байгаа ч ЕЛИЗА шинжилгээ дээрхийн нэгэн адил вакцинжуулалтын дараах ийлдсийн урвалын эерэгжилтэд хяналт-шинжилгээ хийх бололцоо олгож байнгаа юм. Ерөнхийдөө, ЕЛИЗА шинжилгээ мэдрэх чанарын хувьд саармагжуулах урвалаар эерэг гарсан, өвчилж өнгөрсөн (жишээ нь халдвар хийсний дараа наад зах нь 21 хоносон) амьтнаас авсан ийлдсийн аль ч эерэг дээжид үнэлгээ өгөхөд хангалттай, ҮВДӨВ, хилийн өвчний вирус, бусад пестивирустэй солбицох урвал хамгийн бага түвшинд үзүүлдэг байх хэрэгтэй. Энэхүү шинжилгээний арга нь ГСМ өвчний вирусийн генетик хэвшлээс үл хамааран ГСМ өвчний вирусийн бүх халдварыг ялган таньдаг байх хэрэгтэй. Хэрэв ЕЛИЗА шинжилгээ ГСМ-д өвөрмөц биш бол эерэг дээжийг ГСМ өвчний вирус, бусад пестивирусийг хооронд нь ялгаж чадах шинжилгээний аргаар шалгах хэрэгтэй.

2.4.1. Эсрэгтөрөгч

ГСМ өвчний зөвлөсөн аль нэг омгийн вирусийн уургийн эсхүл түүнтэй адилтгах уургийн гаралтай эсрэгтөрөгч байна. Эсрэгтөрөгч бэлтгэхэд ашиглах эс нь бусад аливаа *Pestivirus*-ийн халдваргүй байх ёстой.

2.4.2. Эсрэг ийлдэс

Өрсөлдөөнт эсхүл саатуулагч ЕЛИЗА-д хэрэглэх олон гарлын эсрэг ийлдсийг ГСМ өвчний вирусийн зөвлөсөн аль нэг омог эсхүл туулайгаар зорчуулж сулруулсан С омгоор халдварлуулсан гахай эсхүл туулайнаас бэлтгэнэ. ИГЭБ нь ГСМ өвчний вирусийн уургийн гол дархлаа төрүүлэгч уургийн эсрэг эсхүл түүнтэй адилтгах уургийн эсрэг чиглэсэн байна. ИГЭБ ашиглахыг эрхэмлэх нь чухал юм. Шууд бус урвалд IgG ба IgM хоёулыг илрүүлэх гахайн иммунглобулин-эсрэг урвалж хэрэглэнэ.

Маркер вакцин хэрэглэх эсэх нь вакцинжуулсан болон байгалийн халдвар авсан амьтныг хооронд нь ялгаж чадах шинжилгээний аргаас хамаарна. E2 гликоуургийн дэд нэгжийн вакцин эсхүл ГСМ өвчний вирусийн E2-д өвөрмөц эсрэгбие үүсгэдэг мөртөө ГСМ өвчний вирусийн E^{RNS}-д өвөрмөц хариу урвалгүй бусад маркер вакциныг хамтруулан хэрэглэх нөхцөлд ГСМ өвчний вирусийн E^{RNS} -д өвөрмөц эсрэгбиеийг ЕЛИЗА урвалаар илрүүлэх замаар вакцинжуулсан эсхүл халдвар авсныг ялгаварлан тогтоох шинжилгээ болгон ашиглаж болно. Гэвч ГСМ өвчний вирусийн E^{RNS}-д өвөрмөц, худалдаанд гарсан ЕЛИЗА шинжилгээний мэдрэх болон өвөрмөц чанар ГСМ өвчний вирусийн E2-ын эсрэгбиеийн ердийн ЕЛИЗА шинжилгээний аргынхаас доогуур юм. Иймд ялгаварлах ийм шинжилгээг бодгаль амьтны дээжид оношилгооны зорилгоор бус, харин сүргийн түвшинд хэрэглэхийг зөвлөж байна (Европын Холбоо, 2003; Meyer нар, 2017; Pannhorst нар, 2015).

Худалдаанд гарсан оношилгооны цомгийн илүү дэлгэрэнгүй мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториос авч болно. Худалдаанд гаргасан шинжилгээний цомогт лиценз авахынхаа өмнө түүнийг нарийн баталгаажуулсан байж болох хэдий ч лаборатори бүр лавлагааны эерэг болон сөрөг хяналтын ийлдэс ашиглан цомгийн цуврал бүрийг хэрэглэхийнхээ өмнө шалгана. Дээрх баталгаажуулалтыг өөрийн байгууллагад хийсэн ЕЛИЗА цомогт бас хийнэ.

B. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

1. Оршил

Дэлхий дахинаа гахайн аж ахуйд ихээхэн хохирол бүхий өвчлөл, хорогдол, нийгэм, эдийн засгийн хор уршиг дагуулдаг өвчин бол ГСМ өвчин бөгөөд түүнтэй ихэнхдээ үндэсний хэмжээнд тэмцэж байна. Олон улс орон вакцинжуулалтыг энэ өвчинтэй үндэсний хэмжээнд тэмцэх хөтөлбөрийн нэг хэсэг болгон мал эмнэлгийн эрх бүхий байгууллагын дэмжлэг, удирдлага дор хэрэгжүүлдэг байхад бусад улсад урьдчилан сэргийлэх вакцинжуулалтыг хэдэн арван жилээр хоригдосон (ж.нь: АНУ, Канад, Европын холбооны гишүүн улсууд) эсхүл ГСМ өвчний эсрэг албадлагаар вакцинжуулдаг байгаад иун саяхнаас зогсоогоод байна. Ерөнхийдөө ГСМ өвчнийг вакцинжуулалт хэрэглэлгүйгээр устгаж энэ өвчнөөр тайван болох зорилтыг дэвшүүлэх болов. Гэсэн хэдий ч ГСМ өвчинтэй тэмцэх болон түүнийг устгах эхний үе шатад аюулгүй бөгөөд үр нөлөөтэй вакцин хэрэглэх нь ач холбогдолтой хэвээр байна.

Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зарчмын талаарх 1.1.8 дугаар бүлэгт мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зааварчилгааг оруулав. Энэ хэсэгт болон 1.1.8 дугаар бүлэгт оруулсан зааварчилгаа

нь ерөнхий агуулгатай учир тухайн улсын болон бүс нутгийн шаардлагыг нэмж оруулж болно. Үйлдвэрлэгч мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх албан ёсны зөвшөөрөл авахад вакцины чанар, аюулгүй байдал, үр нөлөөнд тавих шаардлага тухайн улс, бүс нутагт янз бүр байдаг.

ГСМ өвчний амьд вирустэй харьцаж ажиллах хаана ч шаардлага хангах биохамгааллын журам, дадлыг мөрдөж ажиллана. ГСМ өвчний вакцин үйлдвэрлэх байгууллага нь 1.1.4. *Биоаюулгүй ажиллагаа ба биохамгаалал: Мал эмнэлгийн лаборатори, туршилтын амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандарт* бүлэгт заасны дагуу биохамгаалал, тусгаарлалтын зохих журам, дадал дэглэмийг баримтлан ажиллана.

ГСМ өвчний эсрэг хамгийн сонгодог вакцин дараах нийтлэг шинж чанартай байна. Үүнд: вакциныг хэрэглэх заалттай болон заалтгүй зүйлийн амьтанд, ялангуяа амаар олгох вакцины тухайд хэрэглэсэн даруйдаа ч, алсдаа ч аюулгүй байх, шинж чанараа тогтвортой хадгалдаг, насан туршийн тогтвортой

дархлаа тогтоодог, өвчний хээрийн бүх омог, генетик хэвшлийн эсрэг үр нөлөөтэй хамгаалдаг, эмнэл зүйн шинжээр өвчлөх болон тээгч болохоос хамгаалдаг, өвчний үүсгэгч хөндлөн болон босоо чиглэлээр дамжин халдварладаггүй байна. Үүнээс гадна маркерт вакцины тухайд түүний хариу урвалыг найдвартай ялгаварладаг шинжилгээний аргатай байна. Үйлдвэрлэгч вакцинаа баталгаажуулан тогтвортой нийлүүлдэг байна.

Сулруулсан хэд хэдэн вирусийн омогт суурилсан өөрчилсөн амьд вакцин ӨАВ нь (жишээ нь С омог, Тивервал, PAV-250, GPE-, K омгууд) хамгийн өргөн хэрэглэгддэг, тэдний олонх нь аюулгүй, үр нөлөөтэй болох нь тогтоогджээ. Бакуловирус эсхүл бусад систем ашиглан үйлдвэрлэсэн Е2 дэд нэгжийн вакцин бий. Эдүгээ бүтэн вирусийг идэвхгүйжүүлж хийсэн вакцин олдохоо больжээ.

Эдгээр вакцины тухай мэдээллийг нэгтгэн нягтлан хянаж нийтлүүлсэн бүтээлээс харж болно (Blome нар, 2017b; Ganges нар, 2020; Postel нар, 2018).

Анхандаа ГСМ өвчний маркерт вакциныг шавжийн эсэд экспреслэсэн ГСМ өвчний вирусийн рекомбинант Е2 гликоуурагтд суурилан гаргаж байв. Дэд нэгжийн эдгээр вакцин хэрэглэсэн гахайд ГСМ өвчний вирусийн бусад уургийн (ж. нь: E^{RNS}) эсрэгбие үүсдэггүй учраас вакцин хэрэглэсэн болон халдвар авсан гахайг найдвартай ялгаварлах боломжтой байв. Эдгээр вакцин нь аюулгүй бөгөөд дулаанд тогтвортой байдаг үлэмж давуу талтай. Гэвч амьд вакцинтай харьцуулахад дархлаа ихээхэн хожуу тогтоодог, вакциныг давтан тарьдаг нь түүний гол дутагдалтай тал юм. Е2 дэд нэгжийн вакциныг нэг удаа хэрэглэсний дараа зориуд халдвар хийсэн ч үүсгэгч дамжин халдварлах нь бага байхын зэрэгцээ эмнэл зүйн шинж үзүүлэн өвчлөх, хорогдохоос сэргийлдэг ч халдвар эхэсээр дамжин халдварлахаас хамгаалж чаддаггүй байна. Шинэ үеийн зарим зэхэц вакцин түрүү үеийн дэд нэгжийн Е2 вакцинтай харьцуулахад үр дүн нь сайжирсан нь тэр дундаа дан тунгаар вакцинжуулснаас хойш 7 хоногийн дотор эмнэл зүйн шинжээр өвчлөх болон вирус гадагшлахаас хамгаалж байснаас харагдана. 2018 оноос эхлэн БНХАУ-д худалдааны Е2 вакциныг ашиглан өвчнийг устгах зорилгоор үржүүлгийн фермд болон бордооны гахайд вакцинжуулалтын цогц бодлого хэрэгжүүлсэн (Gong нар, 2019; Zhou нар, 2021). Гэсэн хэдий ч эхэсээр халдвар дамжихын эсрэг баттай хамгаалалт тогтоохын тулд вакцины хоёр тун хэрэглэх шаардлагатай байв (Ganges нар, 2020).

Шинэ шийдлийн маркерт вакциныг боловсруулж дуусаад хивэгчдийн пестивирусийн геномын бүрэлдэхүүнд ГСМ өвчний вирусийн Е2 гликоуургийг оруулсан рекомбинант пестивирусийг Европын эмийн агентлагаас тэжээвэр гахайд хэрэглэх зөвшөөрөл авсны зэрэгцээ АНУ-ын вакцины банкинд ашиглуулах эрх авчээ.

Энэхүү CP7_E2alf вакцин нь хамгийн сонгодог вакцины олон шинж чанарыг, тэр дундаа генетикийн хувьд тогтвортой, вакцин хэрэглэсэн болон эс хэрэглэх зүйлийн амьтанд аюулгүй, ойр хавьталд байсан амьтан болон шээс, баас, үрийн шингэнээр вакцины вирус дамжин халдварладаггүй, булчинд нэг удаа тарихад хамгаалах дархлаа түргэн үүсдэг, дархлаа 6 сараас урт хугацаагаар үргэлжилдэг, ГСМ өвчний вирусийн янз бүрийн генетик хэвшлийн эсрэг хамгаалах шинж чанарыг агуулна (Blome нар, 2017a). CP7_E2alf вакциныг хээлтэй мэгжид нэг удаа тарихад хоруу чанараар дунд зэргийн омог эхэсээр дамжин халдварлахаас хамгаалах чадвартай нь батлагджээ (Henke нар, 2018). Харин ГСМ өвчний вирусийн хоруу чанар өндөр омог эхэсээр дамжин халдварлахаас хамгаалах чадварыг шалган үнэлэх шаардлагатай.

ЕЛИЗА гэх мэт ийлдэс судлалын арга эсхүл УТ-ПГУ зэрэг ген илрүүлэх арга ашиглан вакцинаас эсхүл байгалийн халдвараас үүссэн эсрэгбиеийг ялгаварлах янз бүрийн арга бий. Европын хүнсний аюулгүй байдал хариуцсан агентлагийн (EFSA, 2008) нийтлүүлсэн саналд С омог ашиглан үйлдвэрлэсэн вакцин, төхөөрсөн амьтанд вирусийн геном илрүүлэх УТ-ПГУ-ыг хослуулан амьтныг вакцинжуулсны дараа өсгөж үржүүлэх зорилгоор “хамгаалах вакцинжуулалт”-ын стратегийг хэрэгжүүлэхэд амжилттай хэрэглэж болохыг санал болгожээ (Zhao нар, 2008). Энэ бүлгийн 1.1.4 дүгээр хэсгийг бас үзнэ үү.

Зөвшөөрөл бүхий рекомбинант CP7_E2alf вакцинд хивэгчдийн пестивирусийн үндсэн хэсгийг ашигладаг учраас ГСМ өвний вирусийн E^{RNS} омогт зориулсан ЕЛИЗА ашиглан ийлдэс судлалын шинжилгээгээр ялгаварлаж болно (Meyer нар, 2017; Pannhorst нар, 2015) эсхүл саяхан нийтлэгдсэн CSFV E^{rns} IgG эсрэгбиеийг гахайн ийлдэс амны хөндийн шингэнд илрүүлсэн дүн (Panyasing нар, 2023). Гэвч вакцинаас эсхүл байгалийн халдвараас үүссэн эсрэгбиеийг ялгаварлах ийм хоёр шинжилгээний аргын чадамжийг үнэлж үзэхэд хивэгчдийн пестивирусийн халдвараас солбицох урвал өгдөг эсрэгбие үүсдэгийн улмаас шинжилгээний өвөрмөц чанар алдагдахад хүргэдэг байна (Meyer нар, 2017; 2018). Үүнтэй холбоотойгоор маркерт вакцин болон тэдгээртэй хамтруулан хэрэглэх шинжилгээний аргыг сайжруулах хэрэгцээ одоо ч байсаар байна. Коронадо нар (2021) болон Гангес нар (2020). ГСМ өвчний вакцин хөгжүүлэлтийн орчин үеийн тэргүүлэх технологийн талаарх мэдээллийг нягтлан дүгнэжээ.

ГСМ өвчний вакциныг эпидемиологийн шинээр үүссэн болон хэвшмэл янз бүрийн нөхцөл байдалд хэрэглэж байна. Энэ өвчнөөр тайван ихэнх улс орон урьдчилан сэргийлэх вакцинжуулалт хэрэглэлгүй тэмцэх стратегийг хэвшүүлсэн хэдий ч яаралтай вакцинжуулалт хийх үед мөрдөх эрх зүйн зохицуулалтыг хийжээ. Эндемик тархалттай нөхцөл байдалд вакцинжуулалтыг өвчний уршгийг багасгах болон өвчнийг устгах хөтөлбөрийн эхний шатны арга болгон хэрэглэж байна. Өмнө нь тайван байсан нутагт өвчин нэвтэрч эпидемик тархалттай болчихсон үед яаралтай вакцинжуулалтыг өвчинтэй тэмцэх, устгах нэмэлт арга хэмжээ болгон хэрэглэж болох ба энэ ажилд вакцинаас үүссэн эсрэгбиеийг тогтоож болдог маркерт вакцин үнэт цэнэтэй хэрэгсэл байх болно.

Үүнээс гадна халдварт өртсөн зэрлэг гахайг амаар вакцинжуулах асуудлыг авч үзэх хэрэгтэй. Ийнхүү янз бүрээр үүсэх нөхцөл байдал, гахайн аж ахуйн үйлдвэрлэлийн өөр өөр систем нь төрөл бүрийн шинж чанартай вакцинтай байхыг шаардах, тэрхүү вакцинд тавих шаардлагыг тодорхойлоход нөлөөлж болох юм.

2. Ердийн амьд болон өөрчилсөн амьд, маркерт вакцины үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны тодорхойлолт, вакцинд тавих наад захын шаардлага

ГСМӨВ-ийн сулруулсан омог ашигласан ердийн амьд вакцины аюулгүй чанар болон үр нөлөө өндөр. Гэвч түүгээр вакцинжуулсан амьтныг халдвар авсан амьтнаас ялгаварлах боломжгүй. Үүний эсрэгээр генетикийн технологи ашиглан бэлтгэсэн маркерт амьд вакцин хэрэглэхэд вакцинжуулсан болон халдвар авсан амьтныг оношилгооны өвөрмөц арга ашиглан ялгаварлаж болно. Коронадо нар (2021) болон Гангес нар (2020) хэд хэдэн судалгааг нарийвчлан хянаж нэгтгээд маркерт амьд зэхэц вакциныг санал болгожээ. Эдгээрээс гликопротеинийг кодлогч нэг эсхүл хэд хэдэн мужийг ГСМӨВ-ийн омог болон өөр угсааны пестивирусын хооронд солилцож генийн оруулгатай болсон пестивирусийг ашиглах талаар илүү олон удаа судалжээ. Нөгөө нэг чиглэл нь ГСМӨВ-т генетик маркер оруулж өгөх арга юм.

Энэ бүлэгт энгийн болон өөрчилсөн маркерт аль аль амьд вакцинд тавигдах наад захын шаардлагыг оруулснаас гадна шаардлагатай хэсэгт нь маркерт амьд бүх вакцинд зориулсан тусгай шаардлагыг нэмэв. Үйлдвэрлэлийн үе шат бүрийн дэлгэрэнгүй тодорхойлолтыг үйлдвэрлэх үйл явцын баримт бичигт өгүүлсэн байх хэрэгтэй (1.1.8-р бүлгийн Үйлдвэрлэлийн явцыг баримтжуулах, бүртгэл хөтлөх хэсэг болон 2.3.3-р бүлгийн Вакцин үйлдвэрлэх байр байгууламжийн зохион байгуулалт, менежментэд тавих наад захын шаардлага хэсгийн 3 дахь Баримт бичиг хөтлөх журам үзэх).

2.1. Эх омгийн шинж чанар

2.1.1. Мастер эх омгийн биологийн шинж чанар:

Ердийн ЕАВ
Ердийн амьд вакциныг эсийн өсгөвөрт эсхүл *Suidae* амьтны овогт үл хамаарах зүйлийн тохирох эзэн амьтанд дараалан зорчуулж сулруулсан ГСМ өвчний вирусийн омгоор бэлтгэнэ. Үйлдвэрлэлийг эх омгийн бэлдцэд суурилан эсийн өсгөвөр ашиглан явуулна. Амьтны тавлаг байдлыг хангах ДМАЭМБ-ын зарчимд нийцдэггүй учраас ГСМӨ-ий вакциныг цаашид амьд амьтан ашиглан бэлтгэхгүй байхыг зөвлөдөг. ӨАВ-д ашиглах мастер эх омгийн вирусийг эсийн өсгөвөрт хялбар ургах байдал, өсгөвөрлөсөн вирусийн гарц, тогтвортой байх чанараас хамааруулан сонгож үйлдвэрлэл явуулна.

ГСМ өвчний вирусийн үндсэн өсгөврийн эх үүсвэр, зорчуулалтын түүхийг бүртгэж тайлагнадаг байх хэрэгтэй.Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны баримт бичигт геномын дарааллыг оруулах хэрэгтэй..

Маркерт амьд вакцин

Анхдагч материалын гарал үүсэл, шинж чанар, үүний дотор хэрэглэх вирусийн омог, оруулсан эсхүл гээсэн нуклеотидийн дарааллыг бүртгэж тэмдэглэнэ.

Генетикийн аргаар өөрчилсөн амьд вирус агуулж байгаа вакцины тухайд эцэслэн тогтоосон эх үүсвэр нь мастер эх омог (МЭО)-т тооцно. Генетикийн хувиргалтын баримт мэдээлэл болон МЭО-ийн шинж чанар, мөн түүнчлэн түүнийг бүтээсэн дэлгэрэнгүй аргачлалыг үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны баримт бичигт оруулна. Вакцины эцэслэн тогтоосон эс үүсвэрийн биологийн шинж чанар болон генетикийн хувьд тогтвортой болохыг нотлон харуулна. Үүнээс гадна генетикийн хувирлын улмаас вирусийн эд эрхтнийг сонгон халдварлах чанар эсхүл вирусийн хоруу чанар нь өөрчлөгдөх эрсдэлийг тайлбарлана.

ХАВАЯ-н тогтоох боломжтой вакцины тухайд ХАВАЯ шинж чанарыг тогтооход тохирох оношилгооны аргын талаар хангалттай мэдээлэл өгнө.

2.1.2. Чанарын шалгуур үзүүлэлт

Зөвхөн ариун, цэвэр (гаднын аливаа бодис агуулаагүй болохыг Бүлэг 1.1.9 *Мал эмнэлгийн зориулалттай биологийн материалын ариун чанар, бохирдолгүй болохыг шалгах арга* болон албан ёсны зөвшөөрөл олгох эрх бүхий холбогдох байгууллагын гаргасан жагсаалтын дагуу баталгаажуулсан байх ёстой), дархлаа төрүүлэх идэвхтэй болохыг тогтоосон ҮЭО-ийг вакцин үйлдвэрлэлийн вирус (ажлын эх омог, вакцины цувралын) болгон ашиглана. Амьд вакцин нь вакцин хэрэглэхээр заасан зүйлийн амьтанд 1.1.8-р бүлэгт заасны дагуу тарихад ([сулруулсан амьд ҮЭО-ийн] аюулгүй чанарын шалгалт) өвчин үүсгэхгүй, ямар нэг гаж нөлөө үзүүлэхгүй байх ёстой.

Найдвартай ялган тогтоох шинжилгээний арга (өөрөөр хэлбэл өвөрмөц ИГЭБ эсхүл вакцины омогт өвөрмөц ген илрүүлэх аргаар) ашиглан ҮЭО-ийг ялган таньж тогтоосон байх хэрэгтэй.

2.1.3. Вакцины омог болохыг баталгаажуулах

ҮЭО-оор бэлтгэсэн вакцин аюулгүй чанар, үр нөлөөний хувьд шаардлага хангаж байгааг нотлон харуулах ёстой.

Гахай хэдийгээр дамжин халдварладаг тархи сархиатах өвчин (ТСӨ)-ий үүсгэгчид мэдрэмтгий эсэх нь тогтоогдоогүй ч вирус гарган авсан эх үүсвэр эсхүл вирус өсгөвөрлөхөд хэрэглэсэн аливаа тэжээлт орчинд ТСӨ-ийн эрсдэлтэй материал байхгүй байх нөхцөлийг хангах замаар ТСӨ-ийн үүсгэгч дамжин халдварлах эрсдэлийг дээд зэргээр бууруулахад онцгой анхаарна.

Ерөнхийдөө эцсийн бүтээгдэхүүн дэх вакцины вирус тав хүртэлх зорчуулалтын дараа үндсэн эх омгийн цувралынхаас ялгарахааргүй болсон байх ёстой. Вакциныг нэгэн жигд болгон шингэлсэн байдаг учраас худалдаанд гаргах вакцины цувралыг хөлдөөн хатаасан байдлаар үйлдвэрлэх ёстой.

2.2. Үйлдвэрлэх арга

2.2.1. Аргачлал

Вирусийг дамжмал эсийн өсгөвөр халдварлуулахад ашиглана. Ашиглах эсийн өсгөвөр нь бохирдуулагч бичил биетэн агуулаагүй нь баталгаажсан, 1.1.8 дугаар бүлгийн шаардлага хангасан байх ёстой.

Үйлдвэрлэлийн аргаас үл хамааран субстратыг үжилгүй орчинд хураан авч эстэй холбогдсон вирусийг арилгах тохирсон аргаар (жишээ нь ээлжлэн хөлдөөн хатаах мөчлөгөөр) боловсруулна. Хураан авсан материалыг цаашид шүүх болон бусад аргаар боловсруулна. Тогтворжуулагчийг шаардагдах хэмжээгээр нэмнэ. Вакцины багц/цувралыг нэгэн жигд найрлагатай болгох үүднээс түүнийг хөлдөөн хатаахын өмнө нэгэн жигдийн шингэн болгож жигдрүүлнэ.

2.2.2. Найрлагад орох орцод тавих шаардлага

Вакцины үйлдвэрлэлд ашигласан аливаа хольц нь 1.1.8 дугаар бүлэг дэх шаардлага хангасан байна.

2.2.3. Явцын хяналт

Үйлдвэрлэлийн явцын хяналт нь үйлдвэрлэлийн арга ажиллагааны зааврааc хамаарна: Үүнд нийлүүлсэн эсрэгтөрөгчийн вирусийн таньцлалт, ариун чанарын шалгалт орно.

2.2.4. Эцсийн бүтээгдэхүүний багц/цуврал

i) Ариун чанар

Мал эмнэлгийн зориулалттай биологийн материалын ариун чанар, бохирдолгүйг шалгах аргыг 1.1.9 дүгээр бүлгээс харж болно.

ii) Ялгагдах шинж чанар

Тохирох аргыг (өвөрмөц эсрэгбие эсхүл өвөрмөц геном илрүүлэх арга) хэрэглэж вакцины вирусийн ялгагдах шинж чанарыг баталгаажуулна.

iii) Үлдэц чийг
Хуурайшуулж хатаасан бүтээгдэхүүний чийгийн түвшинг 1.1.8 дугаар бүлэгт заасны дагуу хэмжинэ.

iv) Аюулгүй чанар

Албан ёсны зөвшөөрөл хүссэн өргөдөл, холбогдох баримт бичигт бүтээгдэхүүний аюулгүй чанар тогтвортой болохыг нотлон харуулаагүй, баталгаажуулаагүй, үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаа нь 1.1.8 дугаар бүлэгт заасан стандарт шаардлагад нийцэж байгааг баталгаажуулаагүй бол цувралын аюулгүй чанарын шалгалтыг явуулна.

Хэсэг газрын болон эрхтэн тогтолцоог хамарсан аливаа гаж нөлөөг илрүүлэх зорилгоор эцсийн бүтээгдэхүүний цувралд аюулгүй чанарын шалгалт хийнэ.

Цуврал/багцын аюулгүй чанарын шалгалтад 6-10 долоо хоногийн бойжилттой, пестивирусийн эсрэгбие агуулаагүй эрүүл хоёр торой ашиглана. Торой бүрд вакцины тунг арав дахин ихэсгээд зөвлөсөн замаар олгоод наад зах нь 14 хоног өдөр бүр ажиглалт хийнэ. Аль ч торой өвчний мэдэгдэхүйц шинж тэмдэг үзүүлээгүй эсхүл вакцинаас шалтгаалан үхээгүй бол вакциныг шалгалтад тэнцсэн гэж үзнэ.

v) Цуврал/багцын идэвх

Гахайд вакцины үүсгэсэн хамгаалалтын түвшин өөрчилсөн амьд вакцины *in vitro* таньцын хоорондын хамаарлыг нэгэнт тогтоочихсон учраас вирусийн таньц вакцины идэвхийн найдвартай илтгүүр болно. Бүтээгдэхүүний цувралыг хэрэгцээнд нийлүүлэхийн өмнө түүний идэвхийг шалгах шаардлагатай. Вакциныг хэрэгцээнд нийлүүлэх шаардлагад нийцэх вакцины вирусийн таньц нь вакцины үр нөлөөг тогтоодог амь сорилын үр дүнтэй шүтэлцээтэй байх ёстой ба энэ нь тогтоосон журам ёсоор вакцин хүчинтэй хугацааныхаа турш идэвхтэй байхад хангалттай өндөр түвшинд байх ёстой.

Вирусийн таньц болон хамгаалалтын хоорондын шүтэлцээг харуулах нотолгоо байхгүй нөхцөлд вакцины үр нөлөөг шалган тогтоох шаардлагатай (B.2.3.3 бүлгийг үз).

2.3. Албан ёсны зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага

2.3.1. Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаа

Вакциныг бүртгүүлэхэд зориулан ҮЭО-ийг бэлтгэх, вакцины үйлдвэрлэл, чанарын шалгалтын шинжилгээтэй холбоотой дэлгэрэнгүй бүх мэдээллийг (B.2.1 болон B.2.2 хэсгийг үзэх) тухайн улсын эрх бүхий байгууллагад илгээнэ. Эдгээр мэдээллийг нэг ижил ҮЭО-оос гарал үүсэлтэй үйлдвэрлэлийн ердийн цувралын эзлэхүүний 1/3-ээс доошгүй хэмжээгээр гурав дараалан үйлдвэрлэсэн цувралаас бэлтгэнэ.

Явцын хяналт нь үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны нэг хэсэг мөн.

2.3.2. Аюулгүй чанарын шаардлага

Вакциныг албан ёсоор бүртгүүлэхэд аюулгүй чанарын дараах шалгалтад хангалттай дүн үзүүлсэн байх ёстой.

Вакцин нь эрүүл гахайд элдэв эмгэг үүсгэх эсэх, мэгжид хээл тээх болон үр төлд нь аюулгүй эсэхийг шалгаж тогтооно.

i) Өсвөр амьтанд аюулгүй байх

Вакцинжуулж болох хамгийн бага наснаас хэтрээгүй торой бүрд вакцин олгох зөвлөсөн зам тус бүрээр шалгалт хийнэ. Ирэх цуврал вакцинаас омгийг хамгийн бага сулруулсан байж болох зорчуулалт бүхий вакцины вирусийг ашиглана.

6-8 долоо хоногийн бойжилттой, пестивирусийн эсрэгбие агуулаагүй, наймаас цөөнгүй торой ашиглана. Торой тус бүрд вакцины 1 тунд агуулагдаж болох вирусийн хамгийн дээд таньцыг арав дахин ихэсгэснээс багагүй тооны вакцины вирусийг олгоно. Торойд наад зах нь 14 хоног өдөр бүр ажиглалт хийнэ. Вакцинжуулсан торой тус бүрийн биеийн халууныг вакцинжуулахын өмнөх 3-аас доошгүй хоногт, вакцин олгох үед болон түүнээс 4 цагийн дараа, улмаар наад зах нь 14 хоног өдөр бүр хэмжинэ. Бүх торойн биеийн халууны дундаж 1.50°C-аас ихсээгүй, нэг ч торойн биеийн халуун дараалсан 3 өдрөөс хэтэрч 1.50°C-аар ихсээгүй, нэг ч торой өвчний мэдэгдэхүйц шинж тэмдэг үзүүлээгүй эсхүл вакцинаас шалтгаалан үхээгүй бол вакциныг шалгалтад тэнцсэн гэж үзнэ.

Вакцинжуулснаас 7 хоногийн дараа цусны сорьц авч цагаан эсийн тооны цөөрөлтийг шалгана. Цусны цагаан эсийн дундаж тоо 7 х 106 эс/мл-ээс их байх ёстой.

Үүнээс гадна вакциныг худалдаанд гаргахдаа түүний аюулгүй чанарыг хээрийн нөхцөлд шалгасан байх ёстой (1.1.8-р бүлгийн *Хээрийн шалгалт* [*аюулгүй чанар ба үр нөлөө*] хэсгийг үз).

ii) Хээлтэй мэгжид аюулгүй чанарыг шалгах, эхэсээр дамжин халдварлалтыг шалгах шинжилгээ

Ижил нас, гарал үүслийн, пестивирусийн эсрэгбие агуулаагүй, 55-70 хоногийн хээлтэй наймаас цөөнгүй эрүүл мэгж эсхүл ховсод вакциныг зөвлөсөн замаар олгож шалгалт хийнэ. Ирэх цуврал вакцинаас омгийг хамгийн бага сулруулсан байж болох зорчуулалт бүхий вакцины вирусийг ашиглана.

Мэгж тус бүрд вакцины 1 тунд агуулагдаж болох вирусийн хамгийн дээд таньцаас багагүй тооны вакцины вирусийг олгоно. Мэгжид торойлох хүртэл нь өдөр бүр эмнэл зүйн ажиглалт хийнэ. Шинээр төрсөн нялх торойг уураг сүүгээ хөхөхөөс өмнө цусны сорьц авна.

Вакцинжуулсан мэгжийн ийлдэсний урвал түүнийг торойлохоос өмнө өмнөхөөсөө өөрчлөгдөхгүй бол шинжилгээг хүчингүйд тооцно. Хээл тээлт

эсхүл торойн эрүүл мэндэд ямар нэг хэвийн бус өөрчлөлт илрээгүй бол вакцины вирус шалгалтад тэнцсэн гэж үзнэ. Нэг ч мэгж эсхүл ховсод өвчний мэдэгдэхүйц шинж тэмдэг үзүүлэхгүй эсхүл вакцинаас шалтгаалан үхэхгүй.

Шинээр төрсөн нялх торойн цусны дээжид вакцины вирус эсхүл ГСМ өвчний вирусийн эсрэгбие байхгүй байх ёстой.

iii) Үл дамжуулах чанар
Шинжилгээ хийх 6-10 долоо хоногийн бойжилттой, нэг гарал үүслийн, пестивирусийн эсрэгбие агуулаагүй, эрүүл 12-оос цөөнгүй торойг хамт маллана. Вакцин үйлдвэрлэхэд МЭО ашигласан бол зорчуулалтын тоог багасгана. Зургаагаас цөөнгүй торой тус бүрд вакцины 1 тунд агуулагдаж болох вирусийн хамгийн дээд таньцаас багагүй тооны вакцины вирусийг зөвлөсөн замаар олгоно.

Зургаагаас цөөнгүй торойг хамт байлган ойр хавьтлын хяналтаар ашиглана. Вакцинжуулсан болон ойр хавьталд байх хяналтын торойг вакцинжуулалтаас хойш 24 цагийн дараа нийлүүлнэ.

45 хоногийн дараа бүх торойг энэрэнгүй аргаар төхөөрнө. Туршилтын торойд ГСМ өвчний вирусийн эсрэгбие илрүүлэх, хяналтын торойн гүйлсэн булчирхайд ГСМ өвчний вирус илрүүлэхээр төлөвлөсөн шинжилгээ хийнэ. Вакцинжуулсан бүх гахайд эсрэгбие илэрч, харин хяналтын торойд эсрэгбие болон вирус илрэхгүй байвал вакцин шалгалтад тэнцсэн гэж үзнэ.

iv) Эргэж хоруу чанартай болох
Шалгалтыг VICH GL41 аргад нийцүүлэн хийнэ (мал эмнэлгийн амьд вакцин эргэж хоруу чанартай болсон эсэхийг уг вакциныг хэрэглэх заалттай амьтанд шалгах, 2008[58]).

Үндсэн эх омгийн цувралаас бэлтгэсэн эсхүл пестивирусийн эсрэгбие агуулаагүй дээрх торойнуудад нэг эсхүл хоёр удаа зорчуулсан вакцины вирусийг олгож хоруу чанар нэмэгдсэн эсэхийг шалгана.

Зорчуулалт хийх бүрдээ 6-10 долоо хоногийн бойжилттой, эрүүл, ижил нас, гарлын хоёроос доошгүй торойд дээрх зааврын дагуу 5 удаа шалгана. Хэрэв 5 дахь бүлэгт хоруу чанар нь ихэссэн гэмээр нотолгоо илрээгүй бол шалгалтыг үргэлжлүүлэхгүй. Эс бөгөөс эхний болон сүүлийн зорчуулалтад ашигласан тарьц хоёулыг багадаа найман торой бүхий бүлэг бүрд өмнөх зорчуулалт хийсэн замаар олгож шалгалтыг давтана.

Шалгасан вирусийг хоёр торой тус бүрд зөвлөсөн замаар олгоход вакцины нэг тунд вирусийн хамгийн дээд талын таньцаас багагүй тооны вирус агуулагдах магадлалтай. Вакцины вирус олгосноос хойно 2-7 хоногт торой бүрээс шаардагдах цусны сорьц өдөр бүр авч тухайн өдрийн сорьцыг нийлүүлнэ. Дараа нь торойг төхөөрч хоёулынх нь гүйлсэн булчирхайг авч нийлүүлээд ФБУ-д 10%-ийн цийдмэг pH 7.2 бэлтгэн 4°C-д эсхүл удаан хадгалах бол – 70°C-д хадгална. Хэрэв халдварын хөдлөл зүй болон вирусийн тархцын талаарх мэдээллээс боломжтой гэдэг нь харагдвал туршилтын амьтныг вакцинжуулснаас хойш 7 хонохоос өмнө унтуулна. Хэрэв унтуулах хамгийн зохистой хугацааг тогтоохоор бол эхний зорчуулалтад илүү олон торой оруулж тэдгээрийг янз бүрийн хугацаанд (халдвар хийснээс хойш 4 -7 хоногт) нядална. Гүйлсэн булчирхай дахь вирусийн хамгийн дээд түвшнийг үндэслэн унтуулах хамгийн зохистой хугацааг тодорхойлж үүнтэй уялдаатайгаар дараагийн зорчуулалтын товлоно.

Зорчуулалт бүрээс өдөр бүр авч нийлүүлсэн цусны дээж болон нийлүүлсэн гүйлсэн булчирхайнаас ГСМӨ-ий вирусийн эсрэгтөрөгчийг тоон утгаар гаргана. Дараа нь гүйлсэн булчирхай болон вирусийн түвшин хамгийн өндөр байсан өдрийн нийлүүлсэн цус агуулсан 2 мл дээжийг өөр хоёр ижил нас, гарал үүслийн торой тус бүрд зөвлөсөн замаар олгоно.

Хэрэв вирус байхгүй байвал дахин нэг удаа ижил материалыг өөр цуврал торойд олгоно. Үүний дараа үзэхэд вирус байхгүй байвал туршилтыг зогсооно. Хэрэв вирус олдвол эерэг материалаас 2 мл-ийг адилхан бойжилт,

гарал үүсэлтэй өөр хоёр торой тус бүрд зөвлөсөн замаар олгож хоёрдох удаагийн цуврал зорчуулалтыг хийнэ.

Зорчуулалтын энэ үйлдлийг дөрвөөс доошгүй удаа (туршилтын эхнээс нийт таван бүлэгт вакцинжуулалт хийнэ) хийж цус болон гүйлсэн булчирхайн эдэд хийх зорчуулалт бүрд вирус агуулагдаж байгаа эсэхийг баталгаажуулна. Өмнөх зорчуулалтын вирусээр бохирдохоос сэргийлж болгоомжтой ажиллана.

Зорчуулаагүй вирустэй харьцуулахад дээд зэргээр зорчуулсан вирусийн хоруу чанар чангарсан (эмнэл зүйн ажиглалтаар тогтоосон) шинж илрээгүй бол вакцины вирус шалгалтад тэнцсэн гэж үзнэ.

Эхний болон хоёрдох цуврал зорчуулалтын аль ч түвшинд вирус илрээгүй бол вакцины вирус мөн адил шалгалтад тэнцсэнд тооцогдоно.

v) Маркерт амьд вакцинд тавих тусгай шаардлага

Генетикийн аргаар өөрчилсөн мал эмнэлгийн бүтээгдэхүүнийг хэрэгцээнд нийлүүлэхийн өмнө түүний хүн, мал амьтан, хүрээлэн буй орчинд үзүүлэх нөлөөг тогтоох эрсдэлийн үнэлгээ хийх шаардлагатай. Эрсдэлийн үнэлгээ хийхдээ хүрээлэн буй орчинд уршиг тарих боломж, вакцины бичил биетний шинж чанар, эд сонгон халдварлах чанар, хүний эрүүл мэндийн эрсдэл, түүнийг хэрэглэх болон эс хэрэглэх заалттай мал амьтны аль алины эрүүл мэндэд учрах эрсдэл, хүрээлэн буй орчинд орогнох болон хоруу чанар нь ихсэх боломжид анхаарах хэрэгтэй (1.1.8-р бүлгийн 7.1.2-р хэсгийн хоруу чанар ихсэлтийг шалгах арга болон 7.1.3-р хэсгийн хүрээлэн буй орчинд үзүүлэх эрсдэлийг үнэлэх талаар үзэх.

2.3.3. Үр нөлөөнд тавих шаардлага

i) Хамгаалах тун
Вакцины үр нөлөөг амьд вирус халдварлуулахад түүнээс хамгаалж байгаа тэсвэрээр нь үнэлж вакцины тун олгосон гахайд 50% хамгаалах тунгийн (PD_{50}) тоогоор илэрхийлэн вакцинжуулсан амьтанд шууд тооцоолно-тогтооно.

Туршилтыг 6-10 долоо хоногийн настай торойд шалгах вакцины янз бүрийн шингэлэлтээр, шингэлэлт тус бүрийг таван торойд олгож вакцинжуулах/зориуд халдварлуулах аргаар явуулна. Адилхан бойжилт, гарал үүслийн өөр хоёр гахайг бүлэглэн хяналтаар ашиглана. туршилтын өмнө бүх торой пестивирусийн эсрэгбие агуулаагүйг тогтоосон байх ёстой. Хяналтад авснаас бусад торойн бүлэг тус бүрийг уусган сэргээсэн вакцины тохирох шингэлэлтээр вакцинжуулна (жишээ нь тохирох буфер уусмалаар 1/40 ба 1/160).

Вакциныг нэг удаа тарьснаас хойш арван дөрөв хоногийн дараа ГСМ өвчний хоруу чанартай омгийн, вакцинжуулаагүй торойн 50%-иас доошгүйг 21 хоногийн дотор үхүүлж чадах тун ашиглан тохирох замаар халдвар хийнэ. Торойд 21 хоног ажиглалт хийж халдвар хийхээс 3 хоногийн өмнө, хийсний дараах 21 хоногт өдөр бүр биеийн халууныг хэмжин тэмдэглэнэ. Бүлэг тус бүрээс хамгаалагдсан амьтны тоогоор вакцины PD_{50} хэмжээг Спийрман-Карберийн аргаар тооцоолно.

Хяналтын торойн 50-иас доош хувь нь ГСМ өвчний хүнд халдварын үеийн хэв шинжийг үзүүлсэн болон үхсэн, мөн хяналтын торойн 100 хүрэхгүй хувь нь халдвар хийснээс хойш 21 хоногийн дотор өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлсэн бол шалгалтыг хүчингүйд тооцно.

Хэрэв хамгийн бага тун нь 100 PD_{50}-иас багагүй байвал вакцин шалгалтад тэнцсэн гэж үзнэ.

Үүнээс гадна, вакцины нөлөөгөөр вирус репликацид орохоос хэрхэн хамгаалагдаж байгааг өмнөх Б.1.1.3 ба Б.1.1.4 хэсэгт тодорхойлсон арга

зүйгээр вакцинжуулсан амьтны цус болон эдийн дээжид тодорхойлон үнэлгээ өгөх хэрэгтэй.

ii) Ихэсээр дамжих халдвараас хамгаалах

Пестивирусийн эсрэгбие агуулаагүй найман мэгж авч вакцинжуулах (*n* = 6) болон хяналтын (*n* = 2) бүлэгт санамсаргүй сонголтоор хуваана.

Хээл тээлтийн 34-49 дэх хоногт вакцинжуулах бүлгийн бүх гахайг шошго дээр заасан хамгийн бага таньцаас илүүгүй 1 тун вакцинаар нэг удаа вакцинжуулна. Вакцинжуулснаас хойш гурван долоо хоногийн дараа бүх найман мэгжийг ГСМ өвчний хоруу чанартай омгийн, вакцинжуулаагүй торойн 50%-иас доошгүйг 21 хоногийн дотор үхүүлж чадах тун ашиглан тохирох замаар халдвар хийнэ.

Мэгжийг торойлохын яг өмнөхөн энэрэнгүй аргаар төхөөрч хээлд ГСМ өвчинд холбогдох үзлэг хийнэ. Мэгж болон хээлээс авсан цусны сорьцод ГСМ өвчний вирусийн эсрэгбие байгаа эсэхийг шинжилж тогтооно. Мэгжийн цуснаас (халдвар хийснээс хойш 7 ба 9 хоногт болон зориудаар унтуулах үед) болон хээлийн жижиглэж жигдрүүлсэн эрхтний (гүйлсэн булчирхай, дэлүү, бөөр, тунгалгийн зангилаа) материалаас ГСМ өвчний вирус ялгана.

Үр дүн нь вирус ялгах аргатай ямагт шүтэлцээтэй байдаг бодит цагийн УТ-ПГУ-ыг B.1.1.4 хэсэгт бичсэн арга зүйн дагуу явуулж болно. Хяналтын мэгжийн 50-иас доошгүй хувиас (хатсан хээлийг оруулахгүй) вирус илэрвэл шалгалтыг хүчинтэйд тооцно.

Вакцинжуулсан мэгжийн цусанд болон вакцинжуулсан мэгжийн хээлд вирус байхгүй, вакцинжуулсан мэгжийн хээлийн ийлдсэнд ГСМ өвчний вирусийн эсрэгбие байхгүй бол вакциныг шалгалтад тэнцсэн гэж үзнэ.

Үүнээс гадна вакцины үр нөлөөг хээрийн нөхцөлд шалгасан байх ёстой (1.1.8 бүлгийн *Хээрийн шалгалт* [*аюулгүй чанар ба үр нөлөө*] хэсгийг үз).

2.3.4. Дархлаа үргэлжлэх хугацаа

Вакцин үйлдвэрлэх зөвшөөрөл олгох журам ёсоор вакцин үйлдвэрлэгч тухайн вакцины үүсгэх дархлааны үргэлжлэх хугацааг зориуд халдвар хийх аргаар эсхүл баталгаажсан өөр аргаар вакцины хамгаалалтын заасан хугацааны төгсгөл үед нотлон харуулна.

Вакцинжуулсан, арваас цөөнгүй гахай тус бүрийг ГСМ өвчний хоруу чанартай омгийн 10^5 PID_{50} (гахайд халдвар үүсгэх голч тун) тэнцэх тооны вирусээр халдварлуулж 3 долоо хоног ажиглалт хийнэ. Вакцинжуулсан амьтан эрүүл үлдэж зөвхөн хяналтын гахай үхнэ.

ГСМ өвчний эсрэг вакцинжуулсны дараа дархлааны үргэлжлэх хугацаа 6 сараас багагүй байх ёстой.

2.3.5. Тогтвортой чанар

Зөвшөөрөл авахад нотлон харуулах хүчинтэй хугацааны судалгааны нэг хэсэг болгон бүх вакцины тогтвортой чанарыг нотлон харуулна.

ГСМ өвчний хөлдөөн хатаасан вакцины баталгаат хугацаа нэг жилээс доошгүй болохыг харуулах ёстой.

2.4. Амаар олгох вакцинд тавих тусгай шаардлага

2.4.1. Удиртгал

Зэрлэг гахайг ГСМ өвчний эсрэг амаар олгох өгөөш хэлбэрийн вакцинаар вакцинжуулах ажлыг хамгийн өргөн хүрээнд хэрэглэх арга, зарчим, үүний дотор өгөөшний хийц, дархлаажуулах бүдүүвчийг Каден нар (Kaden нар, 2010)

боловсруулж, үнэлгээ хийж, оновчтой болгосон байна. Одоогоор өөрчилсөн амьд ердийн вакциныг ӨАВ амаар олгож байгаа ба маркерт амьд вакциныг ч амаар хэрэглэх боломжтой. Өгөөш вакцин гахайн амны хөндий, гүйлсэн булчирхайн салст бүрхэвчийн лимфоид эдэд шингэснээр тэнд вирус экспреслэгдэж дархлааны тогтолцоог идэвхжүүлэн дархлаа тогтоодог байна (Kaden нар, 2000; 2010).

Амаар олгох вакцины тухайд анхаарах хамгийн чухал зүйл нь түүнийг зөвхөн олгох зааltтай амьтанд төдийгүй байгаль орчин (1.1.8-р бүлгийг үз), вакцинтай харьцаж бусад зүйлийн амьтанд аюулгүй байлгах явдал юм.

2.4.2. Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны тодорхойлолт, вакцинд тавих наад захын шаардлага

Дээр дурдсан шингэн вакцины үйлдвэрлэлийн тойм дээр нэмээд тараах тусгай шаардлагыг хангасан байх ёстой:

i) Үйлдвэрлэх арга

a. Эцсийн бүтээгдэхүүний цуврал/багцын шалгалт

Бүх бүрэлдэхүүн хэсгийг нийлүүлсний дараа шингэн хэлбэрийн вакцинд ихэвчлэн хэрэглэдэг жинхэнэ найрлага бүхий эцсийн хольц бэлэн болно. Эцсийн хольцыг өгөөшинд хийх зориулалтаар жижиг уут/капсулд савлах эсхүл өгөөш рүү шууд хийх нь тухайн багц/цувралыг үйлдвэрлэх үйл ажиллагааны сүүлийн шат юм. Энэхүү эцсийн багц/цувралыг тарьж хэрэглэдэг вакциныхтай ижил аргаар, гэхдээ дараах ялгаатай байдлаар шалгана:

- Үлдэц чийгийн шалгалт

Амаар олгох вакцин шингэн хэлбэртэй бол үлдэц чийг шалгах аргыг хэрэглэхгүй.

- Аюулгүй чанар

Торой тус бүрд үйлдвэрлэгчийн заасан тунг арав дахин ихэсгэсэн эзлэхүүнээр вакциныг тариур ашиглан амаар олгоно.

ii) Зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага

Тарьж хэрэглэдэг вакцинд тавьдаг шаардлага дээр нэмээд дараах тусгай шаардлагыг хангасан байх ёстой.

a. Өгөөш

Өгөөш нь бүтээгдэхүүний гол бүрэлдэхүүн хэсэг бөгөөд дараах шалгуурыг хангасан байна:

- Вакцин өгөхөөр товлосон амьтанд зохистой, тэдний анхаарлыг татахуйц, түгээх арга хэлбэрт тохирсон хийцтэй байх;
- Температур, цаг агаарын янз бүрийн нөхцөлд хэлбэр, хэмжээгээ хадгалдаг байх;
- Орц, найрлага нь аюулгүй, амьтны тэжээлийн стандартад нийцсэн, вакцины идэвхийг сааруулдаггүй байх;
- Олон нийтэд өгөх анхааруулга, бүтээгдэхүүний ялган таних тэмдгийг шошгонд оруулсан байна.

б. Аюулгүй чанарын шаардлага

Бүх шалгалтад шингэн вакциныг (бэлэн болсон өгөөш хэлбэрээр бус) амаар тариур ашиглан олгож амьтан тус бүрд бүтэн тун олгоно.

- Сэрэмжлүүлэг

Амаар олгох вакциныг байгаль орчинд тараан байршуулахдаа 1.1.8 дугаар бүлэгт заасан шаардлагыг мөрдөнө.

в. Үр нөлөөнд тавих шаардлага

Шингэн вакциныг амаар тариур ашиглан олгож амьтан тус бүрд бүтэн тун олгох замаар вакцины үр нөлөөг нотлон харуулна. Вакцины эцсийн найрлагыг зорилтот зүйлийн амьтны популяцид хэрэглэхэд боломжтой эсэхийг (өгөөш болгон бэлтгэсэн вакцин) туршин нотлох судалгааг хийнэ

3. Рекомбинант E2 глико уурагт суурилсан вакцин

3.1. Удиртгал

ГСМ өвчний ердийн, сулруулсан амьд вакцин нь дархлаа түргэн тогтоодог, халдвар дамжихаас сайн хамгаалдаг (Ganges нар, 2020; Postel нар, 2018) боловч сул тал нь халдвартай гахайг вакцинжуулсан гахайнаас ийлдэс судлалын аргаар (жишээ нь ЕЛИЗА) ялгах боломж олгодоггүйд оршино. Худалдаанд гарсан E2 дэд нэгжийн вакциныг (маркерт вакцин) хэрэглэхэд дархлаа тогтох болон сулрах нь удаан, вирус үржих, эхэсээр халдвар дамжихаас бүрэн хамгаалахгүй. Гэхдээ энэ вакциныг хэрэглэхэд халдвартай гахайг вакцинжуулсан гахайнаас ялгах боломжтой байх учраас вакцинжуулалтаар мал, амьтан хамгаалах стратегийг хэрэгжүүлэхэд ихээхэн тус болно.

Вакцин нь зөвхөн E2 гликопротеиний эсрэгбие үүсгэх учраас ГСМ өвчний E^{RNS} зэрэг вирусийн бусад эсрэгтөрөгчийн эсрэгбиеийг халдварын маркер болгон ашиглаж болно. E2-д суурилсан шинэ найрлагын үр нөлөөг нь сайжруулсан болон эсхүл бакуловирусийн бус экспресийн системд үйлдвэрлэх вакциныг хөгжүүлсэн (Suarez нар, 2017) буюу хөгжүүлж байна (Coronado нар, 2021; Gong нар, 2019; Ganges нар, 2020).

3.2. Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны тодорхойлолт

Үйлдвэрлэлийн үе шат бүрийн дэлгэрэнгүй тодорхойлолтыг үйлдвэрлэх аргын баримт бичигт тодорхойлсон байх хэрэгтэй (1.1.8-р бүлгийн Үйлдвэрлэх аргын баримтжуулалт, бүртгэл хөтлөлт хэсэг болон баримт бичиг хөтлөх журмын 3-р хэсгийг үзэх).

3.2.1. Эх омгийн шинж чанар

E2 дэд нэгжийн маркерт вакциныг ГСМ өвчний вирусийн E2 эсрэгтөрөгчийг экспреслэдэг *Baculovirus* эсхүл бусад вирус эскпреслэх систем ашиглан бэлтгэдэг. Иймд энэ вакцин ГСМ өвчний ямар нэг вирус агуулахгүй ба бакуло (халдвар дамжуулагч) вирусийг нь химийн аргаар идэвхгүйжүүлчихдэг болно.

i) Үндсэн эх омгийн биологийн шинж чанар

Эх омгийн бэлдцэд суурилан шавжийн эсийн өсгөвөрт үйлдвэрлэл явуулна.

Эсийн өсгөвөрт хялбар ургах байдал, вирусийн гарц, тогтвортой чанарыг харгалзан ӨАВ-ийг сонгох нь хамгийн оновчтой.

Өсгөврийн жинхэнэ эх үүсвэр, тэр дундаа нуклеотидийн дараалал, зорчуулалтын түүхийг бүртгэж хөтөлнө.

ii) Чанарын шалгуур үзүүлэлт

Зөвхөн ариун, цэвэр (Бүлэг 1.1.9 д тодорхойлсон болон эрх бүхий холбогдох байгууллагын гаргасан жагсаалтад орсон гаднын аливаа бодис агуулаагүй), дархлаа төрүүлэх идэвхтэйг нь тогтоосон ҮЭО-ийг вакцин үйлдвэрлэлийн вирус болгон ашиглана.

ҮЭО-ийг тохирох шинжилгээний арга (өөрөөр хэлбэл өвөрмөц эсрэгбие эсхүл өвөрмөц ген илрүүлэх аргаар) ашиглан ялган таньж тогтоосон байх хэрэгтэй.

iii) Вакциныг баталгаажуулах

ҮЭО-оор бэлтгэсэн вакцин нь түүнийг хэрэглэхээр заасан амьтан болох гахайд аюулгүй чанар, үр нөлөөний хувьд шаардлага хангаж байгааг харуулсан байх хэрэгтэй.

1.1.8 дугаар бүлгийн дагуу вирус гарган авсан эх үүсвэр эсхүл вирус өсгөвөрлөхөд хэрэглэсэн аливаа тэжээлт орчинд ТСЭ-ийн эрсдэлтэй материал байхгүй байх нөхцөлийг хангах замаар ТСЭ-ийн үүсгэгч дамжин халдварлах эрсдэлийг дээд зэргээр бууруулахад анхаарна.

Эцсийн бүтээгдэхүүн үйлдвэрлэхэд ашигласан вакцины вирус нь эх омгийн бэлдцийг баталгаажуулахад ашигласан материалаас таваас цөөнгүй удаа зорчуулсан байна. Худалдаанд гаргах вакцины бакуловирусийн үлдэц, хүчлүүрийг идэвхгүйжүүлнэ.

iv) Үйлдвэрлэх арга

а. Аргачлал

Шавжийн дамжмал эсийн өсгөвөрт халдвар хийхэд бакуловирусийг ашиглана. Ийм эсийн өсгөвөр бохирдуулагч бичил биетгүйг нотлон харуулсан, 1.1.8 дугаар бүлгийн шаардлагыг хангасан байна.

Үйлдвэрлэлийн аргаас үл хамааран субстратыг үжилгүй орчинд хураан авч эстэй холбоо бүхий вирусийг арилгах тохирсон аргаар боловсруулна. Хураан авсан материалыг цаашид шүүх болон бусад аргаар боловсруулна. Бакуловирусийн үлдцийг идэвхгүйжүүлэх, ингэхдээ нэгдүгээр эгнээний идэвхгүйжүүлэгч хэрэглэхийг эрхэмлэнэ. Хүчлүүр хэрэглэхийн өмнө эсрэгтөрөгчийг нэгэн жигд болгоно.

б. Орцод тавих шаардлага

Вакцины үйлдвэрлэлд ашигласан аливаа орц нь 1.1.8 дугаар бүлэг дэх шаардлага хангасан байна

в. Явцын хяналт

Халдварлах чанар, ариун чанар, эсрэгтөрөгчийн массд хяналт шинжилгээ хийнэ. Идэвхгүйжүүлсний дараа эсрэгтөрөгчийн цуврал бүрийн хоргүй чанарыг шалгаж үзнэ. Амьд бакуловирусийн үлдэцгүй болохыг тогтооход ашигладаг эс нь үйлдвэрлэлд ашигладагтай ижил дамжмал эс эсхүл түүнтэй адилтгах боломжтой болон түүнээс ч илүү мэдрэг эс байна.

г. Эцсийн бүтээгдэхүүний багц/цувралыг шалгах

- Ариун чанар

1.1.8 дугаар бүлгийн шаардлага хангах ёстой.

- Ялгагдах шинж чанар

Ялгагдах шинж чанарын шалгалтыг өвөрмөц ИГИБ-д суурилсан ГСМ өвчний вирусийн эсрэг вирус саармагжуулах арга эсхүл молекулын түвшинд ялган таних тохирсон аргаар явуулна. Ялган таних шалгалтад хэрэглэхээр бэлтгэсэн ийлдсийг вакцины вирустэй гомолог вирус эсхүл дэд нэгжийн эсрэгтөрөгчийг экспреслэдэг бакуловирусээр бус харин өөр эх үүсвэр ашиглан бэлтгэнэ. Энэ шалгалтыг идэвхийн шалгалттай хамтруулж болно (доор үз).

- Маркерт вакцины концепцийн аюулгүй чанар ба баталгаажуулалт

Бүртгүүлэх баримт бичигт уг бүтээгдэхүүн нь аюулгүй чанарын үзүүлэлтийг байнга хангаж байгааг нотлон харуулж баталгаажуулсан, үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаа нь 1.1.8 дугаар бүлэгт заасан стандартын шаардлагыг хангаж байгааг баталгаажуулсан тохиолдолд цуврал хийх аюулгүй чанарын шалгалтыг хийхгүй байж болно.

Хэсэг газар эсхүл тогтолцооны аливаа гаж хариу урвалыг илрүүлэхийн тулд эцсийн бүтээгдэхүүний аюулгүй чанарыг шалгадаг.

Багц/цувралын аюулгүй чанарын шалгалтад 6-10 долоо хоногийн бойжилттой, пестивирусийн эсрэгбие агуулаагүй эрүүл хоёр торой ашиглана. Торой бүрд вакцины тунг хоёр дахин ихэсгээд зөвлөсөн замаар олгоод наад зах нь 14 хоног вакцинжуулсантай холбоотойгоор эсэг газрын болон тогтолцооны хариу урвал илэрч байгаа эсэхэд өдөр бүр ажиглалт хийнэ. 14 хоногийн дараа торой тус бүрд дан тун вакциныг хоёрдох удаа тарина.

Вакцинтай холбоотой гэж үзэх аливаа гаж хариу урвалд дүгнэлт хийж ийм вакцины цуврал зөвшөөрөл олгогдохоос сэргийлнэ. Вакцин нь ГСМ өвчний вирусийн E2-ын эсрэгбие үүсгэх ба харин ГСМ өвчний вирусийн E^{RNS} эсрэгтөрөгчийн эсрэгбие үүсэхгүй.

- Багц/цувралын идэвх

Таньц нь вакцины үр нөлөөний шалгалтын дүнтэй шүтэлцээтэй байдаг нь тогтоогдсон учраас вакцинжуулсан торойд E2-ын эсрэг өвөрмөц бие үүсвэл түүнийг вакцины цуврал бүр идэвхтэй болохын нотолгоо гэж үзнэ.

v) Зөвшөөрөл олгох/бүртгэх/лиценз олгоход тавих шаардлага

а. Үйлдвэрлэлийн явц B.2.3.1 хэсгийг үз

б. Ялгагдах чанар

Ялгагдах шинж чанарын шалгалтыг ГСМ өвчний вирусийн эсрэг дархлаат ийлдэс ашиглан вирус саармагжуулах аргар хийнэ. Ялган таних шалгалтад хэрэглэхээр бэлтгэсэн ийлдсийг вакцины вирустэй гомолог вирус эсхүл дэд нэгжийн эсрэгтөрөгчийг экспреслэдэг бакуловирусээр бус харин өөр эх үүсвэр ашиглан бэлтгэнэ

в. Аюулгүй чанарын шаардлага

- Өсвөр амьтанд аюулгүй байх чанар

Эрх бүхий байгууллагаас зөвшөөрөл авахын тулд туршилтын цуврал вакциныг зөвлөсөн зам тус бүрээр 6-8 долоо хоногийн бойжилттой найман торойд олгож түүний хэсэг газар болон тогтолцоонд үзүүлэх хорон чанарыг шалгаж үзнэ. Дан тун болон давтах тунгийн шалгалтыг зөвшөөрөгдсөн хамгийн дээд хэмжээний эсрэгтөрөгч агуулсан вакцин ашиглан явуулна. Давтах тунгийн шалгалт анхдагч вакцинжуулалтын бүдүүвч (жишээ нь хоёр тарилт), дээр нь нэмээд анхны дахин вакцинжуулалттай (нийт гурван удаагийн тарилт) тохирч байх ёстой. Амьтанд вакцины тарилт бүрийн дараах 14-өөс доошгүй хоногийн хугацаанд вакцинжуулалтад үзүүлэх хэсэг газрын болон тогтолцооны хариу урвалыг ажиглаж шалгана. Вакцинтай холбоотой гэж үзэх аливаа гаж хариу урвалд дүгнэлт хийж ийм вакцины цуврал зөвшөөрөл олгогдохоос сэргийлнэ. Вакцин нь ГСМ өвчний вирусийн E^{RNS} эсрэгтөрөгчийн эсрэгбие үүсэхгүй нь баталгаатай байх ёстой.

- Хээлтэй мэгжид аюулгүй байх чанар

Эрх бүхий байгууллагаас зөвшөөрөл авахын тулд туршилтын цуврал вакциныг зөвлөсөн зам тус бүрээр найман мэгжид анхдагч вакцинжуулалтын бүдүүвчийн дагуу (хоёр тарилт) олгож түүний хэсэг газар болон тогтолцоонд үзүүлэх хорон чанарыг шалгаж үзнэ. Вакцинжуулалтын дараа мэгжид үзэгдэх хэсэг газрын болон тогтолцооны хариу урвалыг ажиглаж шалгана. Хээлтэй байх хугацаанд болон үр төлд нь ямар нэг таагүй нөлөө байгаа эсэхийг шалгахын тулд торойлох хүртэл ажиглалт хийнэ. Вакцинтай холбоотой гэж үзэх аливаа гаж хариу урвалд дүгнэлт хийж ийм вакцины цуврал зөвшөөрөл олгогдчихоос сэргийлнэ. Вакцин нь ГСМ өвчний вирусийн E^{RNS} эсрэгтөрөгчийн эсрэгбие үүсэхгүй нь баталгаатай байх ёстой.

г. Үр нөлөөний шаардлага

- хамгаалах тун

вакцины үр нөлөөг үйлдвэрлэгчийн зөвлөсний дагуу вакцинжуулсан амьтанд B.2.3.3 хэсэгт бичсэн аргын дагуу тооцоолно.

- Эхэсээр дамжин халдварлахаас хамгаалах

туршилтын вакцин B.2.3.3. хэсэгт заасан аргаар шалгахад тэнцэх ёстой.

д. Дархлаа үргэлжлэх хугацаа

Вакцин үйлдвэрлэх зөвшөөрөл олгох журам ёсоор вакцин үйлдвэрлэгч тухайн вакцины үүсгэх дархлааны үргэлжлэх хугацааг нотлон харуулна (B.2.3.4 хэсгийг үзэх).

е. Тогтвортой чанар

Зөвшөөрөл авахад нотлон харуулах хүчинтэй хугацааны судалгааны нэг хэсэг болгон бүх вакцины тогтвортой чанарыг нотлон харуулна. ГСМ

өвчний биотехнологид суурилсан вакцины цувралын хүчинтэй хугацаа наад зах нь 1 жил болохыг нотлон харуулна (B.2.3.5 хэсгийг үзэх).

Эш татсан эх сувалжийн жагсаалт

BECHER P., AVALOS-RAMIREZ R., ORLICH M., CEDILLO-ROSALES S., KÖNIG M., SCHWEIZER M., STALDER H., SCHIRRMEIER H. & THIEL H.-J. (2003). Genetic and antigenic characterization of novel pestivirus genotypes: implications for classification. *Virology*, **311**, 96–104.

BLOME S., MOSS C., REIMANN I., KONIG P. & BEER M. (2017b). Classical swine fever vaccines – State-of-the-art. *Vet. Microbiol.*, **206**, 10–20.

BLOME S., STAUBACH C., HENKE J., CARLSON J. & BEER M. (2017c). Classical Swine Fever – An Updated Review. *Viruses*, **9**, 86.

BLOME S., WERNIKE K., REIMANN I., KONIG P., MOSS C. & BEER M. (2017a). A decade of research into classical swine fever marker vaccine CP7_E2alf (Suvaxyn® CSF Marker): a review of vaccine properties. Vet. *Res*., **48**, 51.

BOUMA A., STEGEMAN J.A., ENGEL B., DE KLUIJVER E.P., ELBERS A.R. & DE JONG M.C. (2001). Evaluation of diagnostic tests for the detection of classical swine fever in the field without a gold standard. *J. Vet. Diagn. Invest.,* **13**, 383–388.

EDWARDS S., MOENNIG V. & WENSVOORT G. (1991). The development of an international reference panel of monoclonal antibodies for the differentiation of hog cholera virus from other pestiviruses. *Vet. Microbiol*., **29**, 101–108.

EUROPEAN COMMISSION (2003). Report on the evaluation of a new Classical swine fever discriminatory test: Commission Decision 2003/265/EC. *In:* SANCO.10809/2003. European Commission, Directorate-General for Health and Consumer Protection, Brussels, Belgium, 1–71.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) (2008). Annex to *The EFSA Journal,* **932**, 1–18 and **933**, 1–16, page 31.
GANGES L., CROOKE, H.R., BOHÓRQUEZ J.A., POSTEL A., SAKODA Y., BECHER P. & RUGGLI N. (2020). Classical swinfever virus: the past, present and future. *Virus Res.*, **289**, 198151.

GONG W., LI J., WANG Z., SUN J., MI S., XU J., CAO J., HOU Y., WANG D., HUO X., SUN Y., WANG P., YUAN K., GAO Y., ZHOU X., HE S. & TU C. (2019). Commercial E2 subunit vaccine provides full protection to pigs against lethal challenge with 4 strains of classical swine fever virus genotype 2. *Vet. Microbiol*., **237**,108403.

HENKE J., CARLSON J., ZANI L., LEIDENBERGER S., SCHWAIGER T., SCHLOTTAU K., TEIFKE J.P., SCHRÖDER C., BEER M. & BLOME S. (2018). Protection against transplacental transmission of moderately virulent classical swine fever virus using live marker vaccine “CP7_E2alf”. *Vaccine*, **36**, 4181–4187.

HOFFMANN B., BEER M., SCHELP C., SCHIRRMEIER H. & DEPNER K. (2005). Validation of a real-time RT-PCR assay for sensitive and specific detection of classical swine fever. *J. Virol. Methods,* **130**, 36–44.

KADEN V., LANGE E., FISCHER U. & STREBELOW G (2000). Oral immunisation of wild boar against classical swine fever: valuation of the first field study in Germany. *Vet. Microbiol.*, **73**, 239–252.

KADEN V., LANGE E., KÜSTER H., MÜLLER T. & LANGE B. (2010). An update on safety studies on the attenuated “RIEMSER Schweinepestoralvakzine” for vaccination of wild boar against classical swine fever. *Vet. Microbiol.,* **143**, 133–138.

KARBER G. (1931) Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche. *Archiv für Exp. Pathol. u. Pharmakologie,* **162**, 480–483.

LIU L., XIA H., EVERETT H., SOSAN O., CROOKE H., MEINDL-BÖHMER A., QIU H.J., MOENNIG V., BELÁK S. & WIDÉN F. (2011). A generic real-time TaqMan assay for specific detection of lapinized Chinese vaccines against classical swine fever. *J. Virol. Methods*, **175**, 170–174.

MCGOLDRICK A., LOWINGS J.P., IBATA G., SANDS J.J., BELAK S. & PATON D.J. (1998). A novel approach to the detection of classical swine fever virus by RT-PCR with a fluorogenic probe (Taq Man). *J. Virol. Methods,* **72**, 125–135.

MEYER D., FRITSCHE S., LUO Y., ENGEMANN C., BLOME S., BEYERBACH M., CHANG C.Y., QIU H.J., BECHER P. & POSTEL A. (2017). The double-antigen ELISA concept for early detection of Erns-specific classical swine fever virus antibodies and application as an accompanying test for differentiation of infected from marker vaccinated animals. *Transbound. Emerg. Dis*., **64**, 2013–2022.

MEYER D., LOEFFEN W., POSTEL A., FRITSCHE S. & BECHER P. (2018). Reduced specificity of Erns antibody ELISAs for samples from piglets with maternally derived antibodies induced by vaccination of sows with classical swine fever marker vaccine CP7_E2alf. *Transbound. Emerg. Dis.*, **65**, e505–e508.

OGAWA N., NAKAGAWA H., YAMAMOTO H., SAWADA M., HANAKI T. & SAZAWA H. (1973). Viral detection in pigs inoculated with the GPE-strain of hog cholera attenuated virus. *Ann. Rep. Nat. Vet. Assay Lab*. (Japan), **10**, 15–19.

PANNHORST K., FROHLICH A., STAUBACH C., MEYER D., BLOME S. & BECHER P. (2015). Evaluation of an E^{RNS} -based enzyme-linked immunosorbent assay to distinguish classical swine fever virus-infected pigs from pigs vaccinated with CP7_E2alf. *J. Vet. Diagn. Invest.,* **27**, 449–460.

PATON D.J., MCGOLDRICK A., BENSAUDE E., BELAK S., MITTELHOLZER C., KOENEN F., VANDERHALLEN H., GREISER-WILKE I.,SCHEIBNER H., STADEJEK T., HOFMANN M. & THUER B. (2000a). Classical swine fever virus: a second ring test to evaluate RT-PCR detection methods. *Vet. Microbiol.,* **77**, 71–81.

PATON D.J., MCGOLDRICK A., GREISER-WILKE I., PARCHARIYANON S., SONG J.-Y., LIOU P.P., STADEJEK T., LOWINGS J.P.,BJORKLUND H. & BELAK S. (2000b). Genetic typing of classical swine fever. *Vet. Microbiol.,* **73**, 137–157.

POSTEL A., AUSTERMANN-BUSCH S., PETROV A., MOENNIG V. & BECHER P. (2018). Epidemiology, diagnosis and control of classical swine fever: Recent development and future challenges. *Transbound. Emerg. Dis.,* **65** Suppl. 1, 248–261.

POSTEL A., SCHMEISER S., BERNAU J., MEINDL-BOEHMER A., PRIDOTKAS G, DIRBAKOVA Z., MOJZIS M. & P. BECHER (2012). Improved strategy for phylogenetic analysis of classical swine fever virus based on full-length E2 encoding sequences. *Vet. Res.,* **43**, 50.

POSTEL A., SCHMEISER S., ZIMMERMANN B. & BECHER P. (2016). The European classical swine fever virus database: Blueprint for a pathogen-specific sequence database with integrated sequence analysis tools. *Viruses,* **8**, 302.

RISATTI G., HOLINKA L., LU Z., KUTISH G., CALLAHAN J.D., NELSON W.M., BREA TIO E. & BORCA M.V. (2005). Diagnostic

evaluation of a real-time reverse transcriptase PCR assay for detection of classical swine fever virus. *J. Clin. Microbiol.,* **43**, 468–471.

SUAREZ M., SORDO Y., PRIETO Y., RODRÍGUEZ M.P., MÉNDEZ L., RODRÍGUEZ E.M., RODRÍGUEZ-MALLON A., LORENZO E., SANTANA E., GONZÁLEZ N., NARANJO P., FRÍAS M.T., CARPIO Y. & ESTRADA M.P. (2017). A single dose of the novel chimeric subunit vaccine E2-CD154 confers early full protection against classical swine fever virus. *Vaccine*, **34**, 4437–4443.

WENSVOORT G., TERPSTRA C., DE KLUYVER E.P (1989a). Characterization of porcine and some ruminant pestiviruses by cross-neutralisation. *Vet. Microbiol*., **20**, 291–306.

ZHAO J.J., CHENG D., LI N., SUN Y., SHI Z., ZHU Q.H., TU C., TONG G.Z. & QIU H.J. (2008). Evaluation of a multiplex real-time RT-PCR for quantitative and differential detection of wild-type viruses and C-strain vaccine of Classical swine fever virus. *Vet. Microbiol.,* **126**, 1–10.

*

* *

ЖИЧ: Гахайн сонгомол мялзан өвчнийг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори бий (ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас мэдээлэл авна уу: https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

Гахайн сонгомол мялзан өвчнийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудтай холбогдож авна уу.

Хавсралт 1: Гахайн сонгомол мялзан өвчин
Шинжилгээний зориулалт: Үүсгэгчийг илрүүлэх - шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох; Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Шинжилсэн популяци	Баталгаажуулалтын тайлан	Давуу тал	Сул тал	Хэрэглээний талаарх нэмэлт мэдээлэл	Эх сурвалж
Вирус ялган авах Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулахад: ☑☑☑ Бодгаль амьтныг шилжилт хөдөлгөөнд оруулахын өмнө халдваргүйг тогтооход: ☑☐☐	Эдийн цийдмэг, үл бүлэгнүүлэгчтэй бүхэл цус, цусны цагаан эс, сийвэн, арчдас, үрийн шингэн			Эх сурвалж үзэх	Мэдрэх чанар өндөр Иммун будалт эсхүл вирусийн геном илрүүлэлтийн дараа өвөрмөц чанар өндөр Халдварлах чадвартай вирус илрүүлэх шууд арга Вирусийн өсгөврийн шинж чанарыг (хоруу чанар, эсрэгтөрөгчийн хамаарал) цааш нарийвчлан тогтоох боломжтой	Ажиллагаа ихтэй, удаан арга Өвөрмөц чанарыг тогтооход вирусийн эсрэгтөрөгч эсхүл вирусийн геномыг өвөрмөцөөр илрүүлэх шаардлагатай Өргөн хүрээний оношилгоо, илрүүлэх шинжилгээнд тохиромжгүй Эс хордуулах нөлөө, түүнчлэн бактерийн бохирдлыг бага байлгахын тулд дээжийн чанар сайн байх шаардлагатай Мэдлэг, туршлага шаардлагатай Биоаюулгүйн ажиллагаа өндөр түвшинд байх шаардлагатай	Хугацаа, хөдөлмөр их шаардсан арга Тандалт эсхүл популяцийн түвшинд хийх бусад шинжилгээнд тохиромжгүй Шинж чанарыг нь цааш нарийвчлан тогтоох зорилгоор вирусийн омгуудыг цуглуулахад ач холбогдолтой	Ganges нар (2020); Handel нар (2004); Dewulf нар (2004); Uttenthal нар (2003)

Хавсралт 2: Гахайн сонгомол мялзан өвчин
Шинжилгээний зориулалт: Үүсгэгчийг илрүүлэх – популяци халдваргүйг тогтоох; шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох; өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх; эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах; халдварын тархалт - тандалт

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Шинжилсэн популяци	Баталгаажуулалтын тайлан	Давуу тал	Сул тал	Хэрэглээний талаарх нэмэлт мэдээлэл	Эх сурвалж
УТ-ПГУ Бодгаль амьтныг шилжилт хөдөлгөөнд оруулахын өмнө халдваргүйг тогтоох болон Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулахад: ☑☑☑ Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх болон Халдварын тархалт - тандалтад: ☑☑☐ Популяци халдваргүйг тогтооход: ☑☐☐	Цус, ийлдэс, эд (бөөр, дэлүү, гүйлсэн булчирхай, тунгалгын зангилаа, сэрээ булчирхай, гэдэс, уушги, чөмөг), дээжийн арчдас, баас, үрийн шингэн, халдварлуулсан эсийн өсгөврийн дээд талын шингэн, эсхүл эс			Эх сурвалж үзэх	Бусад аргуудтай харьцуулахад мэдрэх болон өвөрмөц чанар хамгийн өндөр Үр дүн хурдан гарна Бага хэмжээний дээж шаардагдана Өндөр бүтээмжтэй Генетик аргаар вакцинжуулсныг халдвартай амьтнаас ялгаварлах (DIVA) боломжтой ПГУ-ын их хэмжээний бүтээгдэхүүнийг молекул шинжилгээ болон генийн дараалал тогтоох шинжилгээнд хэрэглэх боломжтой болно Халдварын эрт болон хожуу аль л үед халдварлах чадвартай вирус илрэхээргүй түвшинд байсан ч РНХ-ийн геномыг илрүүлэх ба дээжийн чанараас харьцангуй бага хамаардаг.	Өндөр өртөгтэй багаж, төхөөрөмж, хэрэглэгдэхүүн шаардагдана Сайтар бэлтгэгдэж дадлагжсан лабораторийн ажилтан шаардагдана Зарим урвалжид хүйтэн хэлхээ шаардагдана Мэдрэх чанар өндөр тул хөндлөн бохирдох эрсдэлтэй Ердийн ПГУ: бц-ПГУ-тай харьцуулахад мэдрэх чанар сул -Ердийн болон SYBR-ашигладаг ПГУ: пробд суурилсан ПГУ-аас өвөрмөц чанараар сул	Вирус арилснаас хойш амьтныг өмнө нь халдвар авч байсныг тогтооход тохирохгүй	Hoffmann *нар* (2005); Leifer нар (2011); Depner нар (2006); Risatti нар (2005); Haines нар (2013); Petrov нар (2014)

Хавсралт 3: Гахайн сонгомол мялзан өвчин
Шинжилгээний зориулалт: Үүсгэгчийг илрүүлэх – популяци халдваргүйг тогтоох; шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох; өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх; эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Шинжилсэн популяци	Баталгаажуулалтын тайлан	Давуу тал	Сул тал	Хэрэглээний талаарх нэмэлт мэдээлэл	Эх сурвалж
ЕЛИЗА (эсрэгтөрөгч илрүүлэх) Популяци халдваргүйг тогтооход: ☑☑☐ Бодгаль амьтныг шилжилт хөдөлгөөнд оруулахын өмнө халдваргүйг тогтоох; Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх болон Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулахад: ☑☐☐	Өвчний шинж тэмдэг, эмгэг хувиралтай амьтнаас авсан дээж: цагаан эс, ийлдэс, сийвэн, бүлэгнүүлээгүй цус, эдийн цийдмэг			Эх сурвалж үзэх	Богино хугацаанд олон дээжид илрүүлэх шинжилгээ хийнэ Шинжилгээ хийхэд хялбар арга Шинжилгээний явц автоматжсан Худалдаанд гарсан	Эсрэгтөрөгч илрүүлэх бусад аргатай харьцуулахад мэдрэх чанар сул Мэдрэх чанар нь торойн цусны дээж шинжлэхэд бие гүйцсэн гахайныхаас илт илүү Өвөрмөц чанар сул Нэмэлт багаж, хэрэгсэл шаардагдана	Вирус арилснаас хойш амьтныг өмнө нь халдвар авч байсныг тогтооход тохирохгүй	Ganges нар (2020); Dewulf нар (2004); Uttenthal нар (2003)

Хавсралт 4: Гахайн сонгомол мялзан өвчин
Шинжилгээний зориулалт: Үүсгэгчийг илрүүлэх – өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх; эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Шинжилсэн популяци	Баталгаажуулалтын тайлан	Давуу тал	Сул тал	Хэрэглээний талаарх нэмэлт мэдээлэл	Эх сурвалж

ФЭБШ Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх болон Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулахад: ☑☐☐	Хөлдөөсөн гүйлсэн булчирхай, тунгалгын зангилаа, бөөр, дэлүү, цутгалан гэдэсний зүсмэг			Эх сурвалж үзэх	Эдэд эсрэгтөрөгчийг шууд харж илрүүлэх хурдан арга Мэдрэх болон өвөрмөц чанар сайн	Хуурамч эерэг болон сөрөг үр дүн гарах өндөр эрсдэлтэй учраас тусгайлсан төхөөрөмж, туршлага шаардагдана Эсрэгбие, коньюгатын чанараас их хамаарна Суурь гэрэлтэлт маш өндөр байдаг тул үр дүнг тодорхой уншиж үнэлэхэд хүндрэлтэй	Үхсний дараа сорьц цуглуулах шаардлагатай байдаг (амьд амьтны тухайд гүйлсэн булчирхайн сорьц шинжлэх боломжтой)	Bouma нар (2001)

Хавсралт 5: Гахайн сонгомол мялзан өвчин
Шинжилгээний зориулалт: Дархлааны хариу урвал илрүүлэх – популяци халдваргүйг тогтоох; шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох; өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх; халдварын тархалт - тандалт; Вакцинжуулсан бодгаль эсхүл популяцийн дархлаа тогтцыг шалгах

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Шинжилсэн популяци	Баталгаажуулалтын тайлан	Давуу тал	Сул тал	Хэрэглээний талаарх нэмэлт мэдээлэл	Эх сурвалж
ЕЛИЗА (эсрэгбие илрүүлэх) Популяци халдваргүйг тогтоох, Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх, Халдварын тархалт – тандалт, болон Вакцинжуулсан бодгаль эсхүл популяцийн дархлаа тогтцыг шалгахад: ☑☑☑	Ийлдэс эсхүл сийвэнгийн дээж			Эх сурвалж үзэх	Богино хугацаанд олон дээжид илрүүлэх шинжилгээ хийхэд тохиромжтой Шинжилгээ хийхэд хялбар бөгөөд автоматжсан Худалдаанд гарсан	Бусад пестивирустэй солбицох урвалд орох боломжтой учраас ШТ НП зэрэг харьцуулах аргаар баталгаажуулах шаардлагатай Нэмэлт багаж, хэрэгсэл шаардагдана	Вирус арилснаас хойш ч амьтныг өмнө нь ГСМӨВ-д өртсөн амьтныг илрүүлнэ Эсрэгбие мэдрэгдэх түвшинд илрэх хүртэл өвчний эхэн үед сөрөг дүн үзүүлнэ ДИВА вакцин болон ДИВА аргыг хэрэглэх боломжтой	Ganges нар (2020);

Бодгаль амьтныг шилжилт хөдөлгөөнд оруулахын өмнө халдваргүйг тогтооход: ☑☑☐								

Хавсралт 6: Гахайн сонгомол мялзан өвчин
Шинжилгээний зориулалт: Дархлааны хариу урвал илрүүлэх – популяци халдваргүйг тогтоох; шилжилт хөдөлгөөний өмнө бодгаль халдваргүйг тогтоох; өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх; эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах; халдварын тархалт - тандалт; Вакцинжуулсан бодгаль эсхүл популяцийн дархлаа тогтцыг шалгах

Шинжилгээний арга, түүнд өгсөн оноо, шинжлэх амьтны зүйл	Дээжийн төрөл, шинжлэгдэхүүн	Тохирол	Шинжилсэн популяци	Баталгаажуулалтын тайлан	Давуу тал	Сул тал	Хэрэглээний талаарх нэмэлт мэдээлэл	Эх сурвалж
ВСУ (ВСФЭШ эсхүл ПХСШ) Бодгаль амьтныг шилжилт хөдөлгөөнд оруулахын өмнө халдваргүйг тогтоох (ялангуяа эсрэгбие илрүүлэх ЭЛИЗА-аар эерэг тохиолдлыг баталгаажуулахад), Халдварын тархалт – тандалт, болон Вакцинжуулсан бодгаль эсхүл популяцийн дархлаа тогтцыг шалгахад: ☑☑☑	Ийлдэс эсхүл сийвэнгийн дээж (орлуулж болох бусад дээж: махны шүүс, биеийн хөндий хэсгээс гарах шүүрэл)			Эх сурвалж үзэх	ГСМӨВ-ийн өвөрмөц эсрэгбиеийг ҮВДӨВ, хилийн өвчний вирус болон хивэгчийн бусад пестивирусийн эсрэгбиеэс ялгаварлана Мэдэх болон өвөрмөц чанар өндөр арга Эсрэгбие нам таньцтай байхад илрүүлнэ Энэ аргыг ГСМӨВ-ийн тухайн эргэлдэж байгаа омог, ойр хамааралтай өсгөвөр, вакцины омгийг илрүүлэхэд хэрэглэж болно Дархлааны хариу урвалыг тоон утгаар илрүүлнэ	Халдварыг эхэн үед илрүүлэх боломжгүй Ажиллагаа ихтэй, удаан арга Дээд зэргийн биохамгаалал шаардагддана Эс хордуулах нөлөө нь эсрэгбиеийн таньц бага дээжийн үр дүнг үнэлэхэд сөргөөр нөлөөлж болзошгүй. Халдварын эхэн үе буюу эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрч эхэлж байгаа амьтнаас авсан дээжид эсрэгбиеийн таньц бага байх магадлалтай.	Цаг их зарна, ажиллагаа их Тандалт эсхүл популяцийн түвшний шинжилгээнд тохирохгүй Эсрэгбие илрүүлэх ЕЛИЗА-аар эерэг урвалтай эсхүл солбицох урвал үзүүлсэн дээжийг баталгаажуулахад ашиглана	Ganges нар (2020); Terpstra нар (1984)

Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах болон Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэхэд: ☑☑☐ Популяци халдваргүйг тогтооход: ☑☐☐						Өргөн хүрээтэй оношилгоонд тохирохгүй Мэдлэг, туршлага шаардагдана. Тохирох омог сонгоход тухайн нутагт эргэлдэж байгаа ГСМВ болон бусад пестивирусийн талаах мэдлэг, мэдээлэлтэй байх нь чухал		

ЖИЧ: 1990 ОНД АНХ, 2025 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

БҮЛЭГ 48 (3.9.6)

ГАХАЙН ҮРЖИЛ, АМЬСГАЛЫН ЗАМЫН ХАМ ШИНЖИТ ӨВЧИН

(ГАХАЙН ҮРЖИЛ, АМЬСГАЛЫН ЗАМЫН ХАМ ШИНЖИТ ӨВЧНИЙ ВИРУСИЙН ХАЛДВАР)

А. УДИРТГАЛ

Гахайн үржил, амьсгалын замын хам шинж (ГҮАЗХШ) өвчин нь мэгжийн үржлийн эрхтний үйл ажиллагааны хямрал болон гахайн амьсгалын эрхтний өвчлөлөөр илэрнэ (Zimmerman *et al.,* 2019). ГҮАЗХШ өвчин анх АНУ-д 1987 онд, дараа нь Японд 1989 онд, улмаар Германд 1990 онд тус тус оношлогдсон бөгөөд цөөхөн жилийн дотор цар тахалд хүрсэн байна. ГҮАЗХШ өвчнийг үүсгэгч вирусийг 1991 онд Голланд, 1992 онд АНУ-д нээсэн ажээ (Zimmerman *et al.,* 2019). ГҮАЗХШВ дан утаслаг, зөв эргэлттэй РНХ агуулсан вирус бөгөөд түүний биологийг сайтар судалжээ. Байгаль дээр тэжээвэр гахай, зэрлэгшсэн гахай, зэрлэг бодонгоос өөр бусад зүйлийн амьтан ГҮАЗХШВ-ээр халдварласан нь тогтоогдоогүй. Уг вирус хүнд дамжин халдварлах эрсдэлгүй ба хүн болон хүний гаралтай эсэд халдварлахгүй. Анхлан хоёр өөр генийн хэвшилд тооцогдож байсан Европын болон Хойд Америкаас гаргасан өсгөвөр эсрэгтөрөгчийн хувьд ялгаатай бүлгийн төлөөлөл болох нь үүсгэгч вирусийг нээснээс хойш удалгүй илэрхий болжээ (Zimmerman *et al.,* 2019). Вирусийн ангилал зүйн олон улсын хорооны нягтлан хянасан хамгийн сүүлийн ангиллаар (ВАОУХ, Вирусийн ангилал зүй, 2019 оны хэвлэлт) өмнөх генийн хэвшил нь эдүгээ *Betaarterivirus* төрлийн *Eurpobartevirus* болон *Ampobartevirus* гэж нэрлэгдэх болсон хоёр өөр дэд төрөлд (Nidovirales багийн Arnidovirinae дэд багийн, Arteriviridae овгийн, Variarterivirinae дэд овгийн) ангилагдах Betaarterivirus suid 1 болон Betaarterivirus suid гэсэн хоёр өөр зүйлээс бүрдэнэ гэжээ. Энэ бүлэгт ГҮАЗХШВ-ийн хоёр зүйлийг илэрхийлэх нийтээр хүлээн зөвшөөрсөн ердийн нэршлийг (ГҮАЗХШВ-1 болон ГҮАЗХШВ- 2) ашиглана. Эдгээр зүйл тив дотроо бүсийн ямар ялгаатай болохыг нэмэлт судалгаа шинжилгээгээр тогтоогоод байна. ГҮАЗХШВ-2 нь Европт гаднаас нэвтэрсэн болон ГҮАЗХШВ-1-нь Хойд Америкт нээгдсэн гэж тэдгээрийг ялгаж байгаа нь эргэлзээ төрүүлдэг. ГҮАЗХШВ-ийн ихэнхийг Хойд Америкаас, харин Азиас олноор нь ялган авсан нь 2 дугаар зүйлийн вирус бөгөөд гахай болон түүний үрийн худалдаа, шилжилт хөдөлгөөнөөр дамжин халдварласан гэж үздэг. Зүүн-Өмнөд Азийн хамгийн өндөр хоруу чанартай ГҮАЗХШВ-2 вирусийн (өндөр хоруу чанартай ГҮАЗХШВ) шинж чанар нь геномын NSP2 мужид амин хүчил гээгдсэн байдаг онцлогтой. Гэвч амин хүчил ийнхүү гээгдэх нь хоруу чанарыг тодорхойлохгүйг туршилтаар нотолсон байна (Shi *et al*., 2010a; Zhou *et al.,* 2009; Zhou & Yang, 2010). Хоёр зүйлийн ГҮАЗХШВ-ийн омог янз бүрээр олширч байгаа нь ГҮАЗХШВ-ийн репликацид байдаг онцлог болон омог хоорондын рекомбинацын явцад алдаа их гардагтай холбоотой (Murtaugh *et al*., 2010). Түүнчлэн ГҮАЗХШВ-1-ийн зүүн Европын омгуудын полиморф чанар өндөр байгааг тодорхойлж өгсөн нь харьцангуй шинэ эмгэг төрүүлэгч гахайд үүсэж байгааг харуулсан мэдээ байв. Энэхүү полиморф чанар нь ГҮАЗХШВ-1-ийг 1,2,3 гэсэн дэд хэвшилд ялган ангилахад хүргэв. Үүгээр үл барам өөр дэд хэвшил (дэд хэвшил 4) байх баримт нотолгоо гарсаар байна (Stadejek *et al.,* 2008; 2013). Эдгээр олон янз байдал оношилгоо болон вакцинд хэрхэн нөлөөлдгийг бараг судлаагүй ч түүнд анхаарал хандуулах нь нэмэгдсэнийг анхаарч үзэх хэрэгтэй. Дэд хэвшил 3 (Lena, SU1-bel) болон дэд хэвшил 2 Bor омог нь 1 дүгээр дэд хэвшлээсээ хоруу чанар ихтэй нь тогтоогджээ (Karniychuk *et al*., 2010; Morgan *et al.,* 2013; Stadejek *et al*., 2017). Трас нарын (2014) 1 дүгээр дэд хэвшлийн

омгийн, өөрчилсөн вакцин 3 дугаар дэд хэвшлийн Lena омгоор зориуд халдварлуулсан гахайн зарим хэсгийг нь хамгаалж чадсан байна. ГҮАЗХШВ-2-ийн дотор генетикийн хувьд ялгаатай есөн шугамын вирусийг ялган тогтоосон боловч энэ зүйлийн вирусийн доторх олон янз байдал ГҮАЗХШВ-1-ийн 1 дүгээр дэд хэвшлийнхээс хэтэрдэггүй болох нь тогтоогджээ (Shi *et al*., 2010b; Stadejek *et al*., 2013).

Хээл хүндэрсэн үед хээл хаях, хугацаанаасаа эрт, орой торойлж үхсэн, эх дотроо хатсан, амьдрах чадвар сул торой гаргах зэргээр үржлийн үйл ажиллагааны хямрал илэрнэ. Өвчний эпизоот тархалтын цочмог үед ороо давтан илрэх нь нийтлэг байдаг. Заримдаа хээл тээлтийн эхэн, дунд үед хээл хаяна (ГҮАЗХШВ—тэй холбоотой үржлийн үйл ажиллагааны хямрал нь үүсгэгч вирус ихэс болон савны дотор ханыг гэмтээснээс шалтгаалдаг Karniychuk & Nauwynck, 2013). Бодон болон сүрэг сэлбэх, хараахан хээлтүүлээгүй ховс, мэгжид түр зуур халуурах, тэжээлийн дуршилгүй болох нь ажиглагдана. Амьсгалын үйл ажиллагааны хямрал нь амьсгаадах (“түгших”), халуурах, тэжээлдээ дургүй болох, номойрох шинж тэмдгээр илэрнэ. Бодон, хээлтүүлэгт оруулаагүй мэгж зэрэг бие гүйцсэн гахайнаас илүүтэйгээр өсвөр гахай эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлэхгүй мөртөө халдвар авсан байх нь элбэг. Хоёрдогч халдварт өртөх нь нийтлэг байх ба үхлийн хувь өндөр байдаг. ГҮАЗХШВ-ээр халдварласан болон сулруулсан амьд вакцинаар вакцинжуулсан бодон ГҮАЗХШВ-ийг үрийн шингэнээрээ ялгаруулах ба эр үрийн хэлбэр зүй, үйл ажиллагаанд гардаг өөрчлөлтийг тогтоожээ (Christopher-Hennings *et al.,* 1997). Халдвар юуны өмнө халдвартай гахайтай ойр хавьталд байсан гахайнаас дамжихаас гадна бас баас, шээс, үрийн шингэнээр дамжин халдварлана. Түүнчлэн халдвар шавжаар (гэрийн ялаа, шумуул) тархах ба хэт олон гахайтай аж ахуйн сүрэгт мананцраар дамжин шууд бусаар дахин дахин халдварлах, бас механик зүйлээр дамжин халдварлаж болзошгүй. ГҮАЗХШВ-ийн халдварын үед тогтмол илэрдэг бие бүтцийн ил харагдах болон бичил хувирлыг сайтар тогтоожээ (Zimmerman *et al.,* 2019). Ерөнхийдөө эмгэг хувирал өсвөр амьтанд хөгшин амьтнаас илүү тод илэрнэ. ГҮАЗХШВ-ийн өсгөврийн генийн хэвшил доторх болон генийн хэвшил хооронд хоруу чанар нь ялгаатай байгааг хээрийн нөхцөлд хийсэн ажиглалт болон туршилт судалгаагаар тогтоосон байна (Karniychuk *et al*., 2010; Stadejek *et al*. 2017; Weesendorp *et al*., 2013). Гахайг өндөр халууруулж аль ч насанд нь олноор үхүүлдэг хам шинжээр өвчлүүлдэг ГҮАЗХШ өвчний шинэ шугамын вирусээр 2006 онд Зүүн Өмнөд Азид өвчин дэгдсэн нь вирус нь хоруу чанараараа ялгаатай байдаг дээрх баримтыг улам бататгаж байна (Tian *et al*., 2007). ГҮАЗХШВ-ийг шинээр нээснээс хойш маш өргөн хүрээнд судалгаа хийсэн ч ГҮАЗХШВ болон бусад өвчний хооронд ажиглагддаг уялдаа холбоо болон ГҮАЗХШВ-ийн эсрэг дархлааны хариу урвалын талаарх суурь мэдлэг ойлголт одоо ч олон талаар бүрхэг байсаар байна.

В. Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

*Хүснэгт 1. **Гахайн үржил, амьсгалын замын хам шинж өвчнийг оношлох шинжилгээний арга, тэдгээрийн зорилго***

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүй гэж тогтоох	Бодгалийг шилжүүлэхээс өмнө халдваргүйг тогтоох	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах	Халдварын тархалт тогтоох - тандалт	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгч илрүүлэх[(a)]						
Вирус ялгах	–	++	–	+++	–	–
Ердийн УТ-ПГУ	+++	+++	+++	+++	++	–
Бодит цагийн УТ-ПГУ	+++	+++	+++	+++	++	–

ИГХ	–	–	–	++	–	–
ISH	–	–	–	++	–	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх [b]						
ЕЛИЗА	+++	++	+++	++	+++	++
ДЭДУПИ	++	++	++	+	++	+++
ИФА	++	++	++	+	++	+++

Түлхүүр үг:
+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
++ энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй УТ-ПГУ = гурвуу транскрипцт полимеразагийн гинжин урвал;
ИГХ = иммунгистохимийн арга
ISH = *in-situ* эрлийзжүүлгийн арга
ЕЛИЗА = энзим холбоост дархлааны урвал
ДЭДУПИ = дан үе эсэд явуулах дархлааны урвалыг пероксидазагаар илрүүлэх
ИФА = иммунфлюоресценцийн арга
[a] Үүсгэгчийг ялган таних төрөл бүрийн шинжилгээг эмнэл зүйн нэг ижил сорьцод хийхийг зөвлөдөг.
[b] Ийлдэс судлалын аль нэг нэрлэсэн шинжилгээ хэрэглэхэд хангалттай

1. Үүсгэгчийг илрүүлэх

Вирус ялган авах, нуклейн хүчил илрүүлэх, вирусийн ууралг илрүүлэх аргаар ГҮАЗХШВ-ийг ялган тогтооно. Халдвар авсны дараа гахайн цусанд вирус тархаж өсвөр гахайд уушгины халдвар хэдэн долоо хоногоор орогнох ба бие гүйцсэн амьтанд ГҮАЗХШВ илрүүлэхэд ийлдэс болон уушгины гуурс цулцангийн зайлаадас хамгийн сайн дээж болдог.

1.1. Вирус ялган авах

Энэ өвчнийг үүсгэгч вирус бүхэн (ялангуяа ГҮАЗХШВ-1 вирус) MARC-145 эс болон сармагчны бөөрний MA-104 шугаман эсээс гаралтай CL-2621 колонид амархан халдварлаж өгдөггүй учраас ГҮАЗХШВ-ийг ялган авахад бэрхшээлтэй байдаг (Provost *et al*., 2012; Zimmerman *et al.,* 2019). ГҮАЗХШВ-ийг ялган авах болон эсийн өсгөвөрт сэлгэн өсгөвөрлөхөд гахайн цусны дан бөөмт цагаан эсээс үүсэлтэй макрофагийг ашиглаж болно (Garcia-Nicolas *et al*., 2014). Гахайн уушгинаас цулцангийн макрофаг (ГУЦМ)-ийн бэлдмэлд зориулан уушги цуглуулахын оронд тэдгээрийг амьд гахайн захын цусны дан бөөмт эс (ЗЦДБЭ)-ээс *in vitro* аргаар ялгаварлаж болно. Үүгээр үл барам ГҮАЗХШВ-ийн репликацд оролцдог генийн өөрчлөлттэй шугаман эсийг, үүний дотор CD163 эксплеслэдэг ГУЦМ шугаман эс, CD163 болон сиалоадгезин эксплеслэдэг гахайн дан миелоид эс PK-15, мөн түүнчлэн CD163 экспоеслэдэг гахай, муур, үхэр зусгийн гөлчгийн бөөрний эсийг бэлтгэсэн байна (Delrue *et al*., 2010; Provost *et al*., 2012). Түүнчлэн ГҮАЗХШВ-ийн халдварт тохирдог рекомбинант бус бусад шугаман эсийг мэдээлжээ (Feng *et al*., 2013; Provost *et al*., 2012). ГУЦМ нь ГҮАЗХШВ бүгдийг нь биш ч гэсэн ихэнхийнх нь репликацыг хангана. Гэвч ГУЦМ-ыг 8 долоо хоног хүртэл бойжилттой, эрүүл гэдэг нь найдвартай баталгаажсан гахайнаас бэлтгэх ёстой учраас түүнийг цуглуулахад амаргүй (Feng *et al*., 2013). ГҮАЗХШВ-д ГУЦМ-ын янз бүрийн цувралын мэдрэмтгий чанар дандаа адилхан байдаггүй учраас хэрэглэхийн өмнө цуврал бүрийг шалгана. ГУЦМ-ыг хэрэглэх хүртлээ дор өгүүлсний дагуу шингэн азотод хадгална. Ихэнх оношилгооны лабораторид ГҮАЗХШВ-ийг ГУЦМ ашиглан ялган авч болно. Энэ арга ГҮАЗХШВ-ийн бүх омгийг ялган авахад тохиромжтой байх ёстой ба үүнийг хойно дэлгэрэнгүй тайлбарлана. Вирус ялган авах сорьцыг цуглуулсны дараа удаалгүй 4°C-д хөргөөд 24–48 цагийн дотор лабораторид илгээнэ. Энэ температурт ийлдсэн дэх вирусийн хагас задралын хугацаа 155 цаг байна. Гэвч pH 6.5–7.5 -аас хэтэрвэл вирус халдварлах чанараа түргэн алдана (Zimmerman *et al*., 2019). Удаан

хугацаагаар бол –70°C-д хөлдөөж хадгалах нь зүйтэй.

1.1.1. Уушгинаас цулцангийн макрофагийг ялгах

Тусгайлан заасан эмгэг төрүүлэгч агуулаагүй гахайнаас эсхүл ГҮАЗХШВ-ийн халдвараар тайван гахайн сүргээс уушги олж бэлтгэхийг чухалчилна. 8 долоо хоногүй бойжилттой гахайн уушги бэлтгэвэл хамгийн сайн үр дүнд хүрнэ. Гахайг төхөөрсөн өдөрт нь багтааж уушгинаас макрофагийг бэлтгэнэ. Уушгийг фосфатын буфержүүлсэн (ФБУ) физиологийн ариутгасан, нийтдээ ойролцоогоор 200 мл уусмалаар 3 эсхүл 4 удаа угаана. Угаасан шингэнийг 300 *g* хурдаар 10 минут хурилдуурдана. Тунасан макрофагийг ФБУ-аар уусган сэргээгээд дахиад 2 удаа хурилдуурдана (угаана). Сүүлийн тунашийг 50 мл ФБУ-аар уусган сэргээгээд эсийн төвшрүүлгийг тодорхойлохын тулд макрофагийг тоолно. Дараа нь макрофагийг шинэ байхад нь хэрэглэж болох ба эсхүл эцсийн төвшрүүлэг нь ойролцоогоор 1.5 мл цодонд 6×10^7 макрофаг байхаар тооцож стандарт аргачлалын дагуу шингэн азотод хадгална. Макрофагийн цувралуудыг хооронд нь хольж болохгүй.

1.1.2 Цулцангийн макрофагийн цувралын шалгалт

Макрофагийн бэлдмэлийн цуврал бүрийг ашиглахын өмнө түүнийг баталгаажуулна. Үүний тулд таньц нь тогтоогдсон стандарт ГҮАЗХШВ-ийг шинэ макрофаг ашиглан таньцлах эсхүл эерэг ба сөрөг нь тогтоогдсон ийлдэс болон шинэ макрофаг ашиглан хавтан дээрх дан үе эсэд явуулах дархлааны урвалыг пероксидазагаар илрүүлэх (ДЭДУПИ) арга хэрэглэнэ. Хэрэв стандарт ГҮАЗХШВ тогтоосон таньц хүртлээ ургаж байвал (TCID50 эсхүл эсийн өсгөвөрт халдварлах тунгийн 50%) макрофаг эсийг хэрэглэхэд тохирно гэж үзнэ. Эсийн өсгөвөрт нэмж өгөх цулцангийн макрофаг болон үнээний хээлийн ийлдэс (ҮХИ) пестивирус агуулаагүй байх ёстой.

1.1.3 Цулцангийн макрофагд вирус ялган авах/таньцлах

Цулцангийн макрофагийг эсийн өсгөвөрт зориулсан бичил таньцын хавтангийн хавтгай ёроолтой үүрэнд хийнэ. Макрофагийг үүрний хананд наалдсаны дараа үүрэнд дээжээ хийнэ. Дээж нь ийлдэс эсхүл гүйлсэн булчирхай, уушги, тунгалгийн зангилаа, дэлүү гэх мэт эдийн цийдмэг байна. Ерөнхийдөө 1-2 хоног өсгөвөрлөсний дараа ГҮАЗХШВ-ийн эс эмгэгшүүлэх нөлөө (ЭЭН) макрофагд илрэх боловч өвчин үүсгэгч зарим вирусийн ЭЭН бага эсхүл зөвхөн дахин зорчуулсны дараа илэрнэ. 1-2 хоногийн дараа эсхүл нэгэнт ЭЭН ажиглагдсаны дараа ГҮАЗХШВ байгаа эсэхийг өвөрмөц эсрэг ийлдэс эсхүл ижил гарлын эсрэг бие (ИГЭБ) ашиглан дархлаа судлалын будалтын аргаар баталгаажуулах хэрэгтэй.

i) Бичил таньцын хавтанд макрофаг суулгах

6×10^7 макрофаг бүхий 1.5 мл цодонтой агуулагдахууныг гэсгээнэ. Эсийг нэг удаа 50 мл ФБУ-аар угааж эсийн цийдмэгийг 300 *g* (тасалгааны хэмд) хурдаар 10 минут хурилдуурдана. Эсийг 1% глутамин 10% ФБУ болон 1–2% антибиотикийн холимог (өсгөвөрлөх орчин) нэмсэн 40 мл RPMI-1640 тэжээлт орчинд хураан авна. Бичил хавтангийн үүр тус бүрд 100 мкл эсийн цийдмэг хийнэ (нэг цодонтой эс дөрвөн хавтангийн үүр тус бүрд 10^5 төвшрүүлэгтэй эс хийхэд хүрэлцэнэ).

ii) Хоосон хавтанд дээжийг (ийлдэс, эдийн 10% цийдмэг) шингэлж бэлтгэх

Бичил хавтангийн үүр тус бүрд 90 мкл өсгөвөрлөх орчин хийнэ. А болон Е мөрний үүрнүүдэд (1/10 шингэлснийг хосоор нь) 10 мкл дээж нэмнэ. Хавтанг зайлаад А болон Е мөрний үүрнээс 10 мкл авч В болон F

мөрөнд шилжүүлэн хийнэ (1/100 шингэлэлт). Хавтанг зайлаад B болон F мөрний үүрнээс 10 мкл авч C болон G мөрөнд шилжүүлэн хийнэ (1/1000 шингэлэлт). Хавтанг зайлаад C болон G мөрний үүрнээс 10 мкл авч D болон H мөрөнд шилжүүлэн хийнэ (1/10,000 шингэлэлт). Хавтанг зайлна. Таньцлалт хийхгүйгээр вирус ялган авахад 1/10 болон 1/100 шингэлэлт хангалттай.

iii) Дээжийг тогтмол дулаанд байлгах

Шингэлсэн 50 мкл дээжийг шингэлэлт хийсэн хавтангаас авч үүрэнд нь макрофаг хийсэн хавтан дахь ижил байрлалтай үүрэнд шилжүүлэн хийнэ (эхний зорчуулалт). Тогтмол дулаанд 2-5 хоног байлгахдаа өдөр бүр ЭЭН-г ажиглана. 2 дахь өдөр нь шинэ бичил хавтанд (дээрхийг үзэх) макрофагийг суулгана. Эхний зорчуулалтын хавтангаас 25 мкл-ийг авч шинээр макрофаг суулгасан хавтан дахь ижил байрлалтай үүрэнд нэмнэ (хоёрдох зорчуулалт). Тогтмол дулаанд 2-5 хоног байлгахдаа ЭЭН-г өдөр бүр шалгана.

iv) Үр дүнг унших, үнэлэх

Эхний зорчуулалтын хавтан дахь ЭЭН илэрсэн макрофагтай үүрнүүдийг дээжийн хортой чанараас шалтгаалсан хуурамч эерэг урвал гэж үзнэ. Аль аль зорчуулалтын эсхүл зөвхөн хоёрдох зорчуулалтын хавтан дахь дахь ЭЭН үзүүлсэн макрофагтай үүрнүүдийг эерэг байж магадгүй гэж үзнэ. ЭЭН үзүүлээгүй дан үе макрофагтай бүх үүрийг ГҮАЗХШВ-д эерэг эсрэг ийлдэс эсхүл ИГЭБ ашигладаг дархлаа судлалын будалтын аргаар ГҮАЗХШВ агуулаагүй болохыг ялган тогтооно. ЭЭН үзүүлсэн эерэг дээжийг ялган тогтоохдоо ЭЭН эерэг дээжийн дээд талын шингэн хэсгийг эсхүл анхныхаа шингэлэлттэй байгаа дээжийг макрофагтай үүрэнд 24 болон 48 цаг өсгөвөрлөн улмаар ГҮАЗХШВ-д эерэг эсрэг ийлдэс эсхүл ИГЭБ ашигладаг дархлаа судлалын будалтын арга хэрэглэнэ.

v) ГҮАЗХШВ-д эерэг эсрэг ийлдэс эсхүл ИГЭБ ашиглан дархлаа судлалын будалт хийх арга

Дээд талын шингэн хэсэг эсхүл эдийн дээжээс 50 мкл авч Б.2.1 хэсэгт тодорхойлсны дагуу макрофагд халдвар хийгээд халдварласан эсийг 24 болон 48 цаг өсгөвөрлөнө. ГҮАЗХШВ-д эерэг ийлдсийг шингэлэгч буферт тохируулан шингэлж бэлтгээд Б.2.1 эсхүл Б.2.2-д тодорхойлсны дагуу макрофагийг дархлаа судлалын будалтын аргаар будна.

1.2. РНХ илрүүлэх арга

Урвуу транскрипцт полимеразагийн гинжин урвал (УТ-ПГУ), угсраа УТ-ПГУ, бодит цагийн УТ-ПГУ-аар ГҮАЗХШВ-ийн нуклейн хүчлийг илрүүлэх нь хамгийн нийтлэг хэрэглэгддэг оношилгооны арга юм (Kleiboeker *et al.,* 2005; Wernike *et al*., 2012a; 2012b). УТ-ПГУ нь өвөрмөц болон мэдрэх чанараар өндөр, бас тухайн үеийн халдварын байдлыг түргэн тогтоох давуу талтай. Гэвч идэвхгүйжүүлсэн вирусийг энэ аргаар халдвартай вирусээс ялгаварлаж чадахгүй. Эдийн болон ийлдэсний дээжид нуклейн хүчил илрүүлэх шинжилгээнд УТ-ПГУ ашиглана. Хээрийн нөхцөлд онош тавихын тулд шүлс бас шинжлэх нь найдвартай үр дүн өгдөг (Kittawornrat *et al*., 2010). Үржүүлгийн сүрэгт хийх ГҮАЗХШВ-ийн халдварын хяналт-шинжилгээнд ашиглаж болох популяцийн төвшний бусад сорьцод торойг хөнгөлөх, сүүл тайрах үед авч болох шүүгдэснээс бэлтгэсэн шингэн орно (Zimmerman *et al*., 2019). Үр шинжлэх (Christopher-Hennings *et al.,* 1997) болон дотроосоо задарч эхэлсэн эдийн дээж шинжлэх эсхүл вирус ялгахад зориулсан сорьцыг сэрүүн нөхцөлд

тээвэрлээгүйгээс вирус ялган авахад төвөгтэй болсон бол дээр дурдсан шинжилгээний аргууд ач холбогдолтой. Лаборатори өөрөө боловсруулсан заавар болон худалдаанд гарсан бэлэн цомгийн ихэнх нь ГҮАЗХШВ-1 болон 2 вирусийг зүйлийн төвшинд ялгаварлах боломжтой (Kleiboeker *et al.,* 2005; Wernike *et al*., 2012a; 2012b). Өвчний үүсгэгч генетикийн хувьд олон янз байдгаас болон праймер болон проб зөв холбогдоогүйгээс үүдсэн хуурамч сөрөг үр дүн гарах нь УТ-ПГУ хэрэглэхэд гардаг гол асуудал юм. Эдүгээ дан УТ-ПГУ-ыг хэрэглээд ГҮАЗХШВ-ийн омгуудыг, тэр дундаа ГҮАЗХШВ-1-ийн Европын 2–4-р дэд хэвшлийн доторх маш олон янзын омгийг илрүүлэх боломжгүй болж байна. УТ-ПГУ-ын үр дүнг тайлахдаа болгоомжтой хандаж ГҮАЗХШВ-ийн шинээр гарч байгаа омгийг ашиглан уг аргыг баталгаажуулж байхыг чухалчлах нь зүйтэй (Wernike *et al*., 2012a). Урвуу транскрипцэт-гогцоон холбоост изотермийн олшруулалтын (RT-LAMP) арга нь бодит цагийн УТ-ПГУ шиг нарийн багаж төхөөрөмж шаарддаггүй аргын өөр нэг хувилбар юм (Zimmerman *et al.,* 2019). Нуклейн хүчил илрүүлэх шинжилгээний бүх арга нь вирус ялгах аргаас илүү хурдан, эсийн өсгөвөр хэрэглэх шаардлагагүй, вирусийн зүйлийг хооронд нь ялгаварлахдаа бас давуу юм.

Дор жишээ болгосон УТ-ПГУ-ын шинжилгээгээр ГҮАЗХШВ-1 болон ГҮАЗХШВ-2 вирусийг хооронд нь ялгаварлах бөгөөд уг аргаар олшруулсан бүтээгдэхүүнийг илрүүлэхэд гель электрофорез (ердийн УТ-ПГУ) эсхүл гэрэл цацаргагч бодисоор тэмдэглэсэн өвөрмөц проб (бодит цагийн УТ-ПГУ) ашигладаг. Энэ аргачлалд үзүүлсэн олигонуклеотид нь ГҮАЗХШВ-ийн олон янзын омгийг өргөн хүрээнд таньж холбогдоно (Wernike *et al.,* 2012a). Гэвч УТ-ПГУ аргыг хэрэглэхдээ тухайн орон нутагт эргэлдэж байгаа омгийн нуклеотидийн дарааллыг тодорхойлох, шаардлагатай гэж үзвэл праймер болон пробын дарааллыг түүнд тохируулж өгөх нь чухал. Урвалын холимгийн найрлага, энзимийн шинж чанар, хэрэглэж байгаа дулаан сэлгэгчээс хамааруулан нуклейтидийг олшруулах мөчлөгийн нөхцөлийг тохируулна. Шинжилгээ хийх бүрдээ эерэг, сөрөг хяналтыг (ГҮАЗХШВ-1 болон ГҮАЗХШВ-2) хамт шинжилнэ. Нуклейн хүчлийг ялган авахад хэрэглэх эерэг болон сөрөг хяналт, бодит цагийн ПГУ-ын дотоод хяналт гэсэн нэмэлт хяналт хэрэглэх нь зүйтэй. Бохирдох боломжийг хамгийн бага төвшинд байлгах үүднээс зааврын дагуу шат дараалан хийх ажлыг (РНХ ялган авах, урвалын холимог бэлтгэх, РНХ темплат нэмэх, гель электрофорез явуулах) тус тусад нь гүйцэтгэхийг чухалчлах хэрэгтэй.

1.2.1. Ердийн УТ-ПГУ

i) РНХ ялган авах

ii) Урвуу транскрипц:

Урвуу транскрипцийг тусад нь (ө.х. 50°C-д 30 минут) эсхүл дор заасны дагуу нэг цодонд явуулах УТ-ПГУ-ын нэг хэсэг болгох,

iii) нэг шатат УТ-ПГУ-д хэрэглэх урвуу транскрипц (эцсийн эзлэхүүн 25 мкл)

УТ-ПГУ буфер	1× өтгөн (2.5 mM $MgCl_2$ орсон)
dNTPs холимог	эцсийн төвшрүүлэг 0.4 mM

Хөтлөх болон буцаах праймер: тус бүрийн эцсийн төвшрүүлэг 0.5 μM ГҮАЗХШВ-ийн ORF7/3’UTR мужаас хэсэгчлэн олшруулах праймер (Wernike *et al.,* 2012a):

Хөтлөх праймер	5’-ATG-GCC-AGC-CAG-TCA-ATCA-3’
Буцаах праймер	5’-TCG-CCC-TAA-TTG-AAT-AGG-TGA-CT-3’
УТ-ПГУ энзим холимог	Энзимийн зөвлөсөн нэгж

РНХ 5 мкл

RNase-үгүй ус 25 мкл хүртэл

iv) Дулаан сэлгэлтийн дараах зааврааар нэг шатат УТ-ПГУ явуулна :

Урвуу транскрипц 50°C -д 30 минут

Энзимийн шинж чанараас хамааруулан урвуу транскриптазаг идэвхгүйжүүлж полимеразаг идэвхжүүлэх:

Тус бүр 35 мөчлөгөөр

Денатурац 94°C-д 30 секунд

Праймер холбох 55°C -д 40 секунд

Уртасгах 72°C -д 50 секунд

Төгсгөлийн уртасгалт 72°-д 10 минут

v) Гель электрофорез

ПГУ-аар олшруулсан бүтээгдэхүүнээ 1.5% агароз дээр электрофорезоор гүйлгэж гэрэл цацаргагч будгаар (этидиум бромид эсхүл түүнтэй адилтгах) будаад UV гэрэлд харна. ПГУ-аар олширсон бүтээгдэхүүн ГҮАЗХШВ-1 вируст 398 х.с., харин ГҮАЗХШВ-2 вируст 433 х.с. урттай байна.

1.2.2. Бодит цагийн УТ-ПГУ

i) РНХ ялган авах

ii) Урвуу транскрипц

Урвуу транскрипцийг тусад нь (ө.х. 50°C-д 30 минут) эсхүл дор заасны дагуу нэг цодонд явуулах УТ-ПГУ-ын нэг хэсэг болгон явуулна

iii) Усжин задрах пробд суурилсан илрүүлэлтийн аргад тохирсон урвалж ашиглан урвалын холимог бэлтгэнэ. Дийлэнх ихэнхдээ ялган авсан 2-5 мкл РНХ орсон 25 мкл эзлэхүүнд урвал явуулна. Праймерийн эцсийн эзлэхүүн ойролцоогоор 0.4 мкМоль, пробынх 0.2 мкМоль байна.

Праймер болон пробын дараалал (Wernike *et al.,* 2012a)

ГҮАЗХШВ-1 (ORF6, ORF7)

EU-1 Хөтлөх праймер 5’-GCA-CCA-CCT-CAC-CCR-RAC-3’

EU-2 Хөтлөх праймер 5’-CAG-ATG-CAG-AYT-GTG-TTG-CCT-3’

EU-1 Буцаах праймер 5’-CAG-TTC-CTG-CRC-CYT-GAT-3’

EU-2 Буцаах праймер 5’-TGG-AGD-CCT-GCA-GCA-CTT-TC-3’

Проб EU-1 5’-(6-FAM)-CCT-CTG-YYT-GCA-ATC-GAT-CCA-GAC-(BHQ1)-

Проб EU-2 6-FAM-ATA-CAT-TCT-GGC-CCC-TGC-CCA-YCA-CGT-BHQ1

ГҮАЗХШВ-2 (ORF7, 3’UTR)

NA Хөтлөх праймер 5’-ATR-ATG-RGC-TGG-CAT-TC-3’

NA Буцаах праймер 5’-ACA-CGG-TCG-CCC-TAA-TTG-3’

NA Проб 5’-(TEX)-TGT-GGT-GAA-TGG-CAC-TGA-TTG-ACA-(BHQ2)-3’

iv) нэг шатат бодит цагийн УТ-ПГУ-ын дулаан сэлгэлтийн жишээ:

Урвуу транскоипц 50°C-д 30 минут

Урвуу транскриптазаг идэвхгүйжүүлж полимеразаг идэвхжүүлэх:: 95°C-д

15 минут

Тус бүр 45 мөчлөгөөр

Денатурац 94°-д 15 секунд

Праймер холбох 60°-д 60 секунд

Уртасгалт 72°C -д 10 секунд

Төгсгөлийн уртасгалт 72°C -д 10минут

v) Үр дүнг тайлах

Дараах тохиолдолд эерэг үр дүн үзүүллээ гэж үзнэ:

a) гэрэл цацаргалтын муруй хэв шинжит сигмоид хэлбэртэй байх

b) ГҮАЗХШВ-1 болон ГҮАЗХШВ-2 вируст зориулсан сувгийн гэрэл цацаргалт суурь гэрэл цацаргалтын заасан босго хэмжээнээс давсан байх (пробын задралтын улмаас урвалын сүүлчийн хэдэн мөчлөгийн үеэр өвөрмөц бус гэрэл цацаргалт бүртгэгдэж магадгүй). Гэрэл цацаргалт тогтоосон босго хэмжээг давж гэрэлтэхэд шаардагдах олшруулалтын мөчлөгийн тоог босго мөчлөгийн Ct утга гэж илэрхийлнэ.

c) Эерэг хяналт нь түүнд зориулсан сувгаар эерэг утга өгч харин сөрөг хяналтын гэрэл цацаргалт өсөөгүй.

Хэрэв дээрх нөхцөл хангагдаагүй бол шинжилгээг дахин хийнэ.

1.3. Бусад арга

Оношилгооны зорилгоор хэрэглэгдэх нь ховор боловч формалинд бэхжүүлсэн эдийн дээжид ГҮАЗХШВ-1 болон -2 вирусийг *in-situ* эрлийзжүүлгийн аргаар илрүүлэх хооронд нь ялгаварлах боломжтой. ГҮАЗХШВ-ийн, тэр дундаа ГҮАЗХШВ-1 генетикийн хувьд дотроо маш олон янз байдаг учраас дээрх аргаар ГҮАЗХШВ-ийн геномыг илрүүлэхэд түүний мэдрэх болон өвөрмөц чанар нь хүрэлцдэггүй. Вирусийн уургийг ялган тогтооход иммун гистохимийн аргыг хэрэглэж болох ба түүнийг формалинд бэхжүүлсэн эдийн дээжид хэрэглэн эсрэгтөрөгчийг тодийгүй бичил бүтцийн өөрчлөлтийг хамт харах боломжтой.

ПГУ-аар олшруулсан бүтээгдэхүүн дэх энзимээр таслагдах нуклейн хүчлийн хэрчмийн уртын полиморфизм (RFLP)-ын шинжилгээний аргыг боловсруулан ГҮАЗХШӨ-ий байгалийн болон вакцины омгийг ялгаварлахад ашиглаж байна (Zimmerman *et al.,* 2019). Гэвч омог хоорондын удамшлын хамаарал, тэдгээрийн эмгэг төрүүлэх чанарыг тодорхойлоход энэ аргын ач холбогдол бага болох нь батлагджээ. Хэдийгээр дээрх арга жишээ нь ойролцоо орших сүрэг хоорондын өвчний эпидемиологийн холбоо хамаарлыг тогтооход хэрэглэгдсээр байгаа ч түүний оронд ГҮАЗХШВ омог хоорондын молекул эпидемиологи болон удамшлын хамаарлыг судлах боломж олгодог нуклеотидийн дараалал тогтоох аргыг хэрэглэх нь улам нэмэгдэх болов. Дараалал тогтоох арга нь цаг хугацаа улирах явцад вирус хэрхэн өөрчлөгдөж байгааг сүргийн төвшинд хянан-шинжилж байх, зэрлэг болон вакцины омгийг ялгаварлах арга хэрэгсэл болохын хувьд олон чухал асуудлыг шийдвэрлэхэд хувь нэмэр болно.

Вирус саармагжуулах шинж чанартай холбоотой байдаг дугтуйн гол гликопротеин (GP5)-ийг кодлогч, маш хувьсамтгай ORF5 мужийн дараалал тогтоох аргыг хамгийн нийтэг ашигладаг. Гэвч 603/606 нуклеотид бүхий энэ хэсэг вирусийн геномын дөнгөж 4%, бүтцийн генүүдийн 12%-ийг хамарна. ORF5 мужийн дараалал, эмгэг төрүүлэх болон солбицон хамгаалах чанарын түүхэн хувьсал өөрчлөлтөөр нь ангилж үзэхэд тэдний хооронд шүтэлцээ байдаггүй нь тогтоогджээ. Ийм учраас энэ аргыг вирусийн омгийн хоруу чанарыг урьдчилан таамаглах, хамгийн үр нөлөөтэй байж чадах вакцины омог сонгоход ашиглах боломжгүй. Үүнээс гадна байгаль дээр

генийн рекомбинац маш их явагддаг учраас энэ нь геномын дээрх богинохон хэрчмийн дараалалд суурилж гаргасан вирусийн хувьсал өөрчлөлтийн судалгаа шинжилгээний үр дүнд нөлөөлж рекомбинант омгуудыг буруу ангилахад хүргэнэ (Martin-Valls *et al*., 2014).

Хэдийгээр дээрх асуудал гардаг ч ORF5 хэсгийн дарааллыг тогтоож нээлттэй санд хуримтлагдсан ORF5 мужийн дарааллын арвин мэдээлэлтэй харьцуулах замаар түүнийг ГҮАЗХШВ-ийн омгийн генетик бүтцийг илүү гүнзгий ойлгоход өргөн ашиглаж байна. ГҮАЗХШВ-ийн түүхэн хувьсал өөрчлөлтийн хамгийн их мэдээлсэн судалгаанд ORF5 мужийн шинжилгээний баримт мэдээллийг ашигласан ба бүтэн геномын дараалал тогтоох нь вирусийн хувьсан хөгжлийг улам сайн ойлгох, эпидемиологийн хяналт-шинжилгээ болон омгийн ангиллыг төгөлдөржүүлэх боломж олгож байгааг харьцуулсан дүн шинжилгээгээр нотлон харуулжээ (Lalonde *et al*., 2020; Martin- Valls *et al*., 2014).

ГҮАЗХШВ-ийн нийт геномын дарааллын мэдээлэл одоохондоо бага байгаа ч дараалал тогтоох өндөр бүтээмжтэй технологи хөгжүүлснээр энэ салбарт дэвшил тасралтгүй гарсаар байна.

1.3.1. ORF5 хэсгийн дараалал тогтоох ПГУ

i) Праймер:

ORF5 хэсгийн дараалал тогтооход тохирох праймерийн олон янзын дараалал хэвлэлд нийтлэгджээ (Wernike *et al*., 2012a). ГҮАЗХШВ-ийн генетикийн олон янз байдал, цэгэн мутацид орсон нуклеотидийн хуримтлалаас шалтгаалан зарим праймер вирусийн тодорхой омгийг зөв онож илрүүлэхгүй байж болзошгүй учраас хэрэв ПГУ-ын бүтээгдэхүүнд нуклеотидийн дараалал тогтооход сөрөг үр дүн гарвал прймерийн өөр хувилбар хослолыг ашиглах хэрэгтэй.

Балка нарын (2018) хэрэглэдэг праймерийн дараах хослол ашигладаг:

ГҮАЗХШВ-1: Хөтлөх: 5’-TTC-ACA-GAT-TAT-GTG-GCC-CAT-GTG-AC-3’

(хувилбар нь 5’-GCG-TYA-CRG-ATT-ATG-TGG-CYC-AYG-T-3’)

Буцаах: 5’-CGY-GAC-ACC-TTR-AGG-GCR-TAT-ATC-AT-3’

ГҮАЗХШВ-2:Хөтлөх: 5’-GTC-AAY-TTT-ACC-AGY-TAY-GTC-CAA-CA-3’

Буцаах: 5’-AGR-GCA-TAT-ATC-ATY-ACY-GGC-GTG-TA-3’

ii) ГҮАЗХШВ-ийг өндөр, дунд зэрэг тоогоор агуулах биеийн шингэн эсхүл эдийн дээжээс РНХ ялган авах

iii) Тохирох буфер болон нэг шатат УТ-ПГУ-ын энзимийн холимог (урвуу транскрипц болон ПГУ-ыг тус тусад нь явуулах хувилбар бий) ашиглан урвалын холимгийг бэлтгэнэ. Урвал нэг бүрд хөтлөх болон буцаах праймераас 10 pmol хэрэглэнэ. Хэрэв буферт өмнө нь холиогүй бол dNTP-г 400 мкМоль эцсийн төвшрүүлэгтэй байхаар тооцож нэмнэ. RNAse идэвхгүйжүүлэгчийг зөвлөсөн тунгаар нэмж болох сонголт бий. Урвал тус бүрд RNAse агуулаагүй 25 мкл хүртэл ус байхаар тооцож урвалын холимогт нэмнэ.

iv) Бэлтгэсэн урвалын холимгоос 22 мкл-ээр тасалж жижиглэн хуваагаад ПГУ-ын цодонд хийж дээжийн РНХ 3 мкл нэмнэ. Урвалын эерэг болон сөрөг хяналтыг тус тусад нь цодонд хийнэ.

v) Нэг шатат УТ-ПГУ жишээ заавар ёсоор дараах шаттай байна: 50°C-д 30 минут; 95°C-д 15 минут; 35× (94°C-д 1 минут, 55°C-д 1 минут, 72°C-д 1 минут), 72°C-д 10 минут (хэрэглэж байгаа энзим, урвалжаас хамааруулан температурыг тохируулах шаардлага гарч болзошгүй).

vi) Өмнөх урвалаар олшруулсан бүтээгдэхүүнийг 1.5%-ийн агарозын гель дээр электрофорез явуулж түүнд агуулагдаж болох нуклеотидийн хэмжээг эерэг хяналт болон жиших бэлдмэлээс үүсэх толботой харьцуулан шалгана.

vii) ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг цаашид цэвэршүүлэх, нуклеотидийн дараалал тогтоох, вирусийн хувьсан хөгжлийн шинжилгээ хийхэд хэрэглэнэ.

2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ

Ийлдсэн дэх ГҮАЗХШВ-ийн эсрэг биеийг илрүүлэх төрөл бүрийн шинжилгээний аргыг боловсруулжээ. Ерөнхийдөө ийлдэс судлалын оношилгоог сүргийн төвшинд хийхэд хялбар, өвөрмөц болон мэдрэх чанар сайтай байдаг. Эхээс дамжиж ирсэн эсхүл өмнөх вакцинжуулалтаас үлдсэн эсрэг бие будилуулж болзошгүй учраас ганцхан удаа дээж авч шинжлэх нь оношилгооны ач холбогдлоор бага юм. Бодгаль амьтанд халдвар идэвхтэй хадгалагдаж байгааг оношлохын тулд өвчний цочмог үед болон эдгэрсний дараа авсан ийлдэсний дээжийг шинжилж эсрэг биеийн урвал хэрхэн өөрчлөгдсөнийг тогтоон харуулна Ерөнхийдөө ийлдэс судлалын шинжилгээнд дан үе эсэд явуулах дархлааны урвалыг пероксидазагаар илрүүлэх арга (ДЭДУПИ), иммунфлюоресценцийн арга (ИФА), дотроо олон төрөлтэй энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА) зэрэг эсрэг бие эсрэгтөрөгчтэй холбогдох зарчимд суурилсан арга орно (Diaz *et al*., 2012; Jusa *et al.,* 1996; Sorensen *et al.,* 1998; Venteo *et al*., 2012; Yoon *et al.,* 1992). Эдгээр шинжилгээний аргыг ихэнхдээ нэг угсааны вирусийн эсрэгтөрөгчийг илрүүлэхэд хэрэглэх ба бусад эсрэгтөрөгчийг илрүүлэхэд зориулагдсан эсрэг бие өөр угсааны эсрэгтөрөгчийг мэдэрч илрүүлэхдээ сул байж болзошгүй. Саатуулагч ЕЛИЗА аргыг Дани улсад өргөн хэрэглэж байгаа ба ГҮАЗХШВ-1 болон -2 вирус аль алийг эсрэгтөрөгчөөр ашиглан давхар ЕЛИЗА хэлбэрийн аргыг боловсруулаад энэ хоёр зүйлийг ийлдэс судлалын аргаар ялгаварлаж байна (Sorensen *et al.,* 1998). ГҮАЗХШВ-2 вируст суурилан өөрчилсөн амьд вакцин хэрэглэснээс хойш болон өөр замаар нэвтэрсэн ГҮАЗХШВ-2 омог Европт эргэлдсээр байгаа учраас энэ арга маш их ач холбогдолтой байна (Stadejek *et al*., 2013). Хойд Америк болон Азид ГҮАЗХШВ-1 омгийг илрүүлэн ялган тогтоосныг бас мэдээлж байна (Kleiboeker *et al*., 2005; Zimmerman *et al.,* 2019).Европт гарсан ГҮАЗХШВ-2 халдварын болон Хойд Америк болон Азид гарсан ГҮАЗХШВ-1 халдварын тархалтын баримт мэдээлэл ховор байна. ГҮАЗХШВ-ийн хоёр хэвшил дэлхий дахинаа тархсан учраас ийлдэс судлалын шинжилгээний аргад энэ хоёр зүйлийн эсрэгтөрөгчийг оруулан ашигладаг байх хэрэгтэй. Мэдрэх болон өвөрмөц чанар сайтай ЕЛИЗА худалдаанд гарсныг хооронд нь харьцуулан судалж байна (Biernacka *et al.,* 2018; Diaz *et al*., 2012, Venteo *et al*., 2012).

Вирусийн эсрэг биеийг түүнийг таньж холбогддог шинжилгээний аргаар халдвар авснаас хойш 7-14 хоногт илрүүлж болох ба 30-50 хоногт эсрэг биеийн таньц дээд хэмжээндээ хүрнэ. Зарим гахайд 3-6 сарын дотор ийлдэсний урвал сөрөгжиж болзошгүй ч бусад гахайн ийлдсэнд эерэг урвал илүү удаан хадгалагдана. ГҮАЗХШВ-ийн эсрэг бие булчингийн шүүрдэс болон амны хөндийн шингэнд бас илэрнэ. Саармагжуулах эсрэг бие алгуурхан үүсэх ба төдийлөн өндөр төвшинд хүрдэггүй. Саармагжуулах эсрэг бие халдвар авснаас хойш 3-4 долоо хоногт илэрч нэг жил, түүнээс ч урт хугацаанд хадгалагдах эсхүл шинжилгээгээр илрэхээргүй хэмжээнд очно. Ийлдсээр вирус саармагжуулдаг шинжилгээний мэдрэх чанарыг нэмэхийн тулд хавсарга хэрэглэх талаар мэдээлжээ (Jusa *et al*., 1996). Халдвар авсны дараах эсрэг биеийн таньц хэр зэрэг үргэлжлэх талаар далайцтай судалгаа хийгээгүй бөгөөд ямар арга хэрэглэн шинжилснээс үр дүн нь хамаардаг бололтой.Эхээс дамжин ирэх эсрэг биеийн хагас задралын хугацаа 12-14 хоног бөгөөд эхийн эсрэг биеийн таньц ерөнхийдөө төллөснөөс хойш 4-8 долоо хоног өнгөртөл илэрсээр байх ба энэ нь мэгж торойлох үед байсан эсрэг биеийн таньц, хийсэн шинжилгээний аргаас хамаарна. Халдвартай орчинд байж ийлдсэндээ эерэг урвалтай болсон мэгжээс төрсөн торойн ийлдсийн урвал 3-7 долоо хоногийн хоногийн бойжилттой болсноос хойш эрчимтэй өөрчлөгдөнө.

Макрофагийг ашиглан вирус ялган авах боломж бүрдүүлсэн лабораторид дээрх хоёр

зүйлийн вирусийг ашиглан хялбархан хийж болох ДЭДУПИ аргыг энэ бүлэгт дэлгэрэнгүй тайлбарлана. Бас энэ шинжилгээг MARC-145 шугаман эс ашиглан хоёр зүйлийн вируст илрүүлэхэд хэрэглэж болно (Jusa *et al.,* 1996). ГҮАЗХШВ-ийг ийлдэс судлалаар илрүүлэхэд MARC-145 шугаман эс ашиглан явуулж болох шууд бус иммунфлюоресценцийн аргыг (ИФА) энэ бүлэгт бас оруулав.

2.1. Эсрэг биеийг дан үе эс ашиглан иммунпероксидазагаар илрүүлэх

Бичил хавтангийн үүрнүүдэд цулцангийн макрофагийг суулгана. Хавтанд бэхлэгдсэний дараа макрофагийг ГҮАЗХШВ-ээр халдварлуулна. Үүрэн дэх макрофагийн 30–50 орчим хувийг халдварлуулахыг эрмэлзэх ба ингэснээр өвөрмөц бус ийлдсийг ялгаварлах боломжтой болно. Тогтмол дулаанд байлгасны дараа макрофагт бэхжүүлэлт хийгээд ийлдсийн шинжилгээнд хэрэглэх эсийн субстратаар ашиглана. Макрофаг эсийн оронд MARC 145 эс ашиглах өөр хувилбар арга бий. Хавтан тус бүрд 11 ийлдсийг хосоор нь шинжлэх боломжтой. Шинжилсэн ийлдсийг шингэлээд эсийн субстраттай хамт тогтмол дулаанд байлгана. Хэрэв шинжилсэн ийлдсэнд эсрэг бие агуулагдаж байвал тэрээр макрофагийн цитоплазм дахь эсрэгтөрөгчтэй холбогдоно. Холбогдсон эсрэг биеийг тогтмол дулаанд дахин байлгах үе шатад гахай-эсрэг тунхууны пероксидаза коньюгатаар ирүүлнэ. Эцэст нь эсийн субстратыг хромоген/субстратын[1] уусмалтай хамт тогтмол дулаанд байлгана. Шинжилгээний үр дүнг урвуу микроскопоор уншина.

2.1.1. Бичил хавтанд макрофаг суулгах

i) 6×10^7макрофаг бүхий 1.5 мл нэг цодонгийн агуулагдахууныг гэсгээнэ.

ii) Хавтангийн үүрийг 50 мл ФБУ-аар нэг удаа угаагаад эсийн цийдмэгийг 300 *g* хурдаар 10 минут (тасалгааны хэмд) хурилдуурдана.

iii) эсийг 1% глутатион, 10% ФБУ, 100 ОУН (олон улсын нэгж) пенициллин, 1 мл тутамд 100 мкг стрептомицин нэмсэн 40 мл RPMI 1640 тэжээлт орчинд (өсгөвөрлөх орчин) хийнэ.

iv) бичил хавтангийн үүр бүрд 100 мкл эсийн цийдмэгийг тарааж хийнэ (хавтангийн үүр тус бүрд 105 эс хийхэд нэг цодон эс дөрвөн хавтанд хүрэлцэнэ).

v) хавтанг чийгшүүлэгчтэй, 5% CO_2 бүхий дулаан тогтоогуурын 37°C-д 18 – 24 цаг байлгана. Тэжээлт орчин болгон HEPES буфер (N-2-hydroxyethylpiperazine, N-2-ethane-sulphonic acid) хэрэглэх өөр нэг хувилбар бий.

2.1.2. ГҮАЗХШВ-ээр халдварлуулах

i) Үүр ту бүрд 10^5 TCID50/мл бүхий вирусийн цийдмэг нэмэх, гэхдээ хоёр үүрэнд вирусийн цийдмэг хийлгүй үлдээж хяналт болгоно.

ii) 5% CO_2 бүхий дулаан тогтоогуурын 37°C-д 18 –24 цаг байлгана

2.1.3. Эсийг бэхжүүлэх

i) Тэжээлт орчныг зайлуулаад хавтангийн үүрийг физиологийн уусмалаар нэг удаа зайлна.

ii) Хавтанг алчуур дээр хөмрөн зөөлөн тогшиж үлдсэн шингэнийг аваад 37°C-д 45 минут таггүй байлгана.

iii) Хавтанг таглалгүйгээр –20°C-д 45 минут хөлдөөнө (тэр даруйдаа шинжилгээнд ашиглахгүй хавтанг битүүмжлэн хулдаад –20°C-д хадгална).

iv) Эсийг 4% хүйтэн параформальдгидад (ФБУ-д) тасалгааны хэмд 10 минут байлгана. Эсийг мөсөн дээр хөргөсөн абсолют этилийн спиртэд 5°C-д 45 минут байлгах эсхүл мөсөн дээр хөргөсөн 80% ацетонд 45 минут бэхжүүлэх өөр хувилбар бий.

v) Параформальдгидийг зайлуулан хавтангийн үүрийг физиологийн уусмалаар нэг удаа зайлна.

2.1.4. Шингэлэлтийн хавтанд ийлдэс шингэлж бэлтгэх

i) адууны ийлдэс 4%, Твин 80 0.5%, pH 7.2 (шингэлэгч буфер) бүхий 0.5 M NaCl-оос 180 мкл-ийг хоосон хавтан (гууд)-ын A ба E мөрний үүрэнд тарааж хийнэ

ii) Бусад бүх үүрэнд 120 мкл шингэлэгч буфер тарааж хийнэ.

iii) Шинжлэх эсхүл хяналтын 20 мкл ийлдсийг A ба E мөрний үүрэнд нэмээд (= 1/10 шингэлэлт) зайлж өгнө

iv) A ба E мөрний үүрнээс 40 мкл авч B болон F үүрэнд шилжүүлэн хийж ийлдсийг 4 дахин шингэлэх ба энэ маягаар цааш нь 1/40, 1/160, 1/640-өөр шингэлнэ.

2.1.5. Бэхжүүлсэн макрофагтай хавтанд хийсэн ийлдсийг дулаан тогтоогуурт байлгах

i) Хоосон хавтан (гууд) -ынүүр тус бүрээс 50 мкл-ийг авч бэхжүүлсэн макрофагтай хавтан дахь ижил байрлалтай-харгалзах үүрэнд шилжүүлэн хийнэ. Хавтанг битүүмжлээд 37°C-д 1 цаг өсгөвөрлөнө.

ii) Шингэлсэн ийлдсийг зайлуулаад хавтанг 0.15 M NaCl + 0.5% Твин 80 -аар 3 удаа зайлна.

2.1.6. Коньюгаттай хамт дулаан тогтоогуурт тавих

i) Гахай-эсрэг (эсхүл хэрэв ИГЭБ-ийг салгахын тулд хавтанг будах бол хулгана-эсрэг) туулайн HRPO коньюгатыг 0.15 M NaCl + 0.5% Твин 80-д урьдчилан тооцоолсны дагуу шингэлнэ. Шингэлсэн 50 мкл коньюгатыг хавтан (гууд)-ын бүх үүрэнд нэмнэ. Хавтан (гууд)-ыг битүүмжлээд 37°C-д 1 цаг байлгана. Хавтанг 3 удаа зайлна.

2.1.7. Будах аргачлал

i) Хавтан (гууд)-ын бүх үүрэнд хромоген/субстратын (AEC) шүүсэн уусмалаас 50 мкл хийнэ (зүүвэр 3-ыг үзэх).

ii) AEC-г тасалгааны температурт 30 минутаас багагүй хугацаагаар байлгана.

iii) AEC-ийн оронд pH 5.0 бүхий 0.05 M цуу хүчлийн натри 50 мкл хийнэ (3 үзэх).

2.1.8. Үр дүнг унших ба тайлах

Шинжилсэн ийлдсэнд эсрэг бие агуулагдаж байгаа бол хавтангийн үүр дэх эсийн ойролцоогоор 30-50%-д цитоплазм нь хромогенээр гүн улаан өнгөөр будагдана. Дээж сөрөг байгаа бол цитоплазм будагдахгүй. Ийлдэс өвөрмөц бус урвал үзүүлбэл хавтангийн үүрэн дэх бүх эс будагдана (эерэг хяналтын ийлдэстэй харьцуулахад). Ийлдсийн таньц үүрний 50% ба түүнээс дээш хувийг будсан хамгийн их шингэлэлтийн эсрэг утгаар илэрхийлэгдэнэ. Таньц нь <10 ийлдсийг сөрөг гэж үзнэ. Таньц нь 10 эсхүл 40 байгаа ийлдсийг сул эерэгт тооцно. Эдгээр шингэлэлтэд голдуу өвөрмөц бус будагдалт илэрдэг. Таньц нь ≥160 ийлдсийг эерэг гэж үзнэ.

2.2. Шууд бус иммунфлюоресценцийн аргаар эсрэг бие илрүүлэх

Хэдийгээр орчин үед хэрэглэх иммунфлюоресценцийн нийтээр хүлээн зөвшөөрсөн нэг ч стандарт арга байхгүй ч Хойд Америкийн янз бүрийн лабораторид энэ аргын хэд хэдэн заавар боловсруулан ашиглаж байна. ИФА-аар шинжилгээ хийхдээ бичил таньцлалтын хавтан эсхүл найман тасалгаатай тавиур шилэнд MARC-145 шугаман эс болон MARC-145 эсэд дасгасан ГҮАЗХШВ-ийн өсгөвөр ашиглана. Пестивирустэй солбицох урвалд орохоос сэргийлэх үүднээс пестивирус агуулаагүй эс болон ФБУ-ыг тэжээлт орчинд нэмж хэрэглэхийг зөвлөдөг. Өсгөвөрлөсний дараа ГҮАЗХШВ-ээр халдварлуулсан эсийг бэхжүүлээд ийлдэс судлалын шинжилгээнд эсийн субстрат болгон ашиглана. Илрүүлэх шинжилгээнд зориулан шинжлэх ийлдсийг 1/20-иор нэг удаа шингэлээд ийлдсийг энэ шингэлэлтэд эерэг эсхүл сөрөг байсан эсэхээр үнэлгээ өгнө. Шинжлэх гахай бүрийн ийлдсийг ГҮАЗХШВ-ээр халдварлуулсан хавтангийн үүр эсхүл тавиур шилний тасалгаанд нэмнэ. Ийлдсэнд ГҮАЗХШВ-ийн эсрэг бие байвал халдвар авсан эсийн цитоплазм доторх эсрэгтөрөгчтэй холбогдоно. Энэ шатын дараа флюоресцеинтэй коньюгатласан гахай-эсрэг-IgG нэмэх ба энэ нь халдвар авсан эс дэх ГҮАЗХШВ-ийн эсрэгтөрөгчтэй холбогдчихсон байсан гахайны эсрэг биетэй холбогдоно. Урвалын үр дүнг флюоресцент микроскопоор уншина. Бичил таньцлалтын хавтанг ийлдсийг таньцлах зорилгоор бэлтгэж болно (Доорх Б.2.3 хэсгийг үзэх).

2.2.1. MARC-145 эсийг бичил хавтанд суулган халдварлуулах

i) 96 үүртэй хавтангийн 2, 4, 6, 8, 10, 12 дугаар баганын үүр тус бүрд ФБУ агуулаагүй эсийн өсгөврийн тэжээлт орчноос (ө.х. 2 mM L- глутамин, 1 mM пуриват натри, 100 ОУН/мл пенициллин 100 мкг стрептомицин агуулсан Minimal Essential Medium [MEM]) 50 мкл-ийг олон сувагт сорууpаар авч нэмнэ.

ii) 96 үүртэй бичил хавтанд суулгахад ашиглах зайгүй битүү ургалттай MARC-145 эсийг (эсийн өсгөврийн колбод ургасан) трипсинээр боловсруулаад эсийг ҮХИ 8%-иар агуулсан эсийн өсгөврийн тэжээлт орчноор 100,000–125,000 эс/мл төвшрүүлэгтэйгээр уусган сэргээнэ. ИФА-д зориулан долоо хоногт нэг удаа трипсин/ЭДТА ашиглан эсийн өсгөврийн колбоноос MARC-145 эсийг авч трипсинжүүлээд 250,000 эс/мл тунгаар эсийн өсгөврийн колбод суулгана. Эсийн өсгөврийн колбод 4 хоног байлгасны дараа 3 хоногийн турш ҮХИ 2%-иар агуулсан эсийн өсгөврийн шинэ тэжээлт орчин нэмнэ.

iii) Олон сувагт сорууp ашиглан 96 үүртэй бичил хавтангийн үүр бүрд 150 мкл эсийн цийдмэг хийнэ

iv) Dilute ГҮАЗХШВ-ийн бэлдмэлийг ФБУ агуулаагүй MEM-д $10^{2.2}$ TCID50/50 мкл төвшрүүлэг хүртэл шингэлж түүнээс 50 мкл-ээр авч 1, 3, 5, 7, 9, 11 баганын үүр тус бүрд тарааж хийнэ.

v) Шууд бус иммунфлюоресценийн аргаар шалгахад ойролцоогоор эсийн 40–50%-нь халдварласан дан үе тогтсон байхаар тооцож хавтанг 5% CO_2 бүхий агаартай, чийгшүүлэгчтэй, 37°C хэмийн дулаан тогтоогуурт 48–72 орчим цаг байлгана. Бичил хавтанд эхлээд MARC-145 эсийн цийдмэг (ө.х. ҮХИ 5–10%-иар нэмсэн тэжээлт орчинд 100,000 эс/мл төвшрүүлэгтэй болгох) суулгаад эс зайгүй битүү ургатал 72 цаг хүртэл хугацаагаар өсгөвөрлөх хувилбар бий. Дараа нь ГҮАЗХШВ-ийн бэлдмэлээс үүр тус бүрд 50 мкл (ө.х. 10^5 TCID50/мл) нэмж хавтанг бэхжүүлэхийн өмнө дахин 48–72 цаг дулаан тогтоогуурт тавина. CO^2-той дулаан тогтоогуур байхгүй нөхцөлд pH-ыг тогтворжуулахын тулд

тэжээлт орчинд HEPES гэх мэт органик буфер хэрэглэхийг зөвлөдөг.

2.2.2. MARC-145 эсийг найман тасалгаатай тавиур шилэнд суулган халдварлуулах

i) Найман тасалгаатай тавиур шилний тасалгаа бүрд 100,000 эс/мл төвшрүүлэгтэй MARC-145 эсийн цийдмэгээс (ө.х. ҮХИ 10%-иар нэмсэн MEM-д) 500 мкл нэмнэ

ii) Эсийг 5% CO_2 бүхий агаартай, чийгшүүлэгчтэй, 37°C хэмийн дулаан тогтоогуурт эс зайгүй битүү ургатал 48–72 орчим цаг өсгөвөрлөнө.

iii) Тасалгаа бүрд 10^5 TCID50/мл эс агуулсан ГҮАЗХШВ-ийн 50 мкл цийдмэг нэмээд эсийг цааш нь 5% CO_2 бүхий агаартай, чийгшүүлэгчтэй, 37°C хэмийн дулаан тогтоогуурт 18 орчим цаг өсгөвөрлөнө. Энэ үед шууд бус иммунфлюоресценцийн аргаар шалгахад харааны талбай бүрд халдварласан эс 15-20 ш харагдана.

2.2.3. Эсийг бэхжүүлэх

i) Тэжээлт орчны зайлуулаад ФБУ-аар нэг удаа зайлж ФБУ-ыг зайлуулна. Тасалгаатай тавиур шилнээс хуванцар таславчийг нь аваад жийргийг хэвээр үлдээнэ.

ii) 96 үүртэй хавтангийн үүр бүрд 150 мкл, хүйтэн (4°C) ацетон (80%-иар усанд) нэмнэ. Хавтанг 4°C-д 30 минут байлгана Тасалгаатай тавиур шилэнд эс бэхжүүлэхийн тулд тасалгааны хэмтэй болгосон ацетоноор (80–100%) тасалгааны хэмд 10–15 минут үйлчлүүлнэ. Зарим үйлдвэрлэгчийн брэнд ацетон тавиур шилний таславчийн жийргийг муутгаснаас шилэн дээр хальс тогтчихдог учраас бэхжүүлэлтэд тогтмол хэрэглэх ацетоны чанарыг шалгаж байхыг зөвлөдөг.

iii) Ацетоныг зайлуулаад хавтан болон тавиур шилийг тасалгааны хэмд хатаана.

iv) Хавтанг дараа нь гялгар уутанд хийж битүүмжлээд хэрэглэх хүртлээ –70°C-д хадгална. Тасалгаат тавиур шилийг зориулалтын саванд хийгээд дээрхийн адилаар хадгална.

2.2.4. Ийлдсийг шингэлж бэлтгэх

i) Ийлдэсний дээжийг 96 үүртэй тусдаа хавтанд ФБУ-аар (0.01 М; pH 7.2) 1/20-иор шингэлнэ (ө.х. олон сувагт соруур ашиглан 190 мкл ФБУ, улмаар 10 мкл шинжлэх ийлдэс нэмнэ).

ii) ГҮАЗХШВ-ийн эсрэг биеийн агууламжаар эерэг болон сөрөг нь тогтоогдсон жиших ийлдсийг хяналт болгон шинжилнэ.

2.2.5. Ийлдсийг бэхжүүлсэн MARC-145 эстэй хамт тогтмол дулаанд байлгах

i) –70°C хөлдөөгчид хадгалсан хавтанг гарган тасалгааны хэмтэй болгоод эсийг 150 мкл ФБУ-аар цөөн хэдэн минут усгүйжүүлнэ. Хавтанг хөмөрч ФБУ-ыг зайлуулаад цаасан алчуур дээр товшин хатаана. Найман тасалгаат тавиур шилний эсийг усгүйжүүлэхгүй.

ii) Халдварлуулаагүй, бэхжүүлсэн эстэй нэг үүрэнд, түүнчлэн халдварлуулсан бөгөөд бэхжүүлсэн эстэй өөр нэг үүрэнд шингэлсэн ийлдэс тус бүрээс 50 мкл-ийг авч нэмнэ. Ийлдэс тус бүрээс адил хэмжээгээр авч тавиур шилний нэг тасалгаанд нэмнэ.

iii) Дээрхтэй адилхан маягаар сөрөг хяналт болон эерэг хяналтын ийлдэсний шингэлэлтээс 50 мкл нэмнэ.

iv) Хавтанг тагтай нь чийгтэй агаартай, 37°C дулаан тогтоогуурт 30 минут байлгана. Тасалгаат тавиур шилийг хайрцаг эсхүл тавиур шилний үүрэнд хийгээд дээрхтэй адилхан тогтмол дулаанд байлгана.

v) Ийлдсийн дээжийг аваад хавтанг хөмрөн цаасан алтуур дээр товшиж хатаана. 200 мкл ФБУ ашиглан нийт зургаан удаа угаана. Үүр бүрд ФБУ нэмээд хавтанг хөмрөн ФБУ-ыг зайлуулна. Ийлдсийн дээжийг авсны дараа ФБУ-аар зайлаад дараа нь10 минут угаана.

2.2.6. Коньюгаттай хамт тогтмол дулаанд байлгах

i) ФИТЦ (флюорецеин изотиоцианат)-тэй коньюгатласан, туулай, хулгана, ямааны гахай-эсрэг IgG (хүнд болон хөнгөн гинж)-ыг зохих ёсоор шингэлээд (шинэхэн бэлтгэсэн ФБУ) олон сувагт сорууpаар үүр тус бүрд 50 мкл нэмнэ. Адилхан эзлэхүүнийг тавиур шилний тасалгаанд нэмнэ.

ii) Хавтан эсхүл тасалгаат тавиур шилийг тагтай нь чийгтэй агаартай, 37°C дулаан тогтоогуурт 30 минут байлгана.

iii) Коньюгатыг авсны дараа хавтанг цаасан алчуур дээр хөмрөн тогшиж хатаана. Дээр дурдсаны дагуу ФБУ ашиглан хавтанг нийт дөрвөн удаа угаана. Тавиур шилний тасалгаанаас коньюгатыг аваад ФБУ-аар зайлж ФБУ-д 10 минут угаагаад нэрмэл усаар зайлна. Тавиур шилийг уудаг цаасан дээр хөмрөн товшиж усыг шингээж авна.

iv) Флюоресценцийн микроскопоор хавтан болон тавиур шилийг харж үр дүнг гаргана.

2.2.7. Үр дүнг унших болон тайлах

Халдварласан эсийн цитоплазмд ногоон гэрэл цацарч байхад халдварлаагүй эсэд ийм гэрэлтэлт байхгүй байвал ийлдэсний тухайн шингэлэлтэд ГҮАЗХШВ-ийн эсрэг бие агуулагдаж байгааг илтгэнэ. Гэрэл цацралтын эрчим нь шинжилсэн дээж дэх ГҮАЗХШВ-ийн өвөрмөц эсрэг биеийн агууламжаас хамааран янз бүр байна.

Халдварласан болон халдварлаагүй эс хоёулд өвөрмөц ногоон гэрэл цацрахгүй байвал шинжилсэн ийлдэсний тухайн шингэлэлтэд ГҮАЗХШВ-ийн эсрэг бие илрэхгүй болохыг илтгэнэ. Эсрэг ийлдэс нэмсэн халдвартай эсэд гэрэл цацрахгүй эсхүл сөрөг ийлдэс нэмсэн халдвартай эсэд гэрэл цацарч байвал шинжилгээг дахин хийнэ. Халдварлуулаагүй эсэд хяналтын аль ч ийлдсийг нэмэхэд гэрэл цацралт илрэхгүй байх ёстой. Сэжигтэй дүн үзүүлсэн ямар ч ийлдсийг 1/20 шингэлээд дахин шинжлэх ба үр дүн нь тодорхойгүй ийлдэс гарвал тухайн амьтнаас нэмэлт шинжилгээнд зориулан шинээр ийлдэс авч ирүүлэх шаардлагатай.

2.3. Ийлдсийн эсрэг биеийн таньцыг ИФА-аар тогтоож үнэлгээ өгөх

Ийлдсийн таньц тогтооход бичил таньцлалтын хавтан болон ИФА-ыг бас хэрэглэдэг. 96 үүртэй бичил хавтанд 16 хүртэл ийлдийг таньцалж болно.

2.3.1. Шинжилгээний аргачлал

i) 96 үүртэй бичил хавтанд MARC-145 эс (төвшрүүлэг нь үүр бүрд 10^4 эс) эсхүл PAM эс (ойролцоогоор үүр бүрд 10^5 эс) суулган 5% CO_2 бүхий агаартай, чийгшүүлэгчтэй, 37°C хэмийн дулаан тогтоогуурт эс зайгүй битүү ургатал өсгөвөрлөнө.

ii) Хавтангийн үүр тус бүрд халдвартай ойролцоогоор 100 эсийн голомт

үүсгэж чадах төвшрүүлэгтэй болгон тохируулсан (үр дүнг зөв уншихад хялбар болгох үүднээс) ГҮАЗХШВ-ийн цийдмэгээс 1, 6, 11 дүгээр баганын үүрнээс бусад бүх үүрэнд халдварлуулна. Хавтанг 5% CO_2 бүхий агаартай, чийгшүүлэгчтэй, 37°C хэмийн дулаан тогтоогуурт 48–72 цаг байлгана.

iii) Эсийн өсгөврийн тэжээлт орчныг зайлуулаад дан үе эсийг ФБУ-аар (0.01 М, pH 7.2) нэг удаа зайлна. Дан үе эсийг орчны температурт хүйтэн ацетоноор (80%-ийн усан уусмал) 10 минут бэхжүүлнэ. Ацетоныг зайлуулаад хавтанг агаарт хатааж хэрэглэх хүртлээ түр хадгалах бол –20°C-д, удаан хадгалах бол –70°C-д хагална.

iv) Шинжлэх ийлдэс болон ГҮАЗХШВ эерэг хяналтын ийлдсийг ФБУ-аар 1/16 эсхүл 1/20-оос эхлэн дөрөв дахин шингэлэлтээр дараалан шингэлнэ. Сөрөг хяналтын ийлдсийг 1/16 эсхүл 1/20-иор шингэлнэ. Шингэлэлт тус (1/16, 1/64, 1/256, 1/1024 эсхүл 1/20, 1/80, 1/320, 1/1280) бүрээс 50 мкл-ийг 2, 3, 4, 5 эсхүл 7, 8, 9, 10 дугаар баганын вирусийн эсрэгтөрөгч агуулсан үүрэнд хийнэ. Ийлдэс тус бүрд 1 ба 6 дугаар багана дахь хяналтын үүрээс 1/16 эсхүл 1/20 шингэлэлтээс 50 мкл-ийг тарааж хийнэ. Үүний адилаар 11 ба 12 дугаар багана дахь эерэг ба сөрөг хяналтын ийлдэсний шингэлэлтээс тарааж хийнэ.

v) Чийгшүүлэгчтэй дулаан тогтоогуурын 37°C-д хавтанг 30 минут байлгана. Ийлдсийг зайлуулаад хавтанг ФБУ-аар гурван удаа зайлна.

vi) Зохих ёсоор шингэлсэн ФИТЦ-тэй коньюгатласан гахай-эсрэг IgG-аас 50 мкл-ийг нэмж хавтанг чийгшүүлэгчтэй дулаан тогтоогуурын 37°C-д 30 минут байлгана. Коньюгатыг зайлуулан хавтанг хэд хэдэн удаа зайлсны дараа уудаг цаасан дээр хөмрөн товшиж усыг шингээж авна.

2.3.2. Үр дүнг унших ба үнэлгээ өгөх

Флюоресценцийн микроскопоор харж шалгасны дараа ийлдсийн таньцыг эсийн цитоплазмд хэв шинжит гэрэл цацаргалт үүсгэсэн хамгийн их шингэлэлтийн эсрэг утгаар илэрхийлнэ. Хоёр долоо хоногийн зайтай хоёр удаа авч хослуулан шинжлэхэд ийлдэсний эсрэг биеийн таньц дөрөв дахин нэмэгдвэл уг бодгаль амьтан цочмог халдвартай болохыг илтгэнэ. Халдварлуулаагүй хяналтын эсэд шинжлэх болон эерэг, сөрөг хяналтын аль ч ийлдэс нэмэхэд өвөрмөц гэрэл цацаргалт илрэхгүй байх ёстой. Халдварлуулсан эсэд сөрөг хяналтын ийлдэс нэмэхэд гэрэл цацаргалт илрэхгүй байх ёстой. Халдварлуулсан эс дээр зохих ёсоор шингэлсэн эерэг хяналтын ийлдэс нэмэхэд өвөрмөц гэрэл цацаргалт ажиглагдах ёстой. Лабораториудад хэрэглэдэг эцсийн цэгийн ИФА янз бүр байдаг. Шинжилгээнд ашиглаж байгаа олон янзын эсрэгтөрөгч агуулдаг ГҮАЗХШВ-ийн өсгөврөөс хамаарч шинжилгээний үр дүн өөр өөр гарна.

2.4. Энзим холбоост дархлааны урвалаар эсрэг бие илрүүлэх

ЕЛИЗА арга нь ГҮАЗХШВ-д өвөрмөц эсрэг биеийг ирүүлэхэд хамгийн өргөн хэрэглэгддэг, вирусийн халдварт өртсөнийг өвөрмөц бөгөөд мэдрэмтгий байдлаар түргэн баталгаажуулах боломжтой нэг арга юм. Ийлдэс судлалын шинжилгээнд зориулан хэд хэдэн лабораторид ЕЛИЗА (шууд бус эсхүл саатуулагч) аргыг боловсруулжээ (Diaz *et al*., 2012; Sorensen *et al.,* 1998; Venteo *et al*., 2012). ГҮАЗХШВ-1 болон ГҮАЗХШВ-2 вирус илрүүлэх ийлдэс судлалын урвалыг ялгаварлах давхар-саатуулагч ЕЛИЗА аргыг боловсруулсан байна (Sorensen *et al.,* 1998). Өндөр хоруу чанартай ГҮАЗХШВ-2 вирусийг ГҮАЗХШВ-2 сонгомол вирусээс ялгаварлах боломжтой ЕЛИЗА боловсруулсан талаар өөр нэг судалгаанд мэдээлсэн байна (Xiao *et al*., 2014). Ийлдэс судлалын шинжилгээгээр гахайн

ГҮАЗХШВ-ийн халдварын байдлыг тогтоох, ингэхдээ амны хөндийн шингэнийг оношилгооны дээж болгон хэрэглэхэд зориулсан ЕЛИЗА цомог худалдаанд гарсан байна (Kittawornrat *et al*., 2010; Venteo *et al*., 2012). Эдгээр цомог хийхэд өвчин үүсгэгч хоёр зүйл вирусийн аль нэгийг тусад нь эсхүл хоёулыг хамтад нь эсрэгтөрөгчөөр ашигладаг. Эдгээрийн гол давуу тал нь олон тооны дээжийг богино хугацаанд шинжилдэгт оршино. Зах зээлд ГҮАЗХШВ-ийн хоёр зүйлийн ихэвчлэн рекомбинант N уургийг эсрэгтөрөгчөөр ашиглан хөгжүүлсэн ЕЛИЗА гарчээ. Хэрэглэх боломжтой аргад бүтцийн бус NSP1, NSP2, NSP7 уураг ашиглан бэлтгэсэн ЕЛИЗА-г оруулсан байна. Бүтцийн бус уургийн NSP7 ЕЛИЗА аргын гүйцэтгэл худалдаанд гарсан ЕЛИЗА цомгийнхтой дүйхүйц байгааг мэдээлжээ. Үүгээр үл барам энэ цомог өвчин үүсгэгчийн зүйлд өвөрмөц шингэний дархлааны хариу урвалыг ялгаварлах боломжтой бөгөөд худалдааны цомог хэрэглэхэд гарсан хуурамч-эерэг үр дүнгийн 98%-ийг үгүйсгэсэн байна (Brown *et al*., 2009). ЕЛИЗА аргыг популяцийн төвшинд хэрэглэх хэрэгтэй.

2.4.1. Эсрэгтөрөгч бэлтгэх, хавтанг бүрэх

Хоёр зүйл вирусийн эсрэг бие илрүүлэх ЕЛИЗА-д ГҮАЗХШВ-1 болон ГҮАЗХШВ-2 вирусийн омгоос гаралтай холимог эсрэгтөрөгчийг ашиглана. Цэвэршүүлсэн рекомбинант эсрэгтөрөгч (ө.х.рекомбинант нуклеокаспид уураг) бэлтгэх нь чухал бөгөөд энэ талаар тодорхойлон бичсэн нь бий (Chu *et al*., 2009; Seuberlich *et al*., 2002). Халдвар хийсэн эсийн өсгөврийн дээд шингэн хэсгийг үлэмж өндөр хурдаар хэд дахин хурилдуурдаж тунасан эсрэгтөрөгчийг 0.2%-ийн Тритон X-100-д уусмал болгох аргаар өндөр чанартай эсрэгтөрөгч бэлтгэх сонголт байж болох юм (Cho *et al*., 1996). Гахайн уушгины цулцангийн макрофаг (ГУЦМ)-ийн анхдагч эсийн өсгөврийг вирусээр халдварлуулж тэндээс шууд хураан авсан эсрэгтөрөгчийг ашиглан хийх энгийн, өртөг зардал бага ЕЛИЗА аргыг энд оруулав (Albina *et al*., 1992). ГҮАЗХШВ-2 омогт MARC-145 эсхүл MA-104 дамжмал эсийн өсгөвөр бас хэрэглэж болно (Cho *et al*., 1996).

i) Б.1.1.1 ба Б.1.1.2 хэсэгт тодорхойлсончлон ГУЦМ-ийн өсгөвөр бэлтгэнэ.

ii) 25 см^2-ын эсийн өсгөврийн колбод 15 × 10^6 макрофаг суулгаад 10% ҮХИ, 1% антибиотик-мөөгөнцрийн эсрэг бодисын уусмалаар баяжуулсан RPMI 1640 тэжээлт орчинд чийгшүүлэгчтэй, 5% CO_2 агаартай дулаан тогтоогуурын 37°C-д 5 цаг өсгөвөрлөнө. Хавтанд бэхлэгдээгүй эсийг зайлуулахын тулд тэжээлт орчныг сольж дээрх температурт 20 минут байлгана.

iii) Вирусийн нэг биенцэр 40-80 эсийг халдварлуулах тооцоогоор ГҮАЗХШВ-ийн өсгөвөр нэмнэ.

iv) ГҮАЗХШВ-ээр халдварлуулснаас хойш ихэвчлэн 3-4 хоногийн дараа вирусийн нөлөөгөөр үүссэн эсийн эмгэгшил дээд хэмжээндээ хүрэхэд колбыг хөлдөөх-гэсгээх мөчлөгийг хоёроос гурван удаа давтана.

v) 800 *g* хурдаар 10 минут хурилдуурдаад дээд хэсгийг жижиглэн тасалж савлаад хэрэглэх хүртлээ –70°-д хөлдөөнө.

vi) Халдварлуулаагүй макрофагаас бүрдэх хуурамч эсрэгтөрөгчийн эсийн өсгөврийг зэрэгцүүлэн бэлтгэнэ.

vii) ЕЛИЗА шинжилгээнд хэрэглэх эсрэгтөрөгчийн (Б-пропиолактоноор боловсруулж урьдчилан идэвхгүйжүүлсэн) тохирох шингэлэлтийг шатрын хөлгөн дараах таньцлалтын аргаар тогтооно. Эерэг хяналтад хамгийн өндөр утга, сөрөг хяналтад хамгийн нам утга заах шингэлэлтийг тогтоох зорилгоор эерэг болон сөрөг хяналтын ийлдэс ашиглан эерэг эсрэгтөрөгчийг хуурамч эсрэгтөрөгчтэй харьцуулан таньцлана.

viii) Шинжлэх дээжийн зохистой шингэлэлт болон өмнө нь шинж чанарыг нэгэнт тогтоочихсон дээжийг урьдчилан шинжлэх замаар урвалын босго утгыг тодорхойлно. Ийлдсийг ханасан буфер (ө.х. ҮХИ 10% тослоггүйжүүлсэн хуурай сүү 2% нэмсэн ФБУ) уусмалаар шингэлнэ.

ix) ФБУ-д тохируулан шингэлсэн эерэг болон хуурамч эсрэгтөрөгчийг 96 үүртэй, полистирен бичил хавтангийн үүрний өөр өөр баганад нэмж хавтанг бэлтгээд 37°C -д бол 1 цаг, 4°C-д бол хонуут байлгаж бүрэлт хийнэ.

2.4.2. Шинжилгээний аргачлал

i) Уургийн үлдэгдлийг зайлуулахын тулд хавтанг ФБУ-Твин 20 (0.1%) -оор 3 удаа угаана.

ii) Зохистой шингэлэлт бүхий шинжлэх ийлдэснээс тус бүр 100 мкл-ийг эерэг эсрэгтөрөгчтэй нэг, хуурамч эсрэгтөрөгчтэй нэг үүрэнд тус тус нэмнэ.

iii) Эерэг эсрэгтөрөгчтэй хоёр, хуурамч эсрэгтөрөгчтэй хоёр зэрэгцээ үүрэнд эерэг болон хуурамч хос эсрэгтөрөгчийг тус бүр 100 мкл-ийг нэмнэ.

iv) Хавтанг 37°C-д 1 цаг тогтмол дулаанд байлгана.

v) ФБУ-Твин 20-оор 3 удаа угаана.

vi) Тохиуулан шингэлсэн гахай-эсрэг туулайн тунхууны пероксидаза коньюгатаас 100 мкл-ийг үүр бүрд нэмээд 37°C-д 1 цаг тогтмол байлгана

vii) ФБУ-Твин 20-оор 3 удаа угаана

viii) 100 мкл субстратын уусмалыг үүр бүрд нэмээд тасалгааны хэмд 15 минут байлгана

ix) 50 мкл 1 N хүхрийн хүчил нэмж урвалыг зогсооно.

x) Гэрлийн нягтыг (OD) 450 нм долгионы уртад уншина.

xi) Хавтанг баталгаажуулах: эерэг эсрэгтөрөгчийн гэрлийн нягтаас хуурамч эсрэгтөрөгчийн гэрлийн нягтыг хасан ялгааг үндэслэн дээж тус бүрийн дельта гэрлийн нягтыг ΔOD тооцно. Эерэг хяналтын ийлдэсний ΔOD-аас сөрөг хяналтын ийлдэсний ΔOD-ыг хасахад ойлголцоогоор > 0.5 байх ёстой. Эерэг ба сөрөг хяналтын дундаж ΔOD утгыг олно. Хэрэглэж байгаа форматаас хамаарч үр дүнг эерэг/сөргийн харьцаагаар (эерэг эсрэгтөрөгчтэй үүрний гэрэл шингээлт/хуурамч эсрэгтөрөгчтэй үүрний гэрэл шингээлт) эсхүл дээж/эерэг хяналтын (дээжийн ΔOD/эерэг хяналтын ΔOD) илэрхийлнэ.

С. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

1. Удиртгал

1.1. Бүтээгдэхүүнийг хэрэглэх үндэслэл ба зориулалт

ГҮАЗХШ өвчний үржлийн үйл ажиллагааны хямралын болон/эсхүл амьсгалын хэлбэрийн өвчинтэй тэмцэхэд ГҮАЗХШВ -ийн өөрчилсөн амьд вакцин (ӨАВ) болон идэвхгүйжүүлсэн (үхүүлсэн) вакциныг олон улс оронд хэрэглэхийг зөвшөөрч худалдаанд гаргажээ (Murtaugh & Genzow, 2011). Вакцины вирус нь өвчин үүсгэгч зэрлэг омогтой эсрэгтөрөгчийн шинж чанараар ойр хамааралтай байсан нөхцөлд вакцинжуулалтаас ихээхэн ашиг олно гэж тооцдог (Scortti *et al.,* 2006). Гэвч вакцины үр нөлөөг урьдчилан таамаглах арга байхгүй. Гахайг вакцинжуулснаар

ГҮАЗХШВ-ийн халдвараас хамгаалж чадахгүй хэдий ч ГҮАЗХШ өвчин гардаг сүрэгт ач тусаа өгнө. Үхүүлсэн вакциныг ГҮАЗХШ өвчний үржлийн үйл ажиллагааны хямралын хэлбэрийн үед илэрдэг хээл хаялт, сул дорой торой төрүүлэхийг багасгахад туслах арга болгон хэрэглэхийг зөвшөөрсөн. ӨАВ нь үржүүлэгт оруулахаас 3–6 долоо хоногийн өмнө мэгж болон ховсод эсхүл 3 долоо хоног эсхүл түүнээс олон хоногийн бойжилттой (эсхүл зарим тохиолдолд нэг хоногийн настай торойд хүртэл) торойд хэрэглэн ГҮАЗХШ-ээр үүсдэг өвчний гаралтыг бууруулахад туслах зориулалттай.

ӨАВ-ыг өмнө нь халдвар болон вакцины нөлөөнд өртөж байгаагүй, үржүүлгийн насны гахайн сүрэг эсхүл бодгаль гахайд хэрэглэхэд зориулаагүй. Гахайд вакцины вирус хадгалагдан үрийн шингэнээр дамжин тархдаг. (Christopher-Hennings *et al.,* 1997). ӨАВ-ны вирус гадагшлан ойр хавьталд байсан вакцинжуулаагүй гахайд дамжин эсхүл үр төлд нь босоо чиглэлээр дамжин халдварлана (Zimmerman *et al.,* 2019). Үйлдвэрлэлийн нөхцөлд зэрлэг омог болон вакцины омог эсхүл вакцины хооронд рекомбинац явагддаг нь бас ажиглагдсан байна (Kvisgaard *et al*., 2020). Биотехнологи ашиглан вакцин үйлдвэрлэх аргыг боловсруулж байгаа ч одоохондоо түүнийг зах зээлд хараахан гараагүй байна. *Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зарчмын талаарх 1.1.8* дугаар бүлэгт мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зааварчилгааг оруулав. Энэ хэсэгт болон 1.1.8 дугаар бүлэгт оруулсан зааварчилгаа нь ерөнхий агуулгатай бөгөөд тухайн улсын болон бүс нутгийн бусад шаардлагаар баяжуулж болох юм.

2. Үйлдвэрлэлийн тойм, вакцинд тавих наад захын шаардлага

2.1. Эх омгийн шинж чанар

2.1.1. Биологийн шинж чанар

Вакцины үйлдвэрлэлд ашиглах ГҮАЗХШВ-ийн өсгөвөрт түүний гарал үүсэл болон зорчуулалтын түүхийг тодорхойлсон баримт бичиг дагалдуулна. Үндсэн эх омгийн вирус нь вакцинжуулалтад хамрагдах насны гахайд аюулгүй бөгөөд зориудын халдвар хийхэд түүнээс хамгаалж байх ёстой. ӨАВ-д хэрэглэх өсгөвөр энэ өвчнөөр өвчилдөг амьтанд зорчуулсны дараа эргэж хоруу чанартай болохгүй байх ёстой. ГҮАЗХШ өвчний үндсэн эх омгийн вирусийн геномын бүрэн дарааллыг тогтоох шаардлагатай. Ийм дарааллыг цаашид ГҮАЗХШ өвчний үндсэн эх омгийг үйлдвэрлэлийн явцад болон *in vivo* зорчуулалт хийх явцад харьцуулан жиших хяналтад ашиглана.

2.1.2. Чанарын шалгуур (ариун чанар, цэвэршилт, гаднын зүйл агуулаагүй байх)

Үндсэн эх омог нь бактери, мөөгөнцөр, микоплазм агуулаагүй байх ёстой. Үндсэн эх омог гаднын вирус, үүний дотор ходоод гэдэсний дамжин халдварладаг үрэвслийн вирус, гахайн амьсгалын замын коронавирус, гахайн эпидемик диарейн вирус, гахайн аденовирус, гахайн цирковирусийн 1 ба 2 дугаар хэвшил, гахайн тархины үрэвслийн цус наалдуулдаг вирус, гахайн парвовирус, үхрийн вируст диарей өвчний вирус, реовирус, галзуу өвчний вирусийг флюоресцент эсрэг бие илрүүлэх аргаар шинжилж эдгээр вирус агуулаагүй болохыг тогтоосон байх ёстой. Веро дамжмал эс ашиглан ЭЭН илрүүлэх болон цус наалдуулан шингээх аргаар болон гахайн хөврөлийн эс ашиглан шалгахад үндсэн эх омог гаднын вирус агуулаагүй байх ёстой. Гаднын вирус илрүүлэхэд ПГУ-ыг эсийн өсгөвөртэй хамтатган хэрэглэж болно.

2.2. Үйлдвэрлэх арга

2.2.1. Арга ажиллагаа

ГҮАЗХШВ-ийг MARC-145 гэх мэт (MA-104-ийн клони) дамжмал эсэд үржүүлнэ. Үндсэн эх омгийг тав хүртэл, хэрэв гахайг халдвараас хамгаалах баталгаатай гэвэл вирусийг түүнээс илүү олон зорчуулан өсгөвөрлөнө.

Дамжмал эсийг тохирох саванд суулгана. ФБУ нэмсэн МЕМ тэжээлт орчныг үйлдвэрлэлд ашиглана. Үндсэн эх омгоос ерөнхийдөө 1-ээс 4 хүртэлх удаа зорчуулсан ГҮАЗХШ өвчний вирусийн ажлын нөөц бэлдмэлээс эсийн өсгөврийг шууд халдварлуулна-тарилт хийнэ. Халдварлуулсан эсийн өсгөврийг түүний тэжээлт орчныг хурааж авахын өмнө 1-8 хоног өсгөвөрлөнө. Өсгөвөрлөх явцад эсийн өсгөвөрт ЭЭН болон бактерийн бохирдол байгаа эсэхийг өдөр бүр шалгана.

Үхүүлсэн вируст вакциныг формалин эсхүл бинари этилен эминий аль нэгийг ашиглан химийн аргаар идэвхгүйжүүлж тохирох хүчлүүртэй холино. ӨАВ-ыг савлах болон хөлдөөн хатаахын өмнө тогтворжуулагчтай хольдог. Идэвхгүйжүүлэгчээр формалин ашигласан тохиолдолд 0.74 г/литрээс үл хэтрэх ёстой түүний үлдцийн хэмжээг эцсийн бүтээгдэхүүнд шалгаж тогтооно.

2.2.2. Субстрат болон тэжээлт орчинд тавих шаардлага

ФБУ-нь пестивирус болон түүний эсрэг бие агуулаагүй, үхрийн тархи сархиатах өвчний эрсдэлгүй байх ёстой.

2.2.3. Явцын хяналт

Бүтээгдэхүүнийг стандартчилахын тулд ӨАВ-д болон идэвхгүйжүүлсэн (үхүүлсэн) вирусийн вакцинд хэрэглэх ГҮАЗХШВ-ийн үйлдвэрлэлийн цувралыг эсийн өсгөвөрт таньцлах ёстой. Нам таньцтай цувралыг өтгөрүүлэх эсхүл өндөр таньцтай цувралтай холих замаар шаардлага хангах таньцтай болгоно.

2.2.4. Эцсийн бүтээгдэхүүний цувралын шалгалт

Савлагаатай эцсийн бүтээгдэхүүнээс дээж авч цэвэршилт, аюулгүй чанар, идэвхийг шалгана. ӨАВ-ны цодонд байж болох чийгшлийн хэмжээг шалгана.

i) Ариун чанар, цэвэршилт

Дээж бактери, мөөгөнцөр, пестивирусийн бохирдолтой эсэхийг шалгана. ӨАВ-д бактерийн бохирдлыг шалгахдаа 120 мл задарсан шар буурцаг, казейнт тэжээлт орчин бүхий 10 саванд савлагаатай 10 эцсийн бүтээгдэхүүний дээжээс 0.2 мл-ээр тарилт хийнэ. Арван савны агуулагдахууныг 30–35°C-д 14 хоног өсгөвөрлөөд бактерийн ургалтыг ажиглана. Мөөгөнцрийн шалгалтад 40 мл задарсан шар буурцаг, казейнт тэжээлт орчин бүхий 10 саванд савлагаатай 10 эцсийн бүтээгдэхүүний дээжээс 0.2 мл-ээр тарилт хийнэ. Арван савны агуулагдахууныг 20–25°C-д 14 хоног өсгөвөрлөөд мөөгөнцөр ургалтыг ажиглана. Үхүүлсэн вакцины тухайд тохирох тэжээлт орчинтой арван саванд савлагаатай 10 эцсийн бүтээгдэхүүний дээжээс 0.2 мл-ээр тарилт хийнэ 1.1.9. *Мал эмнэлгийн зориулалтаар хэрэглэх биологийн материалын ариун чанар, бохирдолгүй болохыг шалгах* бүлэг болон 3.9.2 *Гахайн сонгомол мялзан өвчин* бүлэгт оруулсан зааварчилгааны дагуу пестивирусийн бохирдлыг тодорхойлно.

ii) Аюулгүй чанар

Вакцин хэрэглэх заалттай амьтанд зориулсан эсхүл лабораторийн амьтанд зориулсан вакцины цувралын аюулгүй чанарын шалгалтыг хэрэв боломжтой гэж үзвэл хийхгүй. Гэвч амьтан ашиглан хийх вакцины цувралын аюулгүй чанарыг шалгалтыг хийж уг шалгалтаар 3R зарчмыг батлах хэрэгтэй. хэрэв ийм шалгалтыг хийхийг зохицуулалтын эрх бүхий байгууллагаас шаардсан бол тэдгээрийг усан гахай, хулгана эсхүл гахайд хамтруулан хийнэ.

iii) Цувралын идэвх

Эцсийн савлагаатай ӨАВ-ны дээжийг таньцлалтын бичил хавтанд таньцалж таньцыг (log10) тогтооно.

a) Шинжилгээний аргачлал

i) Уусган сэргээсэн 0.2 мл шинжлэх вакциныг 1.8 мл МЕМ ашиглан 10^{-1}-ээс 10^{-5} хүртэл арав дахин шингэлж бэлтгэнэ. ГҮАЗХШВ-ийн дотоод хяналтыг тохирох хязгаарт багтаан таньцлана.

ii) MARC-145 дан үе эс бүхий 96 үүртэй хавтангийн таван үүрэнд шингэлэлт тус бүрээс 0.1 мл/үүр хэмжээгээр халдварлуулна.

iii) Хавтангийн агуулагдахууныг CO^2 бүхий агаартай 37°C-д 5-7 хоног өсгөвөрлөнө.

iv) Хавтанг микроскопоор харж ЭЭН-г шалгана. ГҮАЗХШВ-ийн дотоод хяналтын таньц түүний урьдчилан тогтоосон дунджаас 0.3 log10 TCID50 дотор байх ёстой.

v) Спийрман-Карберийн аргаар TCID50/тунг тогтооно. Хэрэглээнд гаргах таньц нь дархлаа төрүүлэх идэвхийн шалгалтад үзүүлсэн таньцаас наад зах нь 1.2 log илүү байх ёстой. 1.2 log-нь бүтээгдэхүүний хүчинтэй хугацааны турш тогтвортой байсны 0.5 log, идэвхийн шалгалтын үр дүнгийн хэлбэлзлийн 0.7 log-ооc бүрдэнэ.

Эцсийн бүтээгдэхүүний дархлаа төрүүлэх идэвхийг тодорхойлох вакцинжуулалт/ийлдэс судлалын шинжилгээ эсхүл вакцинжуулалт/амь сорилд хамаарах шинжилгээнд үхүүлсэн вируст вакциныг эзэн амьтан эсхүл лабораторийн амьтанд хэрэглэж болно. Стандартыг эцсийн бүтээгдэхүүнтэй харьцуулахын тулд эсрэгтөрөгчийг тоон утгаар илрүүлэх ЕЛИЗА аргыг хэрэглэн үр дүнгийн шугаман хамаарлыг зэрэгцүүлэн харьцуулах шинжилгээг бүтээгдэхүүний харьцангуй идэвхийг тодорхойлоход ашиглаж болох юм. Стандарт нь энэ өвчнөөр өвчлөмтгий амьтанд хамгаалалт тогтоодог нотолгоотой байх ёстой.

2.3. Зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага

2.3.1. Аюулгүй чанарт тавих шаардлага

i) Вакцин хэрэглэх заалттай болон үл хэрэглэх амьтанд аюулгүй байх чанар

Вакцины аюулгүй чанарыг үйлдвэрлэлийн туршилтаар тодорхойлно. Сулруулсан вирус гадагш ялгарч байгаа эсэхийг илрүүлэхийн тулд хийх хяналт-шинжилгээ бүрд вакцинжуулаагүй гахайг илрүүлэгч амьтнаар авч хамт шинжилнэ.

ii) Сулруулсан/амьд вакцин эргэж хоруу чанартай болох асуудал

Хэдийгээр энэ вирусээр хоруу чанарыг тогтооход хэцүү боловч үндсэн

эх омог эзэн амьтанд хэд хэдэн удаа зорчуулахад эргэж хоруу чанартай болохгүйг харуулсан байх ёстой. ГҮАЗХШВ-ийн сулруулсан өсгөвөр амьтны цусанд тархаж өвчлөмтгий амьтанд дамжин халдварлана. Ердийн халдвар илүү дамждаг замаар үндсэн эх омгийг өвчлөмтгий гахайд олгон таван удаа (улс орноос хамаарч арав хүртэл) дараалан зорчуулахад эхээс салгасан торой болон хээлтэй мэгжид үндсэн эх омог хоруу чанаргүй болох нь тогтоогдсон байх хэрэгтэй.

iii) Хүрээлэн буй орчны асуудал: хэрэглэхгүй

2.3.2. Үр нөлөөнд тавих шаардлага

i) Мал аж ахуйн үйлдвэрлэлд

Хоруу чанартай, өөр гарлын омгоор зориудын халдвар хийж үйлдвэрлэлийн зориулалттай, хамгийн олон удаа зорчуулсан үндсэн эх омгийн дархлаа төрүүлэх идэвхийг шалгахад өвчлөмтгий гахайг хамгаалж байх ёстой. 3 долоо хоногийн бойжилттой торойг хамгийн олон удаа зорчуулсан үндсэн эх омгоор вакцинжуулж амьсгалын хэлбэрийн өвчлөлөөс хэрхэн хамгаалахыг туршиж үзнэ. Торойг ГҮАЗХШВ-ийн хоруу чанартай өсгөврийн ойролцоогоор 10^5 TCID50 тунгаар халдварлуулж тэдгээрийг 2-16 долоо хоногийн дараа ГҮАЗХШ өвчний амьсгалын замын хэлбэрийн эмнэл зүйн шинж үзүүлэн өвчлөхөөс хамгаалж байгаа эсэхийг тогтооно. ГҮАЗХШ өвчний үржлийн үйл ажиллагааны хямралын хэлбэрийн өвчлөлөөс шалтгаалан гардаг хохирлоос хэрхэн хамгаалахыг тогтоохын тулд вакцинжуулсан амьтныг хээл тээлтийн ойролцоогоор 85 хоногт зориудаар халдварлуулна. Вакцинжуулсан амьтан үржлийн үйл ажиллагааны хямралын эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлэн өвчлөхөөс, үүний дотор эх дотроо хээл хатах, зулбах, сул торой төрүүлэхээс вакцины шошгод заасан төвшинд хамгаалагдсан хувь хэмжээг тодорхойлж вакцинжуулалтын үр дүнд өвчнөөс ямар хэсэг нь хамгаалагдсан, тохиолдож болзошгүй байсан ГҮАЗХШ өвчний гаралт хэрхэн буурсныг хяналтын амьтантай харьцуулан тогтооно. ӨАВ-ыг ГҮАЗХШВ-д өвөрмөц, эхийн гаралтай эсрэг бие агуулж яваа торойд голдуу хэрэглэдэг учраас ӨАВ-ы үр нөлөөг үнэлэхдээ эхийн гаралтай эсрэг бие нөлөөг харгалзана.

Вакцины зөвшөөрөл эцэслэн авахаас өмнө түүний үүсгэх дархлаа үргэлжлэх хугацааг судалж тогтооно. ГҮАЗХШ өвчний амьсгалын хэлбэрийн тухайд гахайг зах зээлд борлуулах настай болтол дархлаа үргэлжлэхийг нотлон харуулсан байх хэрэгтэй. Харин ГҮАЗХШ өвчний үржлийн үйл ажиллагааны хямралын хэлбэрийн тухайд торойг эхээс салгах хүртэл дархлаа үргэлжлэхийг нотлон харуулна.

ii) Өвчинтэй тэмцэх болон устгахад: хэрэглэхгүй

2.3.3. Тогтвортой байдал

Бүх вакцины хүчинтэй хугацаа дуустлаа 24 сар байна гэж эхэлж тогтоодог. Энэхүү хүчинтэй хугацаа зөв эсэхийг дараа нь хэвийн нөхцөлд хэрхэн тогтвортой байгааг судлан тогтооно.

ӨАВ-ны хүчинтэй хугацаанд нь олон цуврал вакциныг үе үе дахин таньцалж түүнд гарч байгаа өөрчлөлтийг тогтооно. Хэрэв таньц нь хангалтгүй эсхүл маш их хэлбэлзэлтэй байгаа бол хэрэгцээнд нийлүүлэх хэмжээг зохицуулна.

Үхүүлсэн вакцины хүчинтэй хугацаа дуусах үед түүний идэвхийг *in-vivo*

аргаар дахин шалгаж тогтвортой байгаа эсэхийг нотлон харуулна. Эсрэгтөрөгчийг тоон утгаар илрүүлэх ЕЛИЗА аргыг хэрэглэн үр дүнгийн хамаарлыг зэрэгцүүлэх дүн шинжилгээгээр стандартын тогтвортой байдлыг нотлон харуулна.

3. Биотехнологид суурилсан вакцин

Биотехнологид суурилсан вакциныг хөгжүүлж байгаа бөгөөд одоохондоо зах зээлд гараагүй байна.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

ALBINA E., LEFORBAN Y., BARON T., PLANA DURAN J. & VANNIER P. (1992). An enzyme linked immunosorbent assay (ЕЛИЗА) for the detection of antibodies to the porcine reproductive and respiratory syndrome (ГҮАЗХШ) virus. *Ann. Rech. Vet*., **23**, 167–176.

BALKA G., PODGÓRSKA K., BRAR M.S., BÁLINT Á., CADAR D., CELER V., DÉNES L., DIRBAKOVA Z., JEDRYCZKO A., MÁRTON L., NOVOSEL D., PETROVIĆ T., SIRAKOV I., SZALAY D., TOPLAK I., LEUNG F.C. & STADEJEK T. (2018). Genetic diversity of ГҮАЗХШВ 1 in Central Eastern Europe in 1994–2014: origin and evolution of the virus in the region. *Sci. Rep*., **8**, 7811.

BROWN E., LAWSON S., WELBON C., GNANANDARAJAH J., LI J., MURTAUGH M.P., NELSON E.A., MOLINA R.M., ZIMMERMAN J.J., ROWLAND R.R. & FANG Y. (2009). Antibody response to porcine reproductive and respiratory syndrome virus (ГҮАЗХШВ) nonstructural proteins and implications for diagnostic detection and differentiation of ГҮАЗХШВ types I and II. *Clin. Vaccine Immunol*., **16**, 628–635.

BIERNACKA K., PODGÓRSKA K., TYSZKA A. & STADEJEK T. (2018). Comparison of six commercial ЕЛИЗАs for the detection of antibodies against porcine reproductive and respiratory syndrome virus (ГҮАЗХШВ) in field serum samples. *Res. Vet. Sci*., **21**, 40–45.

CHRISTOPHER-HENNINGS J., NELSON E.A., NELSON J.K. & BENFIELD D.A. (1997). Effects of a modified-live virus vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome in boars. *Am. J. Vet. Res.,* **58**, 40–45.

CHO H.J., DEREGT D. &JOO H.S. (1996). An ЕЛИЗА for porcine reproductive and respiratory syndrome: production of antigen of high quality. *Can. J. Vet. Res*., **60**, 89–93.

CHU J.Q., HU X.M., KIM M.C., PARK C.S. & Jun M.H. (2009). Development and validation of a recombinant nucleocapsid protein-based ЕЛИЗА for detection of the antibody to porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J Microbiol*., **47**, 582–588.

DELRUE I., VAN GORP H., VAN DOORSSELAERE J., DELPUTTE P.L. & NAUWYNCK H.J. (2010). Susceptible cell lines for the production of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by stable transfection of sialoadhesin and CD163. *BMC Biotechnol*., **29**, 48.

DIAZ I., VENTEO A., REBOLLO B., MARTÍN-VALLS G.E., SIMON-GRIFÉ M., SANZ A. & MATEU E. (2012). Comparison of two commercial enzyme-linked immunosorbent assays for the diagnosis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *J. Vet. Diagn. Invest*., **24**, 344–348.

FENG L., ZHANG X., XIA X., LI Y., HE S. & SUN H. (2013). Generation and characterization of a porcine endometrial endothelial cell line susceptible to porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virus Res.* **171**, 209–215.

GARCIA-NICOLAS O., BAUMANN A., VIELLE N.J., GÓMEZ-LAGUNA J., QUEREDA J.J., PALLARÉS F.J., RAMIS G., CARRASCO L. & SUMMERFIELD A. (2014). Virulence and genotype-associated infectivity of interferon-treated macrophages by porcine reproductive and respiratory syndrome viruses. *Virus Res*., **179**, 204–211.

JUSA E.R., INABA Y., KOUNO M., HIROSE O., SHIBATA I., KUBOTA M. & YASUHARA H. (1996). Slow-reacting and complement-requiring neutralizing antibody in swine infected with porcine reproductive and respiratory (ГҮАЗХШ) virus. *J. Vet. Med. Sci*., **58**, 749–753.

KARNIYCHUK U.U., GELDHOF M., VANHEE M., VAN DOORSSELAERE J., SAVELEVA T.A. & NAUWYNCK H.J. (2010). Pathogenesis and antigenic characterization of a new East European subtype 3 porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolate. *BMC Vet. Res*., **4**, 30.

KARNIYCHUK U.U. & NAUWYNCK H.J. (2013). Pathogenesis and prevention of placental and transplacental porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Vet. Res.,* **44**, 95.

KITTAWORNRAT A., PRICKETT J., CHITTICK W., WANG C., ENGLE M., JOHNSON J., PATNAYAK D., SCHWARTZ T., WHITNEY D., OLSEN C., SCHWARTZ K. & ZIMMERMAN J. (2010). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (ГҮАЗХШВ) in serum and oral fluid samples from individual boars: will oral fluid replace serum for ГҮАЗХШВ surveillance? *Virus Res*., **154**, 170– 176.

KLEIBOEKER S.B., SCHOMMER S.K., LEE S.M., WATKINS S., CHITTICK W. & POLSON D. (2005). Simultaneous detection of North American and European porcine reproductive and respiratory syndrome virus using real-time quantitative reverse transcriptase-PCR. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **17**,165–170.

KVISGAARD L.K, KRISTENSEN C.S., RYT-HANSEN P., PEDERSEN K., STADEJEK T., TREBBIEN R., ANDRESEN L.O. & LARSEN L.E. (2020). A

recombination between two Type 1 Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (ГУА3ХШВ-1) vaccine strains has caused severe outbreaks in Danish pigs. *Transbound. Emerg. Dis*., doi: 10.1111/tbed.13555.

LALONDE C., PROVOST C. & GAGNON C.A. (2020). Whole-Genome Sequencing of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus from Field Clinical Samples Improves the Genomic Surveillance of the Virus. *J. Clin. Microbiol*., **58,** e00097-20.

MARTIN-VALLS G.E., KVISGAARD L.K., TELLO M., DARWICH L., CORTEY M., BURGARA-ESTRELLA A.J., HERNÁNDEZ J., LARSEN L.E. & MATEU E. (2014). Analysis of ORF5 and full-length genome sequences of porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates of genotypes 1 and 2 retrieved worldwide provides evidence that recombination is a common phenomenon and may produce mosaic isolates. *J. Virol.,* **6**, 3170–3181.

MORGAN S.B., GRAHAM S.P., SALGUERO F.J., SÁNCHEZ CORDÓN P.J., MOKHTAR H., REBEL J.M., WEESENDORP E., BODMAN-SMITH K.B., STEINBACH F. & FROSSARD J.P. (2013). Increased pathogenicity of European porcine reproductive and respiratory syndrome virus is associated with enhanced adaptive responses and viral clearance. *Vet. Microbiol*., **163**, 13–22.

MURTAUGH M.P. & GENZOW M. (2011). Immunological solutions for treatment and prevention of porcine reproductive and respiratory syndrome (ГУА3ХШ). *Vaccine,* **26**, 8192–8204.

MURTAUGH M.P., STADEJEK T., ABRAHANTE J.E., LAM T.T. & LEUNG F.C. (2010). The ever-expanding diversity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virus Res*., **154**, 18–30.

PROVOST C., JIA J.J., MUSIC N., LÉVESQUE C., LEBEL M.È., DEL CASTILLO J.R., JACQUES M. & GAGNON C.A. (2012). Identification of a new cell line permissive to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection and replication which is phenotypically distinct from MARC-145 cell line. *Virol. J*., **13**, 267.

SCORTTI M., PRIETO C., MARTINEZ-LOBO F.J., SIMARRO I. & CASTRO J.M. (2006). Effects of two commercial European modified-live vaccines against porcine reproductive and respiratory syndrome viruses in pregnant gilts. *Vet. J.,* **172**, 506–514.

SEUBERLICH T., TRATSCHIN J.D., THÜR B. & HOFMANN M. (2002). Nucleocapsid protein-based enzyme-linked immunosorbent assay for detection and differentiation of antibodies against European and North American porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **9**, 1183–1191.

SHI M., LAM T.T., HON C.C., HUI R.K., FAABERG K.S., WENNBLOM T., MURTAUGH M.P., STADEJEK T. & LEUNG F.C. (2010a). Molecular epidemiology of ГУА3ХШВ: a phylogenetic perspective. *Virus Res*., **154**, 7–17.

SHI M., LAM T.T., HON C.C., MURTAUGH M.P., DAVIES P.R., HUI R.K., LI J., WONG L.T., YIP C.W., JIANG J.W. & LEUNG F.C. (2010b). Phylogeny-based evolutionary, demographical, and geographical dissection of North American type 2 porcine reproductive and respiratory syndrome viruses. *J. Virol*., **84**, 8700–8711.

SORENSEN K.J., STRANDBYGAARD B., BØTNER A., MADSEN E.S., NIELSEN J. & HAVE P. (1998). Blocking ЕЛИЗАs for the distinction between antibodies against European and American strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Microbiol.,* **60**, 169–177.

STADEJEK T., LARSEN L.E., PODGÓRSKA K., BØTNER A., BOTTI S., DOLKA I., FABISIAK M., HEEGAARD P.M.H., HJULSAGER C.K., HUĆ T., KVISGAARD L.K., SAPIERZYŃSKI R. & NIELSEN J. (2017). Pathogenicity of three genetically diverse strains of ГУА3ХШВ Type 1 in specific pathogen free pigs. *Vet. Microbiol*., **209**,13–19.

STADEJEK T., OLEKSIEWICZ M.B., SCHERBAKOV A.V., TIMINA A.M., KRABBE J.S., CHABROS K. & POTAPCHUK D. (2008). Definition of subtypes in the European genotype of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: nucleocapsid characteristics and geographical distribution in Europe. *Arch. Virol.,* **153**, 1479–1488.

STADEJEK T., STANKEVICIUS A., MURTAUGH M.P. & OLEKSIEWICZ M.B. (2013). Molecular evolution of ГУА3ХШВ in Europe: current state of play. *Vet. Microbiol*., **26**, 21–28.

TIAN K., YU X., ZHAO T., FENG Y., CAO Z., WANG C., HU Y., CHEN X., HU D., TIAN X., LIU D., ZHANG S., DENG X., DING Y., YANG L., ZHANG Y., XIAO H., QIAO M., WANG B., HOU L., WANG X., YANG X., KANG L., SUN M., JIN P., WANG S., KITAMURA Y., YAN J. & GAO G.F. (2007). Emergence of fatal ГУА3ХШВ variants: unparalleled outbreaks of atypical ГУА3ХШ in China and molecular dissection of the unique hallmark. *PLoS One*, **2**(6):e526.

TRUS I., BONCKAERT C., VAN DER MEULEN K. & NAUWYNCK H.J. (2014). Efficacy of an attenuated European subtype 1 porcine reproductive and respiratory syndrome virus (ГУА3ХШВ) vaccine in pigs upon challenge with the East European subtype 3 ГУА3ХШВ strain Lena. *Vaccine,* **32**, 2995–3003.

VENTEO A., REBOLLO B., SARRASECA J., RODRIGUEZ M.J. & SANZ A.(2012). A novel double recognition enzyme-linked immunosorbent assay based on the nucleocapsid protein for early detection of European porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *J. Virol. Methods.,* **181**, 109–113.

WEESENDORP E., MORGAN S., STOCKHOFE-ZURWIEDEN N., POPMA-DE GRAAF D.J., GRAHAM S.P. & REBEL J.M. (2013). Comparative analysis of immune responses following experimental infection of pigs with European porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains of differing virulence. *Vet. Microbiol*., **12**, 1–12.

WERNIKE K., BONILAURI P., DAUBER M., ERRINGTON J., LEBLANC N., REVILLA-FERNÁNDEZ S., HJULSAGER C., ISAKSSON M., STADEJEK T., BEER M. & HOFFMANN B. (2012a). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: interlaboratory ring trial to evaluate real-time Урвуу транскрипцpolymerase chain reaction detection methods. *J. Vet. Diagn. Invest*., **24**, 855–866.

WERNIKE K., HOFFMANN B., DAUBER M., LANGE E., SCHIRRMEIER H. & BEER M. (2012b). Detection and typing of highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus by multiplex real-time УТ-ПГУ. *PLoS One.,* **7**, 38251.

XIAO Y.H., WANG T.T., ZHAO Q., WANG C.B., LV J.H., NIE L., GAO J.M., MA X.C., HSU W.H. & ZHOU E.M. (2014). Development of Indirect ЕЛИЗАs for Differential Serodiagnosis of Classical and Highly Pathogenic Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus. *Transbound. Emerg. Dis*., **61**, 341–349.

YOON I.J., JOO H.S., CHRISTIANSON W.T., KIM H.S., COLLINS J.E., MORRISON R.B. & DIAL G.D. (1992). An indirect fluorescent antibody test for the detection of antibody to swine infertility and respiratory syndrome virus in swine sera. *J. Vet. Diagn. Invest.,* **4**, 144–147.

ZHOU L., ZHANG J., ZENG J., YIN S., LI Y., ZHENG L., GUO., GE X. & YANG H. (2009) The 30-amino-acid deletion in the Nsp2 of highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus emerging in China is not related to its virulence. *J. Virol.,* **83**, 5156–5167.

ZHOU L. & YANG H. (2010). Porcine reproductive and respiratory syndrome in China. *Virus Res*. **154**, 31–37. ZIMMERMANN J.J., DEE S.A., HOLTKAMP D.J., MURTAUGH M.P., STADEJEK T., STEVENSON G.W., TORREMOREL M., YANG H. & ZHANG J. (2019). Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Viruses (Porcine Arteriviruses). *In:* Diseases of Swine, Eleventh Edition, Zimmerman J.J., Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W., Zhang J. eds., Wiley- Blackwell; USA, 685–708.

*
* *

NB: There are WOAH Reference Laboratories for porcine reproductive and respiratory syndrome (please consult the WOAH Web site: https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3). Please contact the WOAH Reference Laboratories for any further information on diagnostic tests, reagents and vaccines for porcine reproductive and respiratory syndrome

NB: FIRST ADOPTED IN 1996; MOST RECENT UPDATES ADOPTED IN 2021.

БҮЛЭГ 49 (3.10.2)

ЦИСТИЦЕРКТЭХ ӨВЧИН (*TAENIA SOLIUM*-ЫН ХАЛДВАР ОРНО)

А. УДИРТГАЛ

Taenia зүйлийн туузан хорхойн метацестод (эсхүл туузан хорхойн авгалдай) нь төрөл бүрийн тэжээвэр болон зэрлэг амьтан, хүнд цистицерктэх өвчин үүсгэнэ. Бие гүйцсэн туузан хорхой жинхэнэ эзэн болох хүн, нохой, муур, чонынхон овгийн зэрлэг зүйлийн амьтад, суусрынхан овгийн амьтад зэрэг махан идэштний нарийн гэдсэнд байрлана. Хүнд шимэгчлэгч *Taenia saginata* бараг дэлхий даяар, тэр дундаа Африк, Латин Америк, Кавказ, Өмнөд болон төв Ази, Газрын дунд тэнгисийн зүүн хэсгийн улс оронд үхрийн цистицерктэх өвчин үүсгэнэ. Халдвар Европын олон улсад тохиолддог ба Америкийн Нэгдсэн Улс (АНУ), Канад, Австрали, Шинэ Зеланд улсад үе үе, алаг цоог гарна. Хүнд шимэгчлэгч *Taenia solium* гахайн цистицерктэх өвчин болон эндемик тархалттай бүс нутагт олдмол эпилепси өвчний хамгийн түгээмэл шалтгаан болдог хүний (мэдрэлийн) цистицерктэх өвчин үүсгэнэ. Энэ шимэгч Мексик, Төв болон Өмнөд Америк, Сахарын цөлөөс урагш орших Африкийн бүс нутаг, Азийн исламын шашин дэлгэрээгүй улс орон, үүний дотор Энэтхэг болон Хятад (Бүгд найрамдах ард улс)-ын ариун цэврийн муу нөхцөлтэй, задгай маллагаатай, хог хэсүүчлэх боломжтой гахайтай бүс нутагт голчлон тархсан байна. 2016 онд *T. solium*-ийн байгалийн халдвар авсан гахайд татганах, мэдрэл нь хямрах зэрэг төв мэдрэлийн тогтолцооны хямралын хам шинж ажиглагджээ (Trevisan нар, 2016). Зүүн-өмнөд Азид *T. asiatica*-ийн цистицерк гахайн элэгнээс олдсон байна. Нохой болон чонынхон овгийн зэрлэг зүйлийн амьтад нь хонь, ямаа, бусад хивэгч амьтан, гахай завсрын эзэн нь болдог *Taenia* зүйлийн туузан хорхойн жинхэнэ эзэд бөгөөд энэ нь дэлхийн ихэнх улс оронд тохиолдоно. Харин АНУ, Австрали, Шинэ Зеландад *T. multiceps* -ийг устгажээ. Хонины булчинд *Taenia ovis*-ын цистицерк, хонь, ямаа, заримдаа бусад хивэгч амьтан, ховор тохиолдолд хүний тархинд (хааяа булчинд) *T. Multiceps,* хивэгч амьтан, гахайн хэвлийн хөндий, элгэнд *T. Hydatigena* тохиолдоно. Ихэвчлэн үнэгт тохиолддог зүйл болох *Taenia crassiceps* нь ховор боловч хэвийн дархлаатай өвчтөнд нүдний болон мэдрэлийн цистицерктэх өвчин, харин дархлаа сул өвчтөнд арьсан дор тархмал, амархан үржин олшрох цистицерктэх өвчин тус тус тохиолдох ба Европт суусрын туузан хорхой *T. martis* нь дархлаа суларсан хүмүүст ховор тохиолдох цистицерктэх өвчин үүсгэдэг байна. *V. Mustelae*-аас өөр *Versteria* зүйл нь Хойд Америкт дархлаа нь дарангуйлагдсан эрүүл хүмүүст хүнд хэлбэрийн, үхэлд хүргэх цистицерктэх өвчин үүсгэдэг байна (Deplazes нар, 2019). Маханд хийх үзлэг шалгалтаар эсхүл задлан шинжилгээний явцад шимэгчийн авгалдайг ялган тогтоох замаар энэ өвчнийг амьтанд оношилно. Гүйцэт боловсруулаагүй эсхүл хөлдөөгөөгүй мах, дайвар бүтээгдэхүүнд амьдрах чадвараа хадгалан үлдсэн шимэгч хорхойн авгалдайг залгиснаар тэр нь жинхэнэ эзэн амьтанд бие гүйцсэн шимэгч болж хөгжинө.

Бие гүйцсэн туузан хорхойн биеийн сүүл хэсэгт өндгөөр дүүрч боловсорсон үе тасран гадагшилна. Туузан хорхойн проглотидтой эсхүл түүнээс тасарсан өндөг баастай хамт гадаад орчинд хаягдана. Зарим зүйл шимэгчийн (нохойн туузан хорхой *T. saginata*) проглотид хошногоны хуниаст сүвээр чөлөөтэй гадагшлах тохиолдол бий. Өндөг бааснаас элдэв зүйлээр эсхүл завсрын эзэн амьтнаар дамжин тархана. Ялангуяа ялаа шимэгчийн өндөгтэй баас залгиад 150 метрийн зайд их хэмжээгээр, 10 км хүртэл зайд бага хэмжээгээр өндгийг зөөвөрлөн тараана (Lawson & Gemmell, 1990). Өндөг биеэс гадагшлаад тун удалгүй халдварлах чадвартай болно. Өндөг наалдан бохирдуулсан тэжээл идэж, ус ууснаас туузан хорхойноос тасарсан өндөгтэй үе, баас эсхүл өндөг тээсэн аргалын цох хорхой зэрэг үе хөлтнийг залгиснаас амьтан халдвар авна.

Хүн ялгадсаар бохирлогдсон хүнсний ногоо, ус зэрэг хүнсний зүйл, бохир гараар барьсан хүнс идэж хэрэглэх, өтгөн мөр-ам замаар дамжих эсхүл магадгүй гэдэсний урвуу гүрвэлзэх хөдөлгөөнөөр болон бие дотор өндөг задрахад (өөрөөсөө халдварлах) *T. solium*-ын халдвар авна. Уг шимэгчийг тээгч хүн амьдарч байгаа газарт өвчин нэг дор бөөнөөрөө тохиолдоно. Туузан хорхойтох өвчин гардаг улс оронд бие гүйцсэн туузан хорхойн хэлбэр зүйг судлах, халдвар авсан жинхэнэ эзэн амьтны баасанд өндөг эсхүл туузан хорхойноос тасарсан үе илрүүлэх замаар тогтмолжсон оношилгоо явуулдаг байна.

Taenia зүйлийн туузан хорхойтой харьцан ажиллахдаа биологийн эрсдэлийн дүн шинжилгээнд тулгуурлан тогтоосон биоаюулгүйн болон тусгаарлалтын тохирох арга ажиллагааг баримтална (Бүлэг 1.1.4 *Биоаюулгүй ажиллагаа ба биохамгаалал,: Мал эмнэлгийн лаборатори, туршилтын амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандартыг* үзэх).

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

1. Үүсгэгчийг илгах тогтоох

1.1. *Taenia saginata*- Тениа сагината (Үхрийн туузан хорхой)

Бие гүйцсэн шимэгч том, 4-8 м урт бөгөөд амьтны нарийн гэдсэнд ихэвчлэн дангаараа хэдэн (олон) жил амьдарна. Сколекс (буюу толгой) нь хошуу болон дэгээгүй. Хэлбэр зүйн онцлог шинжийг 1 дүгээр хүснэгтэд үзүүлэв (Khalil нар, 1994; Loos-Frank, 2000; Soulsby, 1982; Verster, 1969). Өндгөөр дүүрч боловсорсон үе нь >14 умайн салаатай. Туузан хорхойн боловсорсон үе нэг нэгээрээ гарах ба нэлээд хэсэг нь амьтны хошногоны сүвээр аяндаа гадагш хаягдана. Туузан хорхойн өндөг тасарсан үеэс тусдаа баасаар гарах нь бий.

Хэв шинжит "*Taeniid*"-ийн өндөг хэлбэр зүйн хувьд бусад *Taenia* эсхүл *Echinococcus* зүйлийн өндөгнөөс ялгагддаггүй. *Taeniid*-ийн өндөг 25–45 мкм орчим голчтой; дотроо гурван хос дэгээ бүхий онкосфер буюу үр хөврөл (эсхүл зургаан дэгээтэй үр хөврөл) агуулдаг; зузаан, хүрэн, судалтай үр хөврөлийн спор буюу "гэр"-тэй; гадна талаараа өндөгний жинхэнэ гэр болох зууван, мембран бүрхүүлтэй ба энэ бүрхүүл баасаар өндөг ялгарах үед гээгдэнэ.

T. saginata-ын авгалдай нь үхрийнхээс (*Cysticercus bovis*) гадна одос үхэр, бугынхан овгийн янз бүрийн зүйлийн амьтны хөндлөн судалт булчинд орж уйланхай үүсгэнэ. Амьдрах чадвартай уйланхай нь зууван хэлбэртэй, шингэнээр дүүрсэн, 0.5–1 × 0.5 см хэмжээтэй, тунгалаг өнгөтэй байх ба дотроо хэлбэр зүйн хувьд хожим бие гүйцэх туузан хорхойн толгойтой төстэй цагаан өнгөтэй ганц толгой агуулна. Тэд нимгэн, эзэн амьтны үүсгэсэн ширхэгэнцэрт капсул дотор оршино. Уйланхай заримдаа элэг, уушги, бөөр, өөх болон өөр бусад газарт тохиолдоно.

1.2. *Taenia solium* - Тениа солиум (Гахайн туузан хорхой)

Taenia solium нь ихэвчлэн *T. saginata*-аас богино 1–5 метр урттай, ерөнхийдөө 2-3 жил амьдрах чадвартай гэж үздэг. Толгой нь хоёр эгнээ дэгээ бүхий хошуутай. Өндгөөр дүүрч боловсорсон үе нь >14 умайн салаатай бөгөөд эзэн амьтнаас аяндаа өөрөөрөө гадагшлахгүй, харин баастай хамт үе үе (богино гинжээр) гадагшилж хаягдана. Туузан хорхойн өндөг тасарсан үеэс тусдаа баасаар гардаг.

Taenia solium-ын цистицерк голчлон гахайн булчин, төв мэдрэлийн тогтолцоонд, хүний булчин, арьсан дорх эд, төв мэдрэлийн тогтолцоо, ховор тохиолдолд нүдэнд оршино. Уйланхай нь ерөнхийдөө *T. saginata*-ынхтай ижил бөгөөд бие гүйцсэн хорхойнхтой төстэй хошуу, дэгээ бүхий толгойтой байдаг. Зарим тохиолдолд хүний тархины цүнхээл (цистерн)-д хэд хэдээрээ нийлсэн толгойгүй, 10 см ба түүнээс дээш хэмжээтэй мэдрэлийн цистицерк шиг уйланхай үүсгэж болно.

Хүснэгт 1. Taenia зүйлийн туузан хорхойн толгой, үе хэсгийг ялган тогтооход ач холбогдолтой онцлог шинжүүд

Шимэгчийн зүйл	Дэгээний тоо	Дэгээний урт (мкм)		Төмсөгний тоо	Төмсөгний давхарга	Циррусын уут тууш судас хүртэл оршино	Умайн салааны тоо	
		Том дэгээ	Жижиг дэгээ					
T. hydatigena	28-36 (26-44)	191-218 (170-235)	118-143 (110-168)	600-700	1	Тийм	6-10 Дахин хуваагдах	Өндгөвчийн дэлбээ хэмжээгээрээ янз бүр, Үтрээний хуниаст булчингүй, Төмсөг шар уут хүртэл үргэлжилнэ, ардаа нийлэхгүй.

T. ovis	30–34 (24–38)	170–191 (131–202)	111–127 (89-157)	350–750	1	үгүй	11–20 Дахин хуваагдах	Өндгөвчийн дэлбээ хэмжээгээрээ янз бүр, үтрээний хуниаст булчин, сайн хөгжсөн. Төмсөг өндгөвчийн арын булцуу хүртэл үргэлжилнэ
T. multiceps	22–30 (20–34)	157–177 (120–190)	98–136 (73–160)	284–388	2	тийм	14–20 Дахин хуваагдах	Өндгөвчийн дэлбээ хэмжээгээрээ адилхан, үтрээний урд хананд ивүүр булчинтай, төмсөг шар буурцаг хүрэх боловч араасаа нийлэхгүй
T. saginata	– толгойгүй	–	–	765–1200	1	үгүй	14–32 Дахин хуваагдах үтрээний салаа салбары харьцаа 2.3	өндгөвчийн дэлбээ хэмжээгээрээ янз бүр, үтрээний хуниаст булчин томгүй, сайн хөгжсөн, төмсөг шар буурцаг хүрэх боловч араасаа нийлэхгүй
T. solium	22–36	139–200	93–159	375–575	1	тийм	7–14 t Дахин хуваагдах	Өндгөвчийн дэлбээ хэмжээгээрээ янз бүр, жижиг нэмэлт дэлбээтэй. Үтрээний хуниаст булчингүй, төмсөг шар буурцгийн ард нийлнэ.
T. asiatica	Зарим нь хошуутай жижиг дэгээ	–	–	868–904		үгүй	16–32 Дахин хуваагдах үтрээний салаа салбары харьцаа 4.4	Өндгөвч, үтрээний амсрын булчин, төмсгийн хэмжээ T. Saginata-тай адилхан, өндгөөр дүүрсэн зарим үе нь арын булцуутай

1.3. *Taenia asiatica*-Тениа азиатика (Азийн Тениа)

T. saginata-тай ойр хамааралтай боловч генетикийн хувьд ялгаатай ба хүнд шимэгчлэх бие гүйцэн хорхой нь *T. saginata*-ынх шиг өндгөвч, үтрээний амсрын булчин, циррусын ууттай боловч *T. asiatica* зарим үе дээрээ жижиг хошуу, булцуутай, нэг талдаа 57–99 умайн салаа бүхий 16–32 умайн ууттай. Үе нь дан дангаараа ихэвчлэн өөрөө аяндаа гарна.

Авгалдай нь жижиг, 2 мм орчим хэмжээтэй, хоёр эгнээ дэгээ бүхий хошуутай, гаднах эгнээ нь олон тооны, маш жижиг дэгээнүүдээс бүрдэнэ. Авгалдай голдуу тэжээвэр болон зэрлэг гахайн элэгний цуллаг эд болон гадаргууд оршино. Мөн чацархайнаас олдож болох ба ховор тохиолдолд үхэр, ямаа, сармагчинд тохиолддог байна.

1.4. *Tania ovis* – Тениа овис

Нохой болон чонынхон овгийн зэрлэг зүйлийн амьтдын гэдсэнд шимэгчлэх бие гүйцсэн хорхой нь 1-2 метр хүртэл урт болох ба дэгээ бүхий толгойтой. Дэгээний тоо, хэмжээ нь *Taenia*-ын бусад зүйлээс ялгаварлахад ач холбогдолтой (1-р хүснэгт). Хонь, ямааны (ямаанд арай ховор) булчин (их биеийн болон зүрхний)-д тохиолдох авгалдай нь 0.5–1.0 × 0.5 см хүрдэг. *T. ovis*-той ижил төстэй шимэгч (*T. ovis krabbei*) чонынхон овгийн зэрлэг зүйлийн амьтад болон нохойд, умард нутгийн буга, цаа бугын булчинд тохиолдоно.

1.5. *Taenia hydatigena* – Тениа хидатиген

Нохой болон чонынхон овгийн зэрлэг амьтны гэдсэнд шимэгчлэх бие гүйцсэн хорхой нь 1 метр болон түүнээс урт байх ба дэгээ бүхий хошуутай (1-р хүснэгт). Авгалдай нь 1 см-ээс 6-7 см хүртэл том хэмжээтэй, урт хүзүү бүхий толгойтой. Ялангуяа хонь, түүнчлэн бусад тэжээвэр болон зэрлэг хивэгч, гахайн сэмж, чацархай, зарим тохиолдолд элэгний гадаргууд зүүгдэж байрлана. Дэлхийн хойд өргөрөгт чоно болон цаа буга/буга гэсэн мөчлөгөөр эргэлдэх ба авгалдай нь завсрын эзний элгэнд шимэгчилнэ. Жинхэнэ эзэн нь чонынхон овгийн амьтад юм.

1.6. *Taenia multiceps* – Тениа мултицепс

Чонынхон овгийн амьтны гэдсэнд шимэгчлэх бие гүйцсэн хорхой нь 1 метр хүртэл урт байх ба дэгээ бүхий хошуутай (1-р хүснэгт). Авгалдай (*Coenurus cerebralis*) нь том, шингэнээр

дүүрэн уйланхайтай ба уйланхайн хананд бөөгнөрсөн хэдэн зуун толгойтой. Хонь, зэрлэг хивэгч, хамаяа хүний толгойд авгалдай дараагийн үе шатанд (ценури) шилжиж 5 см ба түүнээс дээш хэмжээтэй болж томорно. Уйланхай хонинд “эргүү” гэх мэтээр нэрлэгддэг мэдрэлийн эмгэг үүсгэнэ.

1.7. Хүн болон нохойн овгийн махан идэштэнд бие гүйцсэн шимэгч оношлох

Халдвартай байж болзошгүй хүний бүх шимэгч болон өтгөний сорьц, дээжтэй харьцахдаа шимэгч хорхойн өндгөөр санамсаргүй халдварлахаас сэргийлэн аюулгүй ажиллагааны зохих арга хэмжээг мөрдөнө. Хүнд адилхан халдварладаг *Taenia multiceps* болон *Echinocccus*-ын зүйлүүд байх ба тэдгээрийн нохойд шимэгчлэх өндгийг ямар зүйлийн болон төрлийн шимэгч хорхойных болохыг нэгэнт ялгаварлаж чадахгүй учраас дээрх шимэгчид эндемик тархалттай нутаг оронд халдвараас хамгаалах аюулгүй ажиллагааны адилхан арга хэмжээ хэрэгжүүлнэ. Үүнээс гадна хүн болон нохойн төрлийн махчин амьтад *Diphyllobothrium* болон *Hymenolepis*-ын зүйлийн халдвар авч болохоос гадна өөр зургаан төрлийн туузан хорхой хамаяа хүнд бүртгэгддэг байна. Лойдын (2011) тодорхойлсон эдгээр бүх туузан хорхойг *Taenia*-ийн зүйлээс өндөг/проглотидийн хэлбэр зүйгээр ялгаварлана. Чонынхон овгийн амьтанд *Echinococcus*-ын зүйлийн өндгийг *Taenia*-ын зүйлийн өндөгнөөс ялгаварлах боломжгүй ч *Taenia*-ын зүйлийн шимэгч байгааг туузан хорхойн хэмжээгээр, *Echinococcus*-д өвөрмөц эсрэгтөрөгчтэй холбогдох энзим холбоост дархлааны урвалаар (Эт-ЕЛИЗА) илрүүлэн тодорхойлж болно (Allan нар, 1992). Чонынхон овгийн амьтны бусад *Dipylidium, Diplopylidium, Mesocestoides, Diphyllobothrium* зүйлийн шимэгч хорхойн өндөг болон проглотид хэлбэр зүйгээрээ ялгаатай (Lloyd, 2011; Soulsby, 1982).

Шимэгчийн эсрэг эм (празиквантел, никлозамид, альбендазол), улмаар давсан туулга хүнд олгож бие гүйцсэн туузан хорхойг туулгахад хэдийгээр шимэгчийн толгой нь голдуу эвдэрсэн, проглотидийг хэлбэр зүйгээр нь харьцуулахад тэр бүр найдвартай бус байдаг ч ямар шимэгч гарсныг толгой болон проглотидийн хэлбэр зүйд тулгуурлан ялган тогтооно. Мексик улсад туузан хорхойн бэхжүүлсэн үе хэсгийг лонхонд хийсэн бэлдмэл болон амьтан туузан хорхой тээж яваа эсэхийг тогтооход (зүйлийг тогтоохгүй) хэрэглэх асуумжийн гарын авлагыг эрүүл мэндийн төвийн эмнэлгийн ажилтанд хүргэж шимэгчийн халдварыг орон нутагт бие даан илрүүлэх аргыг хэрэгжүүлсэн байна (Flisser нар, 2011). Түүнчлэн амьтанд шимэгчийн эсрэг празиквантел зэрэг эмийг хэрэглэж гарсан туузан хорхойг мөн л хэлбэр зүйгээр нь ялган тогтооно. Гаж нөлөөттэй учраас ареколиныг цаашид хэрэглэхгүй байх хэрэгтэй. Шимэгчийн эсрэг эм хэрэглэсний дараа гарсан шимэгчийг тохирох аргаар устгана.

Верстэр (1969) болон Лүис Фрэнк (2000) нар хүн, амьтанд шимэгчлэгч *Taenia* зүйлийг шимэгч судлалаар оношлох арга, тэдгээрийн эзэн амьтан, газар зүйн тархалтыг тодорхойлон нийтэлсэн байна. Тэдгээрийг ялган тогтоох гол шинжийг Калияал нар (1994) боловсруулсан бол Лүис Фрэнк (2000) проглотидийг бэхжүүлэх, парафинд цутгах, зүсэх, будах аргыг боловсруулжээ. Шимэгчийг усанд түр сойсны дараа шууд будаж болох ба харин жижиг шимэгчийг хэдэн минут спиртэд бэхжүүлнэ. Өөр нэг хувилбар нь шимэгчийг сүүний хүчил 10%-иар агуулсан 70%-ийн этилийн спиртэд бэхжүүлэн хадгалж болох ба толгой болон их биеийг тусад нь хадгална. Туузан хорхойн болон авгалдайн толгойн хошуу, дэгээ, соруулыг тасалж Берлесийн шингэнд (20 мл нэрмэл усанд 15 г араб давирхай уусгаад 10 мл глюкозын сироп, 5 мл цууны хүчил нэмээд дараа нь уг уусмалыг хлоралгидратаар ханатал 100 г уусмал болгоно) *en face* бэхжүүлнэ. Сүүний хүчлийн кармин: 0.3 г карминыг 42 мл сүүний хүчил, 58 мл нэрмэл усанд буцлах үед нь нэмж хөргөсний дараа 5%-ийн төмрийн хлоридын уусмал ($FeCl_2.4H_2O$) 5 мл нэмж энэ уусмалыг хуучин уусмал сэргээхэд дахин ашиглаж болно. Сорьцыг шилэн саванд хийсэн будагт далд ортол дүрээд будаг нэвчтэл хэдэн минут байлгана. Сорьцыг дараа нь гоожуурын уснаас аваад 1 хонуулсан усаар хөх өнгөтэй болтол угаана. Дараа нь 50–70% этилийн спиртэд бэхжүүлээд тугалган цаасаар бүрхсэн хуванцар зүйлээр үе хэсгийг хавтгайгаар нь зөөлөн дарж усыг нь авна. Өнгөгүй болгохын тулд салицилийн хүчлийн метилийн нийлмэл эфир хэрэглэнэ.

Туузан хорхойн сүүл хэсгийн үе задрахад өндөг нь гэдсэнд суллагдаж улмаар баасаар гадагшилна. *T. saginata, T. asiatica* болон нохойн *Taenia*-ын зүйлийн үе хэсэг хошного, шулуун гэдэсний хуниаст сүвээр аяндаа гадагшилсан нь ил харагдаж байж (*T. Saginata* >95% тохиолдоно) болзошгүй. Туузан хорхойн үе хэсэг ингэж гадагшлах үед наалдамхай өндөг нь хошногоны сүвний эргэн тойронд үлдэх ба түүнийг наалддаг тууз ашиглан аваад шинжилж болно. *T. solium*-ын тухайд дээрх шинж чанар маш бага. Энэ гурван хорхойн үе хэсэг баасаар үе үе гадагшилна. Хорхойн үе хэсэг нь доторх бүх өндгөө гарчихсан байсан ч шимэгчийн биед нь олноор орших шохойжсон мөхлөгөөр туузан хорхой болохыг ялган тогтоож болно. Баасыг хольж нэгэн жигд болгосны дараа түүнд өндөг илрүүлж болно. Энэ

чиглэлээр дэлхий дахинаа хэрэглэж байгаа төрөл бүрийн аргад цуу хүчлийн этилээр хандлах болон хөвүүлэх арга орно. Хөвүүлэх аргад хэрэглэх $NaNO_3$ эсхүл Шитерийн сахарын уусмал (500 г сахар, 6.6 мл фенол, 360 мл ус) нь хоолны давсны ханасан уусмалаас нягт учраас туузан хорхойн өндгийг хөвүүлэхэд илүү давуу талтай. Өндөгний хөвөлтийг чанарын болон тоон үзүүлэлтээр гаргадаг, зах зээлд борлуулагдаж байгаа үүртэй тавиур шил ашиглан хөвүүлэх (МакМастерийн арга) эсхүл Висконсны өөрчилсөн аргыг (баасыг усаар шингэлж шүүж хурилдуурдаад тунашийг сахарын эсхүл Шитерийн уусмалаар уусган сэргээгээд 300 *g* хурдаар 4 минут хурилдуурдана) оруулсан хурилдуурдах арга хэрэглэн өндгийг хөвүүлнэ. Улмаар бүрхүүл шилэнд наалдсан өндгийг илрүүлнэ. Баасанд *T. solium*-ын өндгийг баасанд илрүүлэхэд бусад зүйлийн шимэгч илрүүлэхээс мэдрэх чанараар доогуур байдаг. Туузан хорхойн зүйлийг өндөгний хэлбэр зүйгээр тодорхойлох боломжгүй.Чизброу (2005; 2006) *T saginata*-ын үр хөврөлийн судалт бүрхүүл хүчилд тэсвэртэй (улаанаар будагдана), *T. Solium*-ынх хүчилд тэсвэргүй чанарыг ашиглан хүчилд тэсвэртэй бациллд хэрэглэдэг Зиль Нильсений будаг ашиглан *T. saginata*-ын өндгийг *T. Solium*-ын өндөгнөөс ялгаварлах боломжтойг мэдээлжээ. ДНХ проб, полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ), нуклеин хүчлийн таслагдах хэрчмийн уртын полиморфизм (ТХУП), мултиплекс ПГУ-ыг баасанд *T. solium*, *T. Saginata, T. Asiatica* өндгийг ялгаварлах туршилтад өргөн хүрээнд хэрэглэдэг ч тэдгээрийг зүйлийн түвшинд ялгаварлах тохиолдолд л ач холбогдолтой болох нь батлагдсан байна (Gasser & Chilton, 1995; Geysen нар, 2007; Gonzalez нар, 2004; Yamasaki нар, 2004). Нохойд туузан хорхойг ялгаварлан оношлох ийм шинжилгээ адилхан хийх боломжтой ч *Taenia* зүйлийн шимэгчийг илрүүлэх шинжилгээг хараахан хийгээгүй байна.

Баасанд *Taenia*-ын эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА аргыг боловсруулсан бөгөөд түүнийг хийхэд шаардагдах лабораторийн байр, тоног төхөөрөмжтэй бол тохирох хяналтын бэлдмэл ашиглан өөрсдөө хийж түүндээ урьдчилан баталгаажуулалт хийсний үндсэн дээр ашиглаж болох юм (Allan нар, 1992; Deplazes нар, 1991). Аален нар (1992) нохойд эсрэгтөрөгч илрүүлэхэд зориулж туршилтын журмаар боловсруулсан ЕЛИЗА аргыг шаардлага хангах хяналтын хамт хэрэглэж *Taenia* халдварыг энэ зүйлийн амьтдад илрүүлэх боломжтой юм. Гэвч энэ арга нь зөвхөн *Taenia* төрөлд өвөрмөц юм. Хорхойн зүйлд өвөрмөц болгохын тулд шинжилгээнд оруулсан өөрчлөлт нь эзэн амьтны эд, дархлааны эсэд нөлөөлдөг эсрэгтөрөгчийн эсрэг олон гарлын эсрэгбие боловсруулсанд оршино (Guezala нар, 2009). Өөрсдөө зохион бүтээсэн уг шинжилгээний арга нь туулай эсрэг *Taenia*-өвөрмөц олон гарлын эсрэгбиеэр (ТӨЭБ) ханыг нь бүрсэн бичил хавтанд явуулдаг хатуу фазат арга юм.

1.8. Авгалдайг илрүүлэн оношлох

Хэлийг барилахад *Taenia solium*-ын авгалдай мэдрэгдэх болов ч амьд амьтан болон задлан шинжилгээний үеийн үзлэг, махны шалгалт шинжилгээний аль алинд хэрэв гахайд маш олон тооны авгалдай байгаа бол хэлийг барилах арга нь оношилгооны ач холбогдолтой байж болох ч түүнийг саркоцист, эсхүл бусад (механик) гэмтлээс ялгаварлахад төвөгтэй. Гэсэн хэдий ч өвчин эндемик тархалттай, гахай цөөтэй нутагт гахайны худалдаачид хэл барилах аргыг оношилгооны нийтлэг арга болгон хэрэглэсээр байна. Дони нар (2004) энэ аргын мэдрэх чанарыг 21% гэж тогтоожээ.

1.8.1. Махны үзлэг шинжилгээ – оношилгооны гол аргачлал

Авгалдай нь маш жижигхэн, 1 мм орчим уйланхай харагдах ба тэдгээрийг илрүүлэхийн тулд холбогдох эдийн дээжээс лабораторид нимгэн зүсмэг бэлтгэн шинжилнэ. Олон залуу уйланхай үрэвслийн эсээр (бичил бүтцээрээ нэг бөөмт эс, эозинофил илэрнэ) хүрээлэгдэх ба эсхүл тэдгээрээр бүрээсжинэ. Халдварын хожуу шатад уйланхай бие гүйцэхийн хэрээр эргэн тойронд нь үрэвслийн эсийн тоо цөөрч булчин дотор үлдсэн уйланхай нарийн ширхэгт эдээр хүрээлүүлэн бүрээсжиж шимэгч хорхой эзэн амьтны дархлааны хариу урвалд өртөхөөргүй болно.

Онол ёсоор их халдвартай амьтны хэл зэрэг эдэд халдвар авснаас 2 долоо хоногийн дотор уйланхай харагдах ба эсхүл мэдрэгдэнэ. Уйланхай 6 долоо хоногийн дараа сайн харагдах ба бие гүйцсэн амьд уйланхай ихэвчлэн зууван хэлбэртэй, 10 × 5 мм болон түүнээс том (хорхойн зүйлээс хамаарна), шимэгчийн нимгэн, бараг тунгалаг цагаан бүрхүүл, эзэн амьтны эдээс тогтох гэртэй байна. Уйланхай болон толгой дотор цагаан цэг шиг харагдах цагаан шингэн нь ихэвчлэн уйланхайн урт тэнхлэгийн дунд хэсгээр үүссэн нугалаа байдаг.

Маханд үзлэг шинжилгээ хийх явцад *T. saginata* уйланхай олон илэрдэг ч тэдний ихэнх буюу 85–100% үхсэн байдаг. Уйланхай хөгшрөх, үхэх, сөнөрөх эрчим нь шимэгчийн төрөл зүйл, уйланхай байршсан эрхтэн, эзэн амьтны дархлааны байдал, магадгүй халдвар авах үеийн эзэн амьтны наснаас хамааран янз бүр байна. Ерөнхийдөө зүрх гэх мэт булчингийн эдийг сонгон шимэгчилдэг уйланхай илүү хурдан үхэх хандлагатай байдаг. Булчинд цус эрчимтэй эргэлддэг учраас шимэгч хорхой тэнд илүүтэй тархан шимэгчилдэг байж болох юм. Нөгөө талаар булчингийн идэвхтэй үйл ажиллагааны улмаас шимэгч гэмтэн шингэнээ алдаж дархлааны хариу урвалд өртдөг болсонтой холбоотой байж болно. Амьдрах чадвартай байгаа болон сөнөрсөн янз бүрийн шатандаа байгаа уйланхай нэг эзэн амьтанд нэгэн зэрэг орших нь бий. Бие гүйцсэн үхэрт *T. saginata* халдвар авснаас хойш 2 сарын дотор их биеийн булчин доторх уйланхай үхсэн байх нь тохиолдож болох болов ч хэдэн жилээр амьдрах чадвараа хадгалах шимэгч ч бий. Хонины хэвлийн хөндийд шимэгчлэх *T. hydatigena*-ийн уйланхай, гахайд шимэгчлэх *T. Solium*-ын уйланхай удаан хугацаанд амьд байдгийг мөн тогтоосон байна.

Сөнөрч байгаа уйланхай янз бүрээр илэрнэ. Эозинофил, макрофаг, лимфоцит, коллагений хуримтлал уйланхайн гэрийг зузааруулж бүүдгэр өнгөтэй болгох боловч доторх уйланхай анхных шигээ хэвийн харагдана. Уйланхайн шингэн аажмаар өтгөрч үрэвслийн эс нэвчирнэ. Уйланхайн хөндий ногоовтор шингэнээр (эозинофилийн) дүүрч улмаар шар өнгийн ээдэмцэр маягтай болоод маханд ихэнхдээ анхны амьд уйланхай байхаасаа илт илэрхий болж томорно. Уйланхай хожимдоо шохойжиж болзошгүй. Дөнгөж үүсэж байгаа (толгойгүй) болон сөнөрсөн уйланхайг бусад гэмтлээс ялгаварлахын тулд уйланхайг нэвт гэрэлтдэг хавчуургад дарж харах, ээдэмцэр маягийн зүйлээс түрхэц бэлтгэх, гематоксилин эозиноор будсан зүсмэгт бие бүтцийн эмгэг хувирлыг судлах арга хэрэглэнэ. Микроскопоор харахад кальцижсан биенцэр (5–10 мкм хэмжээтэй чулуужсан давс) илэрч магадгүй. Энэ нь эдэд туузан хорхойн улмаас үүссэн гэмтлийг харуулна. Туузан хорхойн зүйлийг ялган тогтооход дэгээ, түүний урт, шимэгчлэх эзэн амьтан, эд эрхтний мэдээлэл чухал хэрэг болно.

Иммунгистохимийн аргаар будах туршилтаар *T. saginata*-ын уйланхайг *Taenia*-д үл хамаарах шимэгчийнхээс ялгаварласан байна. Мөн түүнчлэн молекул шинжилгээний аргыг ялангуяа шимэгчийн зүйлийг ялган тогтооход (дээр үзэх) болон өмнө нь тухайн шимэгч огт илэрч байгаагүй эзэн амьтан эсхүл газар зүйн бүсээс туузан хорхой шинээр илрүүлэхэд ашиглаж болно. *T. saginata* гэж таамагласан сөнөрөлтэй уйланхайны дөнгөж 50%-ийг ПГУ-аар ялган тогтоож чадаж байсныг нэгэн судалгаа харуулсан (Abuseir нар, 2006) бол Айшинберге нар (2011) шохойжсон уйланхайны 80%-ийг янз бүрийн праймер хэрэглэн ялган тогтоосон байна.

T. solium-ын халдвартай гахайг оксифендазолоор эмчилсний (30 мг/кг-аар нэг тун) дараа уйланхай шингэнээ алдаж суларна. Үүний үр дүнд үүссэн гэмтэл нь уйланхай өөрөө сөнөрч үхсэний дараа үлддэг гэмтлээс жижиг байх боловч гэмтэл эдгэртлээ 3-6 сар болно.

Бусад үзлэг шалгалт дотроос маханд үзлэг шалгалт хэрхэн хийх аргачлалыг тухайн улс эсхүл бүс нутаг (жишээ нь Европын холбоо) болон амьтны төрөл зүйлээр гаргасан хууль журмаар тогтоож өгсөн байдаг. Махны гэмтэлд эргэлзэх эсхүл түүнийг ялган тогтоох шаардлагатай, эсхүл амьтны гарал үүсэл тодорхой бус бол нэмэлт хяналт шалгалт явуулж болно. Хүнд халдварладаг *T. saginata* болон *T. Solium* шимэгчийн тухайд үзлэг шинжилгээг илүү өргөн хүрээнд хийнэ.

Ерөнхийдөө *Taenia* зүйлд холбогдуулан маханд хийх үзлэг шинжилгээний аргачлалыг дор өгүүлэв:

i) Гулууз, түүний огтлолын гадаргуу, дотор эрхтнийг харж шалгана. Ийм үзлэгээр тодорхой зүйлийн амьтны булчинд *T. saginata, T. Solium, T. Ovis*-ыг, элэг, чацархай эсхүл сэмжинд *T. Hydatigena*-г (бас *T. Asiatica*-г), тархинд *T. Multiceps*-ийг тус тус илрүүлнэ.

ii) Зажлуурын гадна, дотно булчин, далавчит булчин тус бүрийг ястай нь зэрэгцээ булчингийн дундуур нэгээс хоёр зүсэж шалгана.

iii) Хэлийг гаргаж байгаад харахаас гадна ялангуяа *T. Solium*-ыг илрүүлэхийн тулд

барилж үзнэ,

iv) Үнхэлцэг, зүрхийг харж шалгана. Зүрхийг ихэвчлэн уртааш нь зүүн ховдол, ховдол хоорондын таславчийг нэг удаа зүсэж зүрхийг дотор талаас нь болон огтлолын гадаргууг харах боломжтой болгоно. Зүсэлтийг зүрхний угаас орой хүртэл зүсэж болох ба нэмэлт зүсэлт хийх шаардлагатай бол зүүн ховдолд дөрвөн гүн зүсэлт хийнэ. Зүрхийг гадна талаас нь шалгасны дараа тосгуур хоорондын хавхалгыг зүсэж зүрхний дотор талаас шалгах өөр хувилбар бий.

v) Хэвлийн ханыг авсны дараа өрцийг харж шалгах ба зүсэлт хийж болно.

vi) Улаан хоолойг харж шалгана.

vii) Зарим улсад үхрийн гурван толгойт булчинг өвдөгнөөс 5 см орчим дээгүүр гүн зүсдэг. Тэнд нэмэлт зүсэлт хийж болно. Гуяны үзэмжит булчинд заарцагны мөгөөрсөн заадастай зэрэгцээ зүсэлт хийж болно. Эдгээр зүсэлтийг ихэнхдээ *T. solium*-ын халдварын сэжигтэй гахайд хийнэ. Ялангуяа Африк тивд ажлын эсхүл задгай маллагаатай амьтан алс холын зам туулах явцад хөлийн булчингийн цусны эргэлт ихэссэнээс тэнд шимэгч хорхой илүү орогнох боломжтой гэж үздэг учраас дээрх зүсэлтийг хөл мөчдөд хийдэг байна. Бусад улсад ч хөл мөчдөд зүсэлт хийх шаардлага тавьдаг байж болно. Гэвч махны үнийг бууруулдаг учраас ийм зүсэлтийг шимэгч байж болзошгүй эрхтэнд наад зах нь нэг уйланхай илрүүлсний дараа халдварын тархалтыг тогтоох зорилгоор хийдэг.

Журам зааварт заасан аль эсхүл эхний зүсэлтээр шимэгч илэрсэн тохиолдолд нэмэлт зүсэлт хийж болно. Олон зүсэлт хийх нь энэ аргын мэдрэх чанарыг сайжруулдгийг Айшинберге нар (2013) мэдээлжээ. Херенда нар (2000) махны хяналтын талаар дэлгэрэнгүй материал бэлтгэжээ.

Тодорхой шимэгчид илүү дэлгэрэнгүй эсхүл товч аргачлал шаардагдаж болох ба гулууз мах, дотор эрхтэн, дайвар түүхий эд, цусанд хийх үнэлгээ *Taenia* зүйл, тухайн улсын дотоодын зохицуулалтаас хамаарч янз бүр байна.

1.8.2. Махны хяналт– Шимэгчийн зүйлийг ялгаварлан тогтоох, шийдвэр гаргах

i) *Тениа сагината:* орогнож болох эрхтэн

Зарим улсад (жишээ нь Европын холбооны журам) 6 хүртэл долоо хоногийн бойжилттой тугалд үзлэг хийдэггүй. Шимэгчилж болзошгүй эрхтэн нь маш их цус эргэлддэг зүрх, хэл, зажлуурын булчин, өрц юм. Гэхдээ уйланхай биеийн аль ч булчинд (эсхүл хаяа тохиолддог эрхтэнд) байж болно. *T. saginata* -ийн учруулах гэмтлийг *Sarcocystis* уйланхайн болон бусад гэмтлээс ялгаварлана. Герман, Швейцар, Шинэ Зеландад *T. Saginata*-ынх гэж таамагласан амьд уйланхайг ПГУ-аар шинжлээд 20 хүртэлх хувийг эерэг болохыг нь ялган тогтоож чадаагүй байна (Abuseir нар, 2006). *T.saginata*-г илрүүлэхийн тухайд махны хяналтын үзлэг шинжилгээний мэдрэх чанар, ялангуяа халдварын эрчимжил бага үед маш доогуур (<16%) байдаг (Dorny нар, 2000; Eichenberger нар, 2013; Kyvsgaard нар, 1990). Ерөнхийдөө жинхэнэ халдвартай амьтдын ердөө 15–50%-ийг л махны хяналтын арга ажиллагаагаар илрүүлдэг байна. Барилах арга болон махны хяналтаар хөнгөн халдварыг илрүүлж чадахгүй өнгөрөөх нь элбэг бөгөөд *T. saginata*-тай холбоотой нэг судалгаагаар >20 уйланхайтай гулууз махны 78%-ийг илрүүлж байхад түүнээс цөөн уйланхайтай гулуузыг эвдэж зүсэлт хийсний дараа дөнгөж 31%-ийг илрүүлжээ (Walther & Koske, 1980). Маханд хийсэн зүсэлтийн тоо, байршлаас (болон махны байцаагчийн ур чадвар, туршлагаас) хамааран махны хяналтын үр нөлөө янз бүр байна. Жишээлбэл Зимбабе улсад үхэрт үзлэгийг зөвхөн толгойд хийхэд 58% нь, зөвхөн дал орчим хийхэд 20% нь, зөвхөн зүрхэнд хийхэд 8% нь тус тус эерэг байсан хэдий ч үзлэгийг энэ гурван эрхтнийг хамруулан хийхэд нийт үхрийн 81% нь халдвартай байжээ. Кени улсад Волтер & Коске (1980) мөн зүсэлт хийх үзлэг шалгалтаар эерэг болох нь тогтоосон үхрийн 57%-д нь шимэгч хорхой шимэгчилдэг уламжлалт байршилдаа тэр бүр халдварлаад байдаггүйг олж тогтоожээ. Түүнчлэн Африкийн орнуудад эерэг гэж тогтоогдсон үхрийн 20% нь зөвхөн дал орчимд халдвартай байсан тул халдвар илрүүлэхэд дал мөрөнд зүсэлт хийх нь чухал ач холбогдолтой болохыг харуулжээ. Халдвар авсан нялх тугал мэт амьтны хэл, зажлуурын булчинд уйланхай цөөн эсхүл огт байхгүй

байж болзошгүй. Мөн Кени улсад туузан хорхойн авгалдайг илрүүлэхэд махны хяналтын аргын мэдрэх чанар хангалтгүй байдаг бөгөөд ердийн нөхцөлд болон туршилтаар халдвар авсан үхрийн дөнгеж 50%-ийг ялган тогтоож байгааг Ванзала нар (2003) тогтоосон байна. Тэдний ажигласнаар амьд авгалдайг олноор нь илрүүлж чадаагүй байна. Ихэнхийнх нь халдварын эрчимжил бага байсан Бельги үхэрт саяхан хийсэн өргөн хүрээтэй шинжилгээгээр мэдрэх чанар нь бага буюу 0.54% байжээ (Jansen нар, 2018a). Айшинберге нар (2011) зүрхний булчинд нэмэлт зүсэлт хийхэд илүү олон тохиолдлыг илрүүлсэн боловч (тооцоолсон мэдрэх чанар 24.2%) энэ нь мэдрэх чанар 2.87% болохыг тогтоосон Женсен нарын (2018b) судалгаатай нийцэхгүй байна.

ii) *Тениа солиум:* орогнож болох эрхтэн

Хэдийгээр дал, гуя орчим их тархсан гэж мэдээлдэгч *Taenia solium*-ын орогнож болох эрхтэн нь *T. Saginata*-ынхтай адилхан. Өвдөгний үеэс дээш 2.5 см орчимд ихэнхдээ нэг, мөн түүнээс олон зүсэлт хийнэ. Ингэснээр халдвартай гулууз махны 13% орчмыг илрүүлэх ба хэрэв ийм зүсэлт хийхгүй бол илрүүлэлгүй өнгөрөөнө. Хэдэн зүсэлт хийх нь тухайн улсын махны хяналтын дүрэм журмаас хамаарна. *T. saginata*-ын нэгэн адилаар махны хяналтын аргаар *Taenia solium*-ыг илрүүлэх мэдрэх чанар ялангуяа халдварын эрчимжилт бага бол сул (22.1%) байна (Dorny *et* нар*,* 2004). Өмнөд Африкт саяхан явуулсан судалгаагаар гулуузыг эвдэж үзэх (алтан стандарт) болон махны хяналтын аргын нийцэл (Каппагийн статистикаар) сөрөг дүнтэй байсан ба энэ хоёр аргын хоорондын үл нийцэл болон махны хяналтын одоогийн аргачлал дангаараа гахайн туузан хорхойн авгалдайн бүх тохиолдлыг хангалтгүй мэдэрч илрүүлж байгааг харуулна (Sithole нар, 2019).

iii) *Тениа азиатика:* орогнож болох эрхтэн

Жижиг хэмжээтэй тул эрчимтэй халдварласнаас бусад тохиолдолд элгэнд уйланхай илрүүлэх нь бэрхшээлтэй байдаг.

iv) *Тениа хидатиген:* орогнож болох эрхтэн

Шимэгч элгэнд яргах замдаа үлдээсэн цусархаг мөр дараа нь ногоон/хүрэн өнгөтэй үрэвсэл болж сүүл рүүгээ ширхгэнцэр үүссэний улмаас цайрна. Тэмдэглэхэд эдгээрийг элэгний соруулт хорхойноос, боломжтой бол элэгний соруулт хорхойн авгалдай эсхүл бие гүйцсэн хэлбэр аль нь болохыг тогтоож ялгаварлах хэрэгтэй. *Ascaris*-ын халдвараас үүсэх гэмтэл нь цайвар цагаан өнгөтэй жижиг, салангид голомт байдлаар харагдана. Зарим авгалдай элэгний бүрхүүл хальсны дор байрлана. Тэдгээр нь ихэвчлэн жижиг, эрт сөнөрч цэцэгт байцаа шиг хэлбэртэйгээр шохойжно. Элэгний гадаргууд үлдсэн уйланхай нь өнгөцхөн, ийлдэст бүрхүүлийн дор байрладаг бол элэгний *Echinococcus granulosus*-ын авгалдай элэгний цуллаг эдийн гүнд оршино. *Echinococcus* бэтгийн үр тогтсон авгалдай нь зузаан ханатай, авгалдай дотроо цагаан өнгөтэй элс шиг харагдах туузан хорхойн толгой бүхий олон капсул агуулж болзошгүй. Бэтэг өвчинтэй тэмцэх арга хэмжээ хэрэгжүүлэх, хяналт-шинжилгээ хийхэд ялгаварлах оношилгоо чухал ач холбогдолтой байдаг учраас бичил бие бүтцийн шинжилгээ хийх шаардлага гарна. Г&Э-оор будсан зүсмэгт Лойд нарын (1991) заасанчлан бэтэгийн дөнгөж үүсэж байгаа уйланхайн үелсэн мембраныг илрүүлнэ. Үелсэн мембранд ихээр гликолизжсэн уураг байвал улаанаар будагдах тул периодын хүчил-Шиффийн будгаар будаж уйланхай байгаа эсэхийг баталгаажуулна. Үхэр болон гахайд *Taenia hydatigena*-ийн үүсгэсэн гэмтэл сүрьеэгийнхтэй адилхан байж болно. Гэвч үүдэн болон чацархайн тунгалгийн зангилаа гэмтэхгүй, харин шимэгчийн уйланхайн агуулагдахуун удалгүй үгүй болж дэгээний үлдэгдэл, шохойжсон биенцрүүд харагдах ба эсхүл Зиль Нильсений будгаар будаж харахад бактери илэрнэ.

v) *Тениа мултисепс:* орогнож болох эрхтэн

Энэ шимэгч тархи нугасанд орогноно. Шимэгч эхний үе шатандаа яргах үед тархинд улаавтар цусархаг мөр үлдээх ба энэ нь хожим саарал идээтэй болно. Эрчимтэй халдварласан хонинд нугас тархины үрэвсэл үүсэж болзошгүй. Бие гүйцсэн уйланхай эргэн тойрныхоо мэдрэлийн эдийг дарж хатанхайруулсны улмаас эмнэл зүйн шинж тэмдэг илрэх ба энэ нь тархин дахь авгалдайн байршлаас хамааран янз бүр байна. Хэрэв уйланхай тархины тал бөмбөлөгт байрласан бол хараа эсхүл хөдөлгөөний үйл ажиллагаа алдагдаж хонь аажмаар тэжээлээ идэж чадахгүй болж ихэд турна. Бага тархинд нь уйланхай үүссэн

амьтанд саажих, шилэн хүзүүгээ татах зэрэг илүү илэрхий, хүнд шинж тэмдэг илэрнэ. Хүнд халдвартай үед шимэгч өөр эрхтэнд шилжин хөгжих боловч бусдаасаа эрт үхдэг. Энэ хэлбэр нь 1 мм-ээс дээш хэмжээтэй, анхандаа бүрээсжсэн уйланхай байгаад дараа нь эозинофил, ээдэмцэр шиг зүйлээр дүүрч хожим нь шохойжно. Хонины тархи дахь *T. multiceps* уйланхайн байршлыг илэрч буй эмнэл зүйн шинж тэмдгээр тогтоох ба эргүү өвчний уйланхайн харалдаа гавлын яс зөөлөрсөн байж болзошгүй. Зарим үед эргүү өвчний уйланхай булчинг, ялангуяа хүзүү орчмын булчинг нэрвэсэн байхдаа өнгөцхөн харагдана..

vi) *Тениа овис* орогнож болох эрхтэн

Тиениа овис орогнож болох эрхтэн *T. Saginata*-гийнхтай *адилхан.* Уйланхай нь *Sarcocystis gigantea* том уйланхайтай андуурагдаж болзошгүй.

1.9. Цусан дахь эсрэгтөрөгч илрүүлэх

Оношилгооны мэдрэх болон өвөрмөц чанартай автоматжуулсан арга боловсруулах нь мах шалгахад гулууз махыг зүсэж гэмтээсний нөхөн төлбөр болон ажиллагааны зардлыг тус тус бууруулна. Амьтанд хийх ийлдэс судлалын шинжилгээний аргын мэдрэх чанар нь бодгалийн оношилгоонд ч, мал төхөөрөх газарт халдвартай гулууз илрүүлэх өргөн хүрээтэй шинжилгээний аль алинд нэвтрүүлчихээр түвшний шаардлага хангаагүй байна. Эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА, эсрэгбие илрүүлэх ЕЛИЗА, эсрэгтөрөгчийг шатлалтайгаар илрүүлдэг энзим холбоост дархлааны урвал (ЭШИЭХДУ) болон хэлэнд үзлэг хийх шалгаж үзсэн бүх аргын мэдрэх чанар орон нутгийн ердийн нөхцөлд цөөн тооны *T. solium*-аар халдварласан гахайд сул байсан нь харагдав (Dorny нар, 2005; Sciutto нар, 1998). Энэ байдал *T. saginata*-аар халдварласан үхэрт ч бас адилхан байжээ (Jansen нар, 2018b; Van Kerckhoven нар, 1998). Тухайлбал эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА урвалаар 30-50 хүрэхгүй амьд цистицерк тээсэн үхрийн багахан (13–22%) хувийг илрүүлсэн байна. Бельги үхэрт саяхан хийсэн өрсөлдөөнт ЕЛИЗА шинжилгээний аргын мэдрэх чанар 26.9 (зөвхөн амьд уйланхай гэж үзвэл 40% хүртэл нэмэгдэнэ), өвөрмөц чанар 99.4% байжээ (Jansen нар, 2018b). Шинжилгээний гүйцэтгэлийн үр дүн нь судалсан янз бүрийн популяци, судалгааны загвар/хийсэн шинжилгээнээс хамаарч ихээхэн хэлбэлзэлтэй байжээ. Швейцарт өмнөхтэй адил өрсөлдөөнт ЕЛИЗА ашиглан хийсэн судалгаагаар түүний мэдрэх чанар 14.3% (зөвхөн амьд уйланхай гэж үзвэл 40% хүртэл нэмэгдэнэ), өвөрмөц чанар 93.7% болох нь тогтоогджээ (Eichenberger нар, 2013).

Гахайд *T. solium*-ыг оношлоход B158/B60-д суурилсан эсрэгтөрөгч илрүүлэх, худалдаанд гарсан ЕЛИЗА-г хэрэглэсэн хамгийн сүүлийн дүнгээр мэдрэх болон өвөрмөц чанар нь төсөөлж байснаас муу байсан байна (Chembensofu нар, 2017; Chilundo нар, 2018; Kabululu нар, 2020; Sithole нар, 2019). Эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА аргын эерэг урвалтай гарах дээжийн урьдчилан таамагласан утга 35.2 % буюу бага болох нь саяхан тогтоогджээ (Kabululu нар, 2020).

Гэсэн хэдий ч өрсөлдөөнт ЕЛИЗА нь халдвар хэрхэн дамждагийг судлах эпидемиологийн хээрийн судалгаанд хэрэглэгдэж байна. Амьдрах чадвартай шимэгчийг үхэр, гахайд илрүүлэх нь халдварын анхны эх үүсвэр, дамжин халдварлах улирал, амьтны эрсдэлтэй насыг тодорхой болгож өгнө. Мэдрэлийн хэлбэрийн цистицерктэх өвчнийг рекомбинант эсрэгтөрөгч ашиглан оношлох илүү мэдрэмтгий бөгөөд өвөрмөц шинжилгээний арга боловсруулах нь гахайд *T. solium*-ыг оношлох дархлаа судлалын аргыг сайжруулна.

2. Эсрэгбие илрүүлэх ийлдэс судлалын арга

Амьтны биед эргэлдэж байгаа эсрэгбиеийг тодорхойлох нь эпидемиологийн судалгаанаас бусдаар ач холбогдол бага юм. Эдүгээ хүнд *T. solium*-ын эсрэгбие илрүүлэх ЭШИЭХДУ болон ЕЛИЗА урвалын олон цомог хаа сайгүй олдоцтой байна. Эдгээр цомгийн мэдрэх болон өвөрмөц чанарыг Родригес нар (2012) харьцуулан үзэж нягталжээ. Бельги үхэрт эсрэгбие илрүүлэхэд шинжилгээний мэдрэх чанар 13.8%, өвөрмөц чанар 92.9% (Jansen нар, 2018b) байсан бол мөн шинжилгээний аргыг Швейцар үхэрт хийсэн өөр судалгаанд хэрэглэхэд мэдрэх чанар 81.6%, өвөрмөц чанар 96.3% буюу түүний гүйцэтгэл илүү сайн (Eichenberger нар, 2013) байсныг саяхны судалгааны дүн харуулав.

Гахайд ЭШИЭХДУ-аар өвөрмөц эсрэгбие илрүүлэх шинжилгээ хийж урвалын нэг толбо илэрвэл тухайн урвалыг эерэг гэж үзэхээр тооцоход урвалын мэдрэх чанар нэлээд сайн буюу 89% байсан ч өвөрмөц чанар муу буюу 48% байжээ. Эерэг урвал гэж үзэх босго утгыг гурван толбоор тогтоож шинжилгээ хийхэд урвалын өвөрмөц чанар нэмэгдэж 76%-д хүрэх боловч мэдрэх чанар нь 78% хүртэл

буурч байжээ (Jayashi нар, 2013). *Taenia hydatigena*-аар халдварласан гахайд GP50-д солбицох урвал өгдгийг саяхны судалгааны дүн харуулсан байна (Muro нар, 2017).

В. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

Авгалдай шатандаа байгаа хэд хэдэн *Taenia*-ын зүйл шимэгчийн халдварын эсрэг үр дүнтэй вакцин зохион бүтээсэн боловч вакцин үйлдвэрлэхэд зориулж олон улсын хэмжээнд хүлээн зөвшөөрөгдсөн стандарт байхгүй юм. Дархлаа төрүүлэх идэвхтэй молекул, тэдгээрийн рекомбинант технологи, гарган авах арга, тэдгээр бэлдмэлийн үр нөлөөг туршилтаар болон үйлдвэрлэлийн хэд хэдэн судалгаагаар тогтоосон тухай шинжлэх ухааны бүтээлүүдэд ихээхэн мэдээлэл хуримтлагджээ.

Австрали, Шинэ Зеландад *Taenia ovis*-ын халдварын эсрэг 45W эсрэгтөрөгч ашиглан рекомбинант вакцин хөгжүүлсэн байна (Rickard нар, 1995). Энэ вакциныг Шинэ Зеландад хонинд хэрэглэхийг зөвшөөрсөн боловч түүнийг зах зээлд худалдаалахгүй байгаа.

Үхрийн цистицерктэх өвчний эсрэг *T. saginata*-ын TSA9/18 эсрэгтөрөгч ашиглан үр дүнтэй рекомбинант вакцин хөгжүүлсэн (Lightowlers нар, 1996) боловч түүнийг зохион бүтээхдээ зах зээлд худалдаалах зорилго тавиагүй ажээ.

Рекомбинант TSOL18 (Flisser нар, 2004) эсрэгтөрөгчид суурилан *Taenia solium*-д зориулж бэлтгэсэн вакциныг Мексик, Хондурас, Камерун улсад тус тусдаа туршиж үнэлгээ хийхэд вакцины хамгаалалт 99–100%-д хүрсэн байна (Lightowlers, 2013). Дараа нь Балба, Танзани, Замбиа, Уганда улсад үйлдвэрлэлд хэрэглэж, түүнчлэн Перу улсад түүнийг >55,000 гахай бүхий нэгэн төсөлд хэрэглэсэн байна (Gabriel нар, 2020; Garcia нар, 2016; Kabululu нар, 2020; Poudel нар, 2019). Гахайд хэрэглэх TSOL18 вакцин нь Энэтхэг улсад үйлдвэрлэдэг, зах зээлд худалдаалах зөвшөөрөлтэй ганц вакцин юм. TSOL18 вакцин нь гахайд шимэгч хорхойн боловсрох эхний шатанд түүнийг онилж халдвараас хамгаална. Вакцинжуулахаас өмнө туузан хорхойн авгалдай эд эрхтэнд хэдийнээ тархан байршсан нөхцөлд вакцин нөлөөлөхгүй. Ийм учраас вакциныг оксифендазолын (30 мг/кг, нэг тун) эмчилгээтэй хавсруулан хэрэглэхийг зөвлөдөг бөгөөд учир нь эм хэрэглэхэд өмнө нь байсан халдвар арилах ба вакцин хэрэглэснээр тухай амьтан цаашид халдварт өртөхөөс хамгаалагдана.

Зах зээлд гаргасан TSOL18 вакцин нь хөрөнгийн эсийн экспреслэсэн 150 мкг TSOL18 эсрэгөрөгч тосон хүчлүүрээс бүрдэнэ. Хоёр болон түүнээс дээш сарын бойжилттой гахайд 1 мл вакциныг булчинд тарьж дархлаажуулна. 3-4 долоо хоногийн дараа сэргээн вакцинжуулна. Зургаан сарын дараа сэргээн вакцинжуулж болох боловч *T. solium*-ын шинэ халдварт гахай нас ахихаараа байгалийн жамаараа тэсвэртэй болдог нь саяхан нотлогдсон (Poudel нар, 2019) учраас залуу байхад нь гүйцэт вакцинжуулсан гахайд сэргээх вакцинжуулалт шаардлагагүй болжээ. Ерөнхийдөө гаж нөлөө төдийлөн илрээгүй ба гэхдээ зарим амьтанд вакцинжуулсны дараа түр зуур халуурах, 1-2 хоног номойрох, тарьсан хэсэгт 7 хоног хүртэл хэсэг газрын урвал өгөх нь ажиглагдана. Вакцины тунг 5 дахин ихэсгэж олгоход аж ахуйн жирийн нөхцөлд дээр дурдсанаас өөр нөлөө илрээгүй байна.

Вакциныг 2°C - 8°C-д хадгалах ба хөлдөөж болохгүй. Тодорхой тогтоосон эсрэгтөрөгч агуулж байгаа учраас вакциныг хөргөгчид хадгалахыг хэдийгээр үйлдвэрлэгч зөвлөдөг ч амьд бус вакцин учир тасалгааны хэмд гаргахад харьцангуй тэсвэртэй гэдэг нь тодорхой юм.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

ABUSEIR S., EPE C., SCHNIEDER T, KLEIN G. & KÜHNE M. (2006). Visual diagnosis of *Taenia saginata* cysticercosis during meat inspection: is it unequivocal? *Parasitol. Res.,* **99**, 405–409.

ALLAN J.C., CRAIG P.S., GARCIA NOVAL J., MENCOS F., LIU D., WANG Y., WEN H., ZHOU P., STRINGER R., ROGAN M. & ZEYHLE E. (1992). Coproantigen detection for immunodiagnosis of echinococcosis and taeniasis in dogs and humans. *Parasitology*, **104**, 347–355.

CHEESBROUGH M. (2005). District Laboratory Practice in Tropical Countries, Part 1, Second Edition. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 454 p.

CHEESBROUGH M. (2006). District Laboratory Practice in Tropical Countries, Part 2, Second Edition. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 434 p.

CHEMBENSOFU M., MWAPE K.E., VAN DAMME I., HOBBS E., PHIRI I.K., MASUKU M., ZULU G., COLSTON A., WILLINGHAM A.L., DEVLEESSCHAUWER B., VAN HUL A., CHOTA A., SPEYBROECK N., BERKVENS D., DORNY P. & GABRIËL S. (2017). Re-visiting the detection of porcine cysticercosis based on full carcass dissections of naturally *Taenia solium* infected pigs. *Parasit. Vectors,* **10**, 572. doi: 10.1186/s13071-017-2520-y.

CHILUNDO A.G., V. JOHANSEN M., PONDJA A., MIAMBO R., AFONSO S. & MUKARATIRWA S. (2018). Piloting the effectiveness of pig health education in combination with oxfendazole treatment on prevention and/or control of porcine cysticercosis, gastrointestinal parasites, African swine fever and ectoparasites in Angónia District, Mozambique. *Trop. Anim. Health Prod.,* **50**, 589–601. https://doi.org/10.1007/s11250-017-1474-6

DEPLAZES P., ECKERT J., PAWLOWSKI Z.S., MACHOWSKA L. &GOTTSTEIN B. (1991). An enzyme-linked immunosorbent assay for diagnostic detection of *Taenia saginata* copro-antigens in humans. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg*., **85**, 391–396.

DEPLAZES P., EICHENBERGER R.M. & GRIMM F. (2019). Wildlife-transmitted *Taenia* and *Versteria* cysticercosis and coenurosis in humans and other primates. *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl*., **9**, 342–358.

DORNY P., BRANDT J. & GEERTS S. (2005). Detection and diagnosis. *In:* WHO/FAO/OIE Guidelines for the Surveillance, Prevention and Control of Taeniosis/Cysticercosis, Murrell K.D. ed. WOAH, Paris, 45–55.

DORNY P., PHIRI I.K., VERCRUYSSE J., GABRIEL S., WILLINGHAM A.L. 3RD, BRANDT J., VICTOR B., SPEYBROECK N. & BERKVENS D. (2004). A Bayesian approach for estimating values for prevalence and diagnostic test characteristics of porcine cysticercosis. *Int. J. Parasitol*., **34**, 569–576.

DORNY P., VERCAMMEN F., BRANDT J., VANSTEENKISTE W., BERKVENS D. & GEERTS S. (2000). Sero-epidemiological study of *Taenia saginata* cysticercosis in Belgian cattle. *Vet. Parasitol.,* **88**, 43–49.

EICHENBERGER R.M., LEWIS F., GABRIËL S., DORNY P., TORGERSON P.R. &. DEPLAZES P. (2013). Multi-test analysis and model- based estimation of the prevalence of *Taenia saginata* cysticercus infection in naturally infected dairy cows in the absence of a 'gold standard' reference test. *Int. J. Parasitol*., **43**, 853–859.

EICHENBERGER R.M., STEPHAN R. & DEPLAZES P. (2011). Increased sensitivity for the diagnosis of *Taenia saginata* cysticercus infection by additional heart examination compared to the EU-approved routine meat inspection. *Food Control,* **22**, 989–992.

FLISSER A., CRAIG P.S. & ITO A. (2011). Cysticercosis and taeniosis *Taenia saginata, Taenia solium* and *Taenia saginata. In:* Zoonoses. Biology, Clinical Practice, and Public Health Control, Palmer S.R., Lord Soulsby E.J.L., Torgerson P.R. & Simpson D.I.H., eds. Oxford University Press, Oxford, UK, 625–642.

FLISSER A., GAUCI C.G., ZOLI A., MARTINEZ-OCANA J., GARZA-RODRIGUEZ A., DOMINGUEZ-ALPIZAR J.L., MARAVILLA P., RODRIGUEZ-CANUL R., AVILA G., AGUILAR-VEGA L., KYNGDON C., GEERTS S. & LIGHTOWLERS M.W. (2004). Induction of protection against porcine cysticercosis by vaccination with recombinant oncosphere antigens. *Infect. Immun*., **72**, 5292–5297.

GABRIEL S., MWAPE K.E., HOBBS E.C., DEVLEESSCHAUWER B., VAN DAMME I., ZULU G., MWELWA C., MUBANGA C., MASUKU M., MAMBWE M., DE COSTER T., PHIRI I.K., BERKVENS D.L., COLSTON A., BOTTIEAU E., SPEYBROECK N., KETZIS J.K., WILLINGHAM A.L., TREVISAN C. & DORNY P. (2020). Evidence for potential elimination of active *Taenia solium* transmission in Africa? *N. Engl. J. Med*., **383**, 396–397.

GARCIA H.H., GONZALEZ A.E., TSANG V.C., O'NEAL S.E., LLANOS-ZAVALAGA F., GONZALVEZ G., ROMERO, J., RODRIGUEZ S., MOYANO L.M., AYVAR V., DIAZ A., HIGHTOWER A., CRAIG P.S., LIGHTOWLERS M.W., GAUCI C.G., LEONTSINI E., GILMAN R.H. & CYSTICERCOSIS WORKING GROUP IN PERU (2016). Elimination of *Taenia solium* transmission in Northern Peru. *N. Engl. J. Med*. **374**, 2335–2344.

GASSER R. & CHILTON N.B. (1995). Characterisation of taeniid cestode species by PCR-RFLP of ITS2 ribosomal DNA. *Acta Trop.,* **59**, 31–40.

GEYSEN D., KANOBANA K., VICTOR B., RODRIGUEZ-HIDALGO R., DE BORCHGRAVE J., BRANDT J. & DORNY P. (2007). Validation of meat inspection results for *Taenia saginata* cysticercosis by PCR-restriction fragment length polymorphism. *J. Food Prot*., **70**, 236–240.

GONZALEZ L.M., MONTERO E., MORAKOTE N., PUENTE S., DIAZ DE TUESTA J.L., SERRA T. LOPEZ-VELEZ R., MCMANUS D.P.,
HARRISON L.J., PARKHOUSE R.M. & GARATE T. (2004). Differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia saginata asiatica* taeniasis through PCR. *Diagn. Microbial. Infect. Dis.,* **49**, 183–188.

GUEZALA M.C., RODRIGUEZ S., ZAMORA H., GARCIA H.H., GONZALEZ A.E., TEMBO A., ALLAN J.C. & CRAIG P.S. (2009). Development of a species-specific coproantigen ELISA for human *Taenia solium* taeniasis. *Am J Trop Med Hyg.,* **81**, 433–437.

HERENDA D., CHAMBERS P.G., ETTRIQUI A., SENEVIRATNA P. & DA SILVA T.J.P. (2000). Manual on meat inspection for developing countries. *FAO Animal Health and Production paper 119.*
http://www.fao.org/docrep/003/t0756e/T0756E00.htm

JANSEN F., DORNY P., BERKVENS D. & GABRIËL S. (2018a). Bovine cysticercosis and taeniosis: The effect of an alternative post-mortem detection method on prevalence and economic impact. *Prev. Vet. Med*., **161**, 1–8. doi: 10.1016/j.prevetmed.2018.10.006. Epub 2018 Oct 12.

JANSEN F., DORNY P., GABRIËL S., EICHENBERGER R.M., BERKVENS D. (2018b). Estimating prevalence and diagnostic test characteristics of bovine cysticercosis in Belgium in the absence of a 'gold standard' reference test using a Bayesian approach. *Vet. Parasitol.,* **254**, 142–146. doi: 10.1016/j.vetpar.2018.03.013. Epub 2018 Mar 14.

KABULULU M., JOHANSEN M.V., MLANGWA J.E.D., MKUPASI E.M., BRAAE U.C., TREVISAN C., COLSTON A., CORDEL C., LIGHTOWLERS M.W. & NGOWI H.A. (2020). Performance of Ag-ELISA in the diagnosis of *Taenia solium* cysticercosis in naturally infected pigs in Tanzania. *Parasit. Vectors*, **13**, 534. doi: 10.1186/s13071-020-04416-4.

KHALIL L.F., JONES A. & BRAY R.A. (1994). Keys to the Cestode Parasites of Vertebrates. Wallingford, Oxon, UK: CAB International.

KYVSGAARD N.C., ILSOE B., HENRIKSEN S.A. & NANSEN P. (1990). Distribution of *Taenia saginata* cysts in carcases of experimentally infected calves and its significance for routine meat inspection. *Res. Vet. Sci.,* **49**, 29–33.

LAWSON, J.R. & GEMMELL, M.A. (1990) Transmission of taeniid tapeworm eggs via blowflies to intermediate hosts. *Parasitology,* **100**, 143–146.

LIGHTOWLERS M.W. (2013). Control of *Taenia solium* taeniasis/cysticercosis: past practices and new possibilities. *Parasitology*, **140**, 1566–1577. doi: 10.1017/s0031182013001005.

LIGHTOWLERS M.W. & DONADEU M. (2017). Designing a Minimal Intervention Strategy to Control *Taenia solium*. *Trends Parasitol*., **33**, 426–434. doi: 10.1016/j.pt.2017.01.011. Epub 2017 Feb 21.

LIGHTOWLERS M.W., ROLFE R. & GAUCI, C.G. (1996). *Taenia saginata*: vaccination against cysticercosis in cattle with recombinant oncosphere antigens. *Exp. Parasitol*., **84**, 330–338.
LLOYD S. (2011). Other cestode infections. Hymenoleposis, diphyllobothriosis, coenurosis, and other adult and larval cestodes. *In:* Zoonoses. Biology, Clinical Practice, and Public Health Control, Palmer S.R., Lord Soulsby E.J.L., Torgerson P.R. & Simpson D.I.H., eds. Oxford University Press, Oxford, UK, 644–649.

LLOYD S., MARTIN S.C., WALTERS T.M.H. & SOULSBY E.J.L. (1991). Use of sentinel lambs for early monitoring of the South Powys Hydatidosis Control Scheme: prevalence of *Echinococcus granulosus* and some other helminths. Vet. Rec., **129**, 73–76.

LOOS-FRANK B. (2000). An up-date of Verster's (1969) 'Taxonomic revision of the genus *Taenia'* (Cestoda) in table format. *Syst. Parasitol.,* **45**, 155–183.

MURO C., GOMEZ-PUERTA L., FLECKER, R.H., GAMBOA R., VILCHEZ BARRETO P., DORNY P., TSANG V.C.W., GILMAN R.H., GONZALEZ A.E., GARCIA H.H., O'NEAL S.E. for the Cysticercosis Working Group in Peru (2017). Porcine Cysticercosis: Possible Cross-Reactivity of *Taenia hydatigena* to GP50 Antigen in the Enzyme-Linked Immunoelectrotransfer Blot Assay. *Am. J. Trop. Med. Hyg.,* **97**, 1830–1832. doi: 10.4269/ajtmh.17-0378

POUDEL I., SAH K., SUBEDI S., KUMAR SINGH D., KUSHWAHA P., COLSTON A., GAUCI C.G., DONADEU M. & LIGHTOWLERS, M.W. (2019). Implementation of a practical and effective pilot intervention against transmission of *Taenia solium* by pigs in the Banke district of Nepal. *PLoS Negl. Trop. Dis.,* **13**, e0006838.

RICKARD M.D., HARRISON G.B., HEATH D.D. & LIGHTOWLERS M.W. (1995). *Taenia ovis* recombinant vaccine – 'quo vadit'. *Parasitology*, **110** Suppl, S5–S9.

SCIUTTO E., MARTINEZ J.J., VILLALOBOS N.M., HERNANDEZ M., JOSE M.V., BELTRAN C., RODARTE F., FLORES I., BOBADILLA J.R., FRAGOSO G., PARKHOUSE M.E., HARRISON L.J. & DE ALUJA A.S. (1998). Limitations of current diagnostic procedures for the diagnosis of *Taenia solium* cysticercosis in rural pigs. *Vet. Parasitol.,* **79**, 299–313.

SITHOLE M.I., BEKKER J.L., TSOTETSI-KHAMBULE A.M. & MUKARATIRWA S. (2019). Ineffectiveness of meat inspection in the detection of *Taenia solium* cysticerci in pigs slaughtered at two abattoirs in the Eastern Cape Province of South Africa. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Reports*, **17**, 100299. doi: 10.1016/j.vprsr.2019.100299.

SOULSBY E.J.L. (1982). Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals, Seventh Edition. Balliere Tindall, London, UK, 809 p.

TREVISAN C., MKUPASI E.M., NGOWI H.A., FORKMAN B., JOHANSEN M.V. (2016). Severe seizures in pigs naturally infected with *taenia solium* in Tanzania. *Vet. Parasitol.,* **15**, 67–71.

VAN KERCKHOVEN I., VANSTEENKISTE W., CLAES M., GEERTS S. & BRANDT J. (1998). Improved detection of circulating antigen in cattle infected with *Taenia saginata* metacestodes. *Vet. Parasitol.,* **76**, 269–274.

VERSTER A. (1969). A taxonomic revision of the genus *Taenia* Linnaeus 1758 s. str. *Onderstepoort J. Vet. Res.,* **37**, 3– 58.

WALTHER M. & KOSKE J.K. (1980). *Taenia saginata* cysticercosis: a comparison of routine meat inspection and carcass dissection results in calves. *Vet. Rec.,* **106**, 401–402.

WANZALA W., ONYANGO-ABUJE J.A., KANG'ETHE E.K., ZESSIN K.H., KYULE N.M., BAUMANN M.P., OCHANDA H. & HARRISON L.J. (2003). Control of *Taenia saginata* by post-mortem examination of carcasses. *Afr. Health Sci.*, **3**, 68–76.

YAMASAKI H., ALLAN J.C., SATO M.O., NAKAO M., SAKO Y., NAKAYA K., QIU D., MAMUTI W., CRAIG P.S. & ITO A. (2004). DNA differential diagnosis of taeniasis and cysticercosis by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.,* **42**, 548–553.

*
* *

ЖИЧ: Энэ хэвлэлийг гаргах үед (2021) цистицерктэх (*Taenia solium*-ын халдвар орно) өвчнийг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори байхгүй байв.

(ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас мэдээлэл авна уу: https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

ЖИЧ: 1991 ОНД АНХ, 2021 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

САЛМОНЕЛЛЁЗ [1]

А. УДИРТГАЛ

Салмонеллёз нь хүн болон мал, амьтанд тохиолдох халдварт өвчин бөгөөд эмнэл зүйн хувьд цочмог эсхүл архаг явцтай нарийн гэдэсний үрэвсэл, цус үжилт, хээл хаялтаар илэрнэ. Халдвар авсан зарим амьтан шинж тэмдэггүйгээр өвчлөх нь бий. Салмонел нь үндсэндээ гэдэсний бактери бөгөөд баасаар байнга эсхүл үе үе гадагшилж хүрээлэн буй орчныг бохирдуулна (Barrow & Methner, 2013).

1. Үүсгэгчийн ангилал, нэршил

Salmonella-ын төрлийн бактери *S. enterica* болон *S. bongori* гэсэн хоёр зүйлээс бүрдэнэ (Grimont & Weill, 2007): *Salmonella enterica* дотроо зургаан дэд зүйлд хуваагдах ба өөр хоорондоо биохимийн зарим шинж чанар болон Felix O1 бактериофагийн хайлуулах үйлчлэлд мэдрэг байдлаараа ялгагдана. Эдгээр дэд зүйлд дараах багтана:

Анх ангилсан дэд зүйл		Одоогийн нэршил
• Дэд зүйл I	=	дэд зүйл *enterica*
• Дэд зүйл II	=	дэд зүйл *salamae*
• Дэд зүйл IIIa	=	дэд зүйл *arizonae*
• Дэд зүйл IIIb	=	дэд зүйл *diarizonae*
• Дэд зүйл IV	=	дэд зүйл *houtenae*
• Дэд зүйл VI	=	дэд зүйл *indica*

S. enterica-ийн *enterica* дэд зүйлийн ийлдсэн хэвшлийн нэршлээс ялгаатай байлгах үүднээс *S. bongori*-ын ийлдсэн хэвшилд V тэмдэглэгээг хуучин хэвээр үлдээжээ.

Салмонелийн омгуудын липополисахарид (ЛПС; О эсрэгтөрөгч) болон шилбүүрийн уураг (Н эсрэгтөрөгч) нь өөр хоорондоо ялгаатай байдгийг үндэслэн тэдгээрийг Вайт-Кауфман-ЛиМинорын бүдүүвчийн дагуу ийлдсэн хэвшлүүдэд ангилдаг (Grimont & Weil, 2007) ба өдгөө 2600 гаруй ийлдсэн хэвлшлийг олж тогтоогоод байна. Гэвч хэд хэдэн ийлдсэн хэвшлийн тогтвортой монофаз хэлбэрийн колони цөөнгүй байдаг ба ийлдсэн хэвшлийн жагсаалтыг сүүлийн 10 гаруй жил шинэчлээгүй байна. Хүн амд болон хүнсэнд хэрэглэдэг мал, амьтанд халдварладаг хамгийн нийтлэг ийлдсэн хэвшил нь *enterica* дэд зүйлд хамаарна. Бусад дэд зүйлийн ийлдсэн хэвшил хүйтэн цуст амьтан болон хүрээлэн буй орчноос олдох магадлал илүү ч хааяа хүнд өвчин үүсгэх нь бий. *Arizonae* болон *diarizonae* дэд зүйлийн зарим ийлдсэн хэвшил цацагт хяруул, хонинд өвчин үүсгэдэг бол бусад ийлдсэн хэвшлийг хэвлээр явагч болон хоёр нутагтан амьтад тээдэг байж болзошгүй. *Arizonae* болон *diarizonae* дэд зүйлийн зарим ийлдсэн хэвшил цацагт хяруул, хонинд халдварлаж өвчин үүсгэдэг бол бусад ийлдсэн хэвшлийг хэвлээр явагч болон хоёр нутагтан амьтад тээх боломжтой. Вайт-Кауфман-ЛиМинорын (Grimont & Weil, 2007) бүдүүвчийн дагуу зөвхөн *enterica* дэд зүйлийн ийлдсэн хэвшлүүдийг оноон нэрлэсэн бөгөөд жишээ нь *S. Enterica*-ийн *enterica* дэд зүйлийн Enteritidis ийлдсэн хэвшил, эсхүл *S. enterica*-ийн Enteritidis ийлдсэн хэвшил, эсхүл товчоор *S*. Enteritidis гэж нэрлэсэн байдаг. *S. enterica*-ийн бусад дэд зүйл, *S. bongori*-ын ***монофаз хэлбэрийн колони*** болон ийлдсэн хэвшил нь зөвхөн тэдгээрийн эсрэгтөрөгчийн томьёогоор тэмдэглэгдэнэ (жишээ нь: *Salmonella* IV 48:g.z51).

Колонийн хэлбэр өөрчлөгдсөн эсхүл бактериофагийн (-уудын) нуклеин хүчил эзэн бактерийн геномтой нэгдсэний улмаас янз бүрийн О эсрэгтөрөгч үүсэх, шилбүүрийг эсхүл экспреслэх механизмыг кодлогч ген дэх фаз хувиралт, генийн идэвхгүйжил, мутацийн улмаас өөр төрлийн шилбүүр бий болсон тохиолдолд ийлдсэн хэвшлийн ангилалд өөрчлөлт орж болно.

2. Өвчний тодорхойлолт, уршиг

Үүсгэгчийн ийлдсэн хэвшил болон тухайн амьтны төрөл зүйлээс хамаарч халдварын явц, эмнэл зүйн шинж тэмдэг, задлан шинжилгээний үеийн эмгэг өөрчлөлт, өвчний эпидемиологийн илрэл янз бүр

[1] Салмонелээр үүсгэгдэх тодорхой өвчнүүдийг ДМАЭМБ-ын гарын авлагын амьтны зүйл тус бүрд холбогдох зарим хэсэгт оруулсан байдаг ч энэ бүлэгт хэд хэдэн зүйлийг авч үзсэн тул илүү өргөн хүрээтэйгээр тодорхойлсон болно.

байна. Ихэнх ийлдсэн хэвшил маш олон зүйлийн амьтанд өвчин үүсгэх (Jajere, 2019) боловч зарим ийлдсэн хэвшил нь эзэн-өвөрмөц буюу жишээ нь *S*. Typhi хүнд, *S*. Abortusovis хонинд халдварлана. *S*. Choleraesuis гахайд, *S*. Dublin үхэрт гэх мэтээр тодорхой эзэн амьтанд дассан бусад ийлдсэн хэвшил бий. Эзэн-өвөрмөц, эзэн-дасалт ийлдсэн хэвшил ихэвчлэн цус үжих өвчин үүсгэнэ. Тэжээвэр шувуунд цагаан чацга буюу пуллуроз өвчин болон шувууны хижиг өвчнийг *S.* Gallinarum ийлдсэн хэвшлийн Pullorum болон Gallinarum биохэвшлээр тус тус үүссэн эзэн-өвөрмөц халдвар гэж тодорхойлдог байсан. Шувууны хижиг болон пуллуроз өвчний талаар энэ гарын авлагын 3.3.7 бүлэгт дэлгэрэнгүй оруулав.

Өсвөр насны хүүхэд, өндөр настан, дархлаа суларсан эсхүл ходоодны хүчил ялгарлыг саатуулагч эм хэрэглэдэг хүмүүс энэ өвчинд илүүтэй мэдрэмтгий байдаг. Энэ өвчнөөр гэрийн тэжээвэр бүх мал, амьтан өвчлөх ба ялангуяа өсвөр болон хээлтэй мал, амьтан мэдрэмтгий байна. Эмнэл зүйн олон янзын шинж тэмдгээр, тухайлбал цочмог цус үжилт, цочмог эсхүл архаг чацга алдалт, амьсгалын замын өвчин, хээл хаялт, үений үрэвслээр илэрч болно. Нэг долоо хоног хүртэл бойжилттой тахианы болон цацагт хяруулын дэгдээхэй сальмонелийн халдварт онцгой мэдрэмтгий бөгөөд зарим тохиолдолд тэжээл, усандаа дургүй болох, номойрох, өд сөд нь сөрвийх, нэг дор бөөгнөрөх, шингэний дутагдалд орох, цагаан чацга алдах, хам сүв нь сангасаар бохирдож бөглөрсний улмаас ихэвчлэн хорогдох зэрэг эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрч болох боловч бага залуу шувуу ч эмнэл зүйн ямар нэг шинж тэмдэггүйгээр өвчлөх өндөр магадлалтай. Тугалд 2-6 долоо хоногийн бойжилттой үед эзэн амьтан-дасалт *S*. Dublin ийлдсэн хэвшлийн цус үжих халдвар тохиолдоно. Тугалд номойрох, халуурах, тэжээлийн дуршил буурч турах, цустай чацга алдах, салстай баах шинж тэмдэг илрэхээс гадна уушгины үрэвсэл, мөчдийн үзүүр үхжиж болох ба ихэвчлэн маш хурдан шингэнээ алдаж тохирох эмчилгээг яаралтай хийгээгүй тохиолдолд үхэлд хүргэнэ. *S*. Dublin ийлдсэн хэвшлийн халдварын улмаас хээлтэй үнээ хээл хаях нь нийтлэг тохиолдоно. Эзэн амьтан-дасалт *S*. Choleraesuis ийлдсэн хэвшлийн халдвар авсан гахайд цус үжих шинж тэмдэг илэрч халдвар авсныг илтгэх өөр ямар нэг шинж тэмдэг үзүүлэлгүйгээр хорогдоно. Гэхдээ өвчилсөн гахайд тэжээлийн дуршил буурч турах, өндөр халуурах, сульдах, өнгөцхөн ханиах, амьсгалахад хүндрэлтэй болох, мөчдийн үзүүр хөхрөх зэрэг эмнэл зүйн шинж тэмдэг илүү түгээмэл илэрч болно. Үхэр болон эхээс дөнгөж ялгасан торойд *Salmonella* Typhimurium ийлдсэн хэвшлээр үүсгэгдэх сальмонеллёз өвчин элбэг тохиолдоно.

Олон амьтан, ялангуяа тахиа, гахай, мөн үхэр, хонь халдвар авах боловч эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлэн өвчилдөггүй (Jajere, 2019). Эдгээр амьтан халдварыг мал, амьтны сүрэг, суурь дотор, бас өөр хооронд нь тараахад гол үүрэг гүйцэтгэдэг байна. Салмонеллёз өвчин бүх улс оронд тохиолддог ч эрчимжсэн мал аж ахуй, ялангуяа тахиа, гахайн аж ахуй эрхэлдэг нутагт балнадын бус халдвар илүү тархалттай нь тогтоогджээ (Jajere, 2019).

3. Хүнд халдварлах эрсдэл, биоаюулгүй ажиллгаа ба биохамгааллын шаардлага

Хүний салмонеллёз нь хамгийн өргөн тархсан, эдийн засгийн хохирол ихтэй зоонзын өвчин юм. АНУ-ын Өвчинтэй тэмцэх, урьдчилан сэргийлэх төв (CDC)-ийн тогтоосноор тус улсад жил бүр 1.35 сая гаруй хүн салмонелийн халдвараар өвчилж байгаагаас 26,500 гаруй нь эмнэлэгт хэвтэн эмчлүүлж, 429 хүн нас бардаг байна (CDC, 2021). Австралид хийсэн саяхны судалгаагаар 2015 онд 91 мянга шахам балнадын бус салмонеллёзын тохиолдол гарснаас 4,300 гаруй нь эмнэлэгт хэвтэн эмчлүүлж, 19 өвчтөн нас барсан ба нийт 100 гаруй сая америк долларын нийгмийн хамгааллын зардал гарчээ (Ford нар, 2019). Салмонелийн халдварын хамгийн нийтлэг шалтгаан нь бохирдсон хүнс, тэр дундаа түүхий эсхүл дутуу болгосон өндөг, өндгөн бүтээгдэхүүн, шувуу, гахайн мах, бохирлогдсон шинэ ургацын жимс, хүнсний ногоо, пастеризаци буюу дулааны боловсруулалт хийгдээгүй сүүгээр хийсэн зөөлөн бяслаг идсэнээс шалтгаалжээ.

Салмонелийн халдвар бас халдвартай шувуу, мал, хэвлээр явагч, хоёр нутагтан, мэрэгч, нохой, муурнаас хавьтлаар хүнд халдварлан тархана. Эдгээр амьтан илт эрүүл харагдавч бактери тээж байж болзошгүй. Эзэн амьтан-дасалт *S*. Choleraesuis, *S*. Dublin зэрэг ийлдсэн олон хэвшил хүнд ноцтой өвчин үүсгэдэг нь тогтоогджээ. Мөн мал, амьтан төхөөрөх газрын ажилтан, амьтан маллагч, малын эмч халдвартай мал, амьтантай харьцаж ажиллах үедээ халдвар авч болзошгүй. Аюулгүй ажиллагааны арга дадлыг мөрдөн хэрэгжүүлээгүй тохиолдолд лабораторийн ажилтан ч бас халдвар авч болно. Лабораторид амьд өсгөвөр, халдварлах боломжтой болон бохирдсон материалтай харьцах бүх ажлыг биологийн эрсдэлийн дүн шинжилгээгээр тогтоосон биохамгаалал, тусгаарлалтын зохих түвшинд гүйцэтгэнэ (энэ гарын авлагын 1.1.4 Биоаюулгүй ажиллагаа ба биохамгаалал*: Мал эмнэлгийн лаборатори, амьтны байранд биологийн эрсдэлийн удирдлагын стандарт* бүлгийг үз).

4. Ялгаварлах оношилгоо

Салмонелийн түгмэл халдвар авсан залуу шувуунд илрэх шинж тэмдэг нь пуллороз, шувууны хижиг, олон янзын бактериар, тэр дундаа *Escherichia coli*-оор үүсдэг бусад цочмог явцтай үжилт өвчний үед

илэрдэг шинж тэмдэгтэй маш төстэй илэрнэ. Салмонелийн халдварын улмаас бүх төрөл зүйлийн шувуунд үүсдэг үений үрэвсэл нь бусад халдварын үед үүсдэг үений салст бүрхүүлийн (синовит) эсхүл хэтэвчийн (бурсит) үрэвсэлтэй андуурагдах магадлалтай. Гахайд *S*. Choleraesuis-аар үүсдэг үжилт салмонелийн халдвар гахайн сонгомол мялзан өвчинтэй андуурагдаж болзошгүй. Хэдийгээр ихэвчлэн арай нялх байхдаа тусдаг ч колибактерийн халдвар тугал болон эхээс дөнгөж ялгасан торойд туссан үжилт салмонелтэй тун төстэй илэрнэ. Салмонеллёзын нарийн гэдэсний цочмог хэлбэр кокцидиозын халдвартай төстэй илэрч болно. Хонины хээл хаялт зөвхөн *S.* Abortusovis-оор бус мөн *Chlamydia abortus, Campylobacter* spp., *Coxiella burnetii, Brucella ovis* болон бусад эмгэг төрүүлэгчээс шалтгаалж болно.

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Сальмонеллёз өвчнийг оношлох шинжилгээний арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүйг тогтоох	Бодгалийг шилжилт хөдөлгөөнд оруулахаас өмнө халдваргүйг тогтоох	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх	Эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах	Халдварын тархалт тогтоох - тандалт	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгч илрүүлэх[(a)]						
Salmonella ялган авах	+++	+++	+++	+++	+++	–
ПГУ зэрэг бусад түргэн арга	+	+	+	+	+	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ИНУ	++	–	++	–	+	++
ЕЛИЗА	++	–	+++	+	+++	++

Түлхүүр үг:
+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
++ = энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй;
ПГУ = полимеразагийн гинжин урвал;
ИНУ = ийлдэсний наалдуулах урвал;
ЕЛИЗА = энзим холбоост дархлааны урвал;
[(a)] Үүсгэгч илрүүлэх төрөл бүрийн шинжилгээг эмнэл зүйн нэг ижил сорьцод хийх нь зүйтэй:

1. Үүсгэгч илрүүлэх

Сорьц цуглуулах давтамж, авах сорьцын төрөл нь шинжилгээний хөтөлбөрийн зорилго, хяналт-шинжилгээ эсхүл олон улсын худалдааны дүрэм журам, эмнэл зүйн шинж тэмдгийн илрэл, тархалтыг илрүүлэх барагцаалсан түвшин эсхүл нарийвчлал, зардал, сорьц цуглуулах нөөцийн хүртээмж, лабораторийн бололцооноос маш их хамаарна. Оношилгооны болон судалгаа шинжилгээний сорьц авах, илгээх, хадгалах, сорьцын хэмжээ, хамт илгээвэл зохих мэдээлэл, сорьц савлах, тээвэрлэх ерөнхий удирдамжийг энэ гарын авлагын 1.1.2 болон 1.1.3 бүлэгт оруулав.

Бактери судлалын шинжилгээнд зориулсан дан сорьцыг аль болохоор үжилгүй аргаар авах ба эмнэл зүйн шинжээр өвчилсөн тохиолдлын эсхүл тогтмолжсон хяналт-шинжилгээний сорьцыг мал, амьтанд аливаа антибиотикийн эмчилгээ хийж эхлэхээс өмнө авна. Эмнэл зүйн сорьцыг өвчний цочмог үед эсхүл үхсэнээс хойш аль болохоор удаагүй байхад нь авахыг эрмэлзэнэ. Тэжээвэр шувууны болон бусад зүйлийн шувууны суурьт ердийн нөхцөлд цугларсан сангас, хаягдал, тоос, хусдас, шалны гадаргуугийн арчдас эсхүл том, чийгтэй алчууураар арчиж авсан сорьц зэрэг хүрээлэх орчны сорьц нь халдвартай суурийг илрүүлэх хамгийн бага зардалтай арга бөгөөд түүнийг мал аж ахуйн өөр өөр үйлдвэрлэлийн нэгжид ч хэрэглэж болох юм. Саалийн сүрэгт сүүний шүүлтүүрээс сорьц авах тохиромжтой арга бий. Цөөхөн малтай хот айлаас өвчтэй эсхүл саяхан үхсэн мал, амьтнаас төлөөлөл болгон сорьц авч лабораторид илгээнэ. Эзэн-дасалтай ийлдсэн хэвшлийг баасны сорьцоос ялган авах нь ихэвчлэн ихээхэн төвөгтэй байдаг учраас өвчинд сэжиглэж байгаа мал, амьтны эдийн сорьцоос авч бололцооныхоо хэрээр өсгөвөрлөх хэрэгтэй.

Шинж тэмдэггүй халдвартай мал, амьтан бактерийг бага хэмжээгээр, үе үе ялгаруулдаг тул тэдгээр амьтнаас салмонел ялган авахад онцгой анхаарах хэрэгтэй. Сорьцын хэмжээг нэмэх, илүү олон мал, амьтныг төлөөлүүлэн сорьцын тоог нэмэх, зарим тохиолдолд зардал хэмнэх үүднээс сорьцыг нийлүүлж бэлтгэх, сорьцыг давтан авахад шинжилгээний аргын оношилгооны мэдрэх чанар нэмэгддэг боловч хэрэв нийлүүлсэн сорьцод илрүүлэхийг зорьсон бактерийн тархалт эсхүл төвшрүүлэг бага бол шинжилгээний аргын илрүүлэлт буурна. Бактери баасны сорьцод ихэвчлэн жигд бус, энд тэнд бөөндүү орших тул өсгөвөрлөхийн өмнө сорьцыг хольж шинжилгээний арга зүйн мэдрэх чанарыг мөн нэмэгдүүлэх боломжтой. Бактери судлалын болон ийлдэс судлалын аргаар халдвартай шувууны суурь, мал, амьтны сүрэг, халдвартай бодгалийг ялган тогтоож болно.

1.1. Өсгөвөр

Дэлхий даяар салмонел ялган авч илрүүлэх олон аргыг хэрэглэж байна. Илүү өргөн хэрэглэдэг зарим аргыг дор тодорхойлов. Оношилгооны тухайн нөхцөл байдалд хамгийн сайн тохирох өсгөвөрлөлтийн арга, тэжээлт орчин нь олон хүчин зүйлээс, тэр дундаа салмонелийн ийлдсэн хэвшил, дээжийн эх үүсвэр, төрөл, амьтны зүйлийн гарал үүсэл, бичил амь судлагчийн туршлага, өсгөврийг баяжуулах сонгомол тэжээлт орчны болон цутгамал сонгомол тэжээлт орчны олдцоос хамаарна.

Бүх тэжээлт орчин чанарын хяналт шалгалтад хамрагдсан байх ба тэжээлт орчинд шинжлэх дээжээс багахан хэмжээгээр тарилт хийсэн ч эсхүл өрсөлдөн ургах бичил биетэн байсан ч салмонелийг ургуулдаг байх ёстой. Лавлагаа омгийг дээжтэй зэрэгцүүлэн тогтмол хэрэглэдэг тохиолдолд арга зүйг сайтар мөрдөхгүй бол дээж солбицон бохирдоход хүргэнэ. Ийм учраас өндөр ач холбогдол өгч сонирхож байгаа ийлдсэн хэвшилтэй адилхан ердийн өсгөвөрлөлтийн шинж чанар бүхий ховор ийлдсэн хэвшлийг ашиглах хэрэгтэй. Мөн бичил биетний эсрэг тэсвэржсэн омог эсхүл флюоресцент гэрэлтэлт зэрэг бусад маркер ашиглах боломжтой.

Чанарын хөндлөнгийн баталгаажуулалтын хөтөлбөр хэрэгжүүлэх нь нэмэгдсэнээр ISO 6579-1:2017 (2020 онд нэмэлт өөрчлөлт орсон) зэрэг олон улсын стандарт аргуудыг илүү ихээр ашиглах болов. Өөрчилсөн хагас хатуу Раппапорт-Вассилиадис (ӨХРВ)-ын агарт суурилсан аргыг баас, хүнсний бүтээгдэхүүн, тэжээл, орчны дээжид баталгаажуулсан бөгөөд энэ нь мал аж ахуйн анхан шатны үйлдвэрлэлээс авсан дээжид салмонел илрүүлэхэд зайлшгүй шаардлагатай, харин хүнсний бүтээгдэхүүн, тэжээлд сонгон хэрэглэж болох арга юм. Анхан шатны үйлдвэрлэлээс авсан дээжид хэрэглэх энэ стандарт арга нь буфержүүлсэн пептонт усаар урьдчилан баяжуулаад дараа нь сонгомол баяжуулалтыг ӨХРВ-ын агар дээр заавал хийхэд суурилах ба хүнсний бүтээгдэхүүн, тэжээлд хэрэглэх сонгомол баяжуулалт нь Мюллер-Кауфманы тетратионаттай шөл (MKTTn), Раппапорт-Вассилиадисын шар буурцаг (РВШБ)-ийн шөл эсхүл ӨХРВ-ын агар бөгөөд омог ялгахдаа ксилоз-лизин-диоксихолат (XLD) агар болон биохимийн янз бүрийн шинж чанарын үзүүлэлтийг үндэслэн сонгосон нэмэлт цутгамал агарыг хэрэглэнэ. Хөдөлгөөнтэй салмонелийг илрүүлэхэд ӨХРВ агар маш сайн үр дүнтэй болох нь тогтоогджээ. Оношилгооны арга, шинжилгээг энэ гарын авлагын 1.1.6. *Халдварт өвчний оношилгооны аргыг баталгаажуулах зарчим, арга* бүлэгт тодорхойлсон аргаар баталгаажуулна.

1.1.1. Урьдчилан баяжуулах тэжээлт орчин

Шинж тэмдэггүй өвчилсөн амьтны баасны, хүрээлэн буй орчны, малын тэжээлийн, хүнсний бүтээгдэхүүний дээжид салмонелийн тоо ихэвчлэн цөөн, зарим үед гэмтсэн байдаг учраас хэрэгтэй бактерийн омгийн илрүүлэлтийг дээд зэргээр нэмэгдүүлэх үүднээс буфержүүлсэн пептоны ус зэрэг урьдчилан баяжуулсан тэжээлт орчин хэрэглэдэг. Энэ нь дээж дэх цөөн тооны салмонелийг сонгомол тэжээлт орчны хортой нөлөөнд үхүүлэхгүйгээр үржүүлж олшруулан хөлдөөх, халаах, хатаах, амьд биетийг устгадаг бодис, органик хүчлийн нөлөөгөөр бараг устах хүртлээ гэмтсэн салмонелийг сэргээх боломжтой болгоно. Хэрэв хүчлээр боловсруулсан дээж шинжилж байгаа бол урьдчилан баяжуулсан тэжээлт орчны буфержүүлэх чанарыг нэмэх давуу талтай. Шингээх чанар сайтай дээж эсхүл шинэ баас, гэдэсний агуулагдахууны хувьд дээжийн жинд тохируулан нэмэх шөлний харьцааг ихэсгэвэл илрүүлэлт сайжирна. Бактерийг үе үе гадагшлуулж байгаа мал, амьтны баасны дээжийг наад зах нь гурав дараалан авч шинжлэх нь зохистой.

1.1.2. Баяжуулах сонгомол орчин

Бусад бактерийн ургалтыг саатуулах мөртөө салмонелийг сонгомолоор ургуулах нэмэлт бодис агуулдаг баяжуулалтын шингэн, хагас хатуу агарт тэжээлт орчин бий. Баяжуулалтын сонгомол тэжээлт орчны жишээнд тетратионат (тухайлбал Мюллер-Кауфманы шөл), селенит цистеин, бриллиантын ногооны шөл, Раппапорт-Василиадисийн шар буурцгийн уурагт (РВШБ) шөл, өөрчилсөн хагас хатуу Раппапорт-Василиадис (ӨХРВ)-ын агар орно. Гэвч зарим нэмэлт бодис салмонелийн тодорхой ийлдсэн хэвшилд харьцангуй хортой байдаг, жишээ нь селенит *S.* Choleraesuis-ийн ургалтыг саатуулдаг бол бриллиантын ногоон *S.* Dublin-ий олон омогт хортой нөлөө үзүүлдэг. Тэжээлт орчны сонгомлоор өсгөвөрлөх чанарыг ихэсгэхэд температурыг нэмсээр зарим лабораторид 43°C-д хүргэн хэрэглэдэг боловч тетратионат зэрэг зарим орчинд саатуулах нөлөө үзүүлж болзошгүй юм.

43°C хэмтэй Раппапорт-Вассилиадисын тэжээлт орчинд температурт мэдрэг омгийн, ялангуяа *S.* Dublin ургалт саатдаг учраас РВШБ-ийн шөлөн орчин, ӨХРВ-ын агарт 41.5°C-д өсгөвөрлөхийг зөвлөдөг. ӨХРВ зэрэг бактерийн хөдөлгөөнийг тодорхойлоход зориулсан баяжуулах сонгомол тэжээлт орчныг салмонелийг ялгах аргын мэдрэх чанарыг нэмэх зорилгоор нийтлэг хэрэглэж байна. Салмонелийг дээд зэргээр ялган авах, холилдсон ийлдсэн хэвшлүүдийн бохирдлыг илрүүлэхэд наад зах нь баяжуулалтын сонгомол хоёр төрлийн тэжээлт орчин ашиглах хэрэгтэй ба нэгийг нь 37°C-д, нөгөөг нь тохирох өндөр температурт байлгана. Тэжээлт орчны найрлага үйлдвэрлэгчээс хамаарах төдийгүй зарим тохиолдолд нэг үйлдвэрлэгчийн цуврал бүрийн хооронд ялгаатай байдал, өсгөвөрлөх температур, хугацаа, тэжээлт орчинд ачаалах дээжийн хэмжээ зэрэг нь бүгдээрээ дээжээс ялган авах бактерийн гарцад нөлөөлөх учир энэ бүгдийг анхааралдаа авах хэрэгтэй. Эдгээр тэжээлт орчны сонгон өсгөвөрлөх чанар нь бичил биетний хөдөлгөөн, малахитын ногоон будаг болон новобиоциний агууламж, магнийн хлоридын өндөр төвшрүүлэгт суурилна. Хагас хатуу тэжээлт орчин хэрэглэснээр агарт тарилт хийсэн газраас тархан ургаж бүс үүсгэж байгаагаар бактерийн хөдөлгөөнийг тодорхойлох боломжтой. Хэрэв ийм ургалт өгөхгүй бол ихэнх тохиолдолд тухайн дээжид салмонел илрээгүй (сөрөг) гэж үзэн дахин суулгалт хийхгүй. Гэхдээ хөдөлгөөнгүй омгийг хагас хатуу баяжуулалтын сонгомол тэжээлт орчин хэрэглэн илрүүлэх боломжгүй. Өндөг, ус, хөрс зэрэг төмөр эсхүл тэжээллэг бодис дутмаг дээжээс салмонелийг илүү сайн ялган авахын тулд Ферриоксиамин Е зэрэг нэмэлт бодисыг, харин ихэнх Грам эерэг бичил биетэн, бусад Грам сөрөг *Proteus* зэрэг бактерийг дарангуйлах үүднээс новобиоцин зэрэг антибиотикийг сонгомол тэжээлт орчинд тус тус нэмж болно. Бичил биетний эсрэг эмд тэсвэржсэн салмонелийн омгийг илүү сайн ялган өсгөвөрлөхийн тулд тохирох антибиотикийг нэмж болно.

1.1.3. Цутгамал сонгомол тэжээлт орчин

Эдгээр нь хатуу, сонгомол агар бөгөөд сальмонелийг янз бүрийн түвшинд ялгаварлан өсгөвөрлөх боломж олгоно. Эдгээр орчин нь салмонелээс бусад бактерийн ургалтыг саатуулж, салмонелийг ялган таних биохимийн үндсэн шинж чанарын, тухайлбал ихэвчлэн лактозын бус исэлдэлт болон хүхэрт устөрөгч (H_2S) үүсгэх чадварын талаар мэдээлэл өгдөг. Үр дүнг 37°C-д 24-48 цаг өсгөвөрлөсний дараа уншина. Эдгээр тэжээлт орчинд салмонел нь бусад бактерийн колониос (*Proteus, Pseudomonas, Citrobacter, Hafnia*-аас бусад) ялгагдах өвөрмөц хэв шинжит колони үүсгэнэ. Зарим үед лактоз исэлдүүлэх салмонелийг ялган авч болох ба хүхэрт устөрөгч янз бүрийн хэмжээнд үүснэ. Бактерийн хөдөлгөөн тодорхойлдог хагас хатуу тэжээлт орчныг сонгомол баяжуулагчаар ашиглан хэв шинжит бус ийм омгийг илүү сайн илрүүлэх боломжтой. Дезоксихолат-цитрат агар, бриллиант ногоон агар, висмут-сульфит агарыг хэрэглэж болох боловч эдгээрт хуурамч эерэг колони ургах нь элбэг. *S.* Abortusovis ийлдсэн хэвшил нь удаан ургадаг тул тарилт хийсэн аягыг 72 цаг хүртэл хугацаагаар өсгөвөрлөж, сонгомол бус цустай агар эсхүл сонгомол чанар багатай МакКонкей агар хэрэглэдэг. Салмонелийг сонгон ялгахад хэрэглэх олон янзын хромоген агар бий. Эдгээрээс олон орчин нь салмонелд сэжиглэм колониудыг ялангуяа баасны дээжээс ялгаварлахад хэрэг болох боловч тэдгээрийг хэрэглэх дээжийн төрөл, өсгөвөрлөх арга, зарим нөхцөл байдалд мэдрэгдэхдээ муу байж магадгүй гэж үзсэн ийлдсэн хэвшил, жишээ нь эзэн-дасалтай ийлдсэн хэвшил эсхүл зарим *arizonae* болон *diarizonae* ийлдсэн хэвшлийг ялгаварлаж чадах эсэхийг

баталгаажуулсан байх ёстой. Зарим хромоген тэжээлт орчин биохимийн хэвийн бус шинж чанартай салмонелийг илрүүлэхэд илүү үр дүн өгдөг.

1.1.4. Хүнс, тэжээл, баас, хүрээлэх орчноос салмонелийг ялгах шинжилгээний аргын жишээ

i) Хамгийн багадаа ×10 эзлэхүүнтэй, тухайн орчны температуртай болгосон буфержүүлсэн пептоны усанд 10–25 г дээж нэмнэ. (Жич: эзэн-дасалтай олон ийлдсэн хэвшил болон зарим *arizonae* ийлдсэн хэвшлийн тухайд дээжийг селенит цистеинт шөл зэрэг баяжуулалтын сонгомол тэжээлт орчинд шууд нэмэх нь илүү тохиромжтой ба боломжтой бол эдийн дээж шинжилнэ [шууд тарилт хийхийг оруулаад]; *S.* Gallinarum өсгөвөрлөх аргыг үзэх (Галинарум, Пуллорумын биохэвшил) Бүлэг 3.3.7 Шувууны хижиг, цагаан чацга өвчин).

ii) Урьдчилж бүлээн болгосон буфержүүлсэн пептоны усанд 34–38°C-д 16-20 цаг байлгана.

iii) 90 мл-ийн голчтой Петрийн аяганд цутгасан 15-20 мл ӨХРВ орчинд 0.1 мл өсгөвөрлөсөн буфержүүлсэн пептоны усаар 3 салангид дуслаар тарилт хийнэ.

iv) 10 мл Мюллер-Кауфманы тетратионатын шөлөнд 0.1 мл өсгөвөрлөсөн буфержүүлсэн пептоны усаар тарилт хийнэ.

v) ӨХРВ орчныг 40.5–42.5°C-д, тетратионатын шөлийг 34–38°C-д байлгана. Баас, гэдэс, элдэв янзын бичил биетэн агуулдаг хүрээлэх орчны дээжээс салмонелийг сайтар ялгахын тулд урьдчилан баяжуулалт болон сонгомол баяжуулалтын аль алиныг дээрх температурын дээд хязгаарт өсгөвөрлөхийг зөвлөдөг. Харин зарим хүнс, тэжээл, хүрээлэх орчны хуурай дээжийг өсгөвөрлөхөд дээрх температурын доод хязгаар тохиромжтой.

vi) Сонгомол баяжуулалтын 24 ба 48 цагийн дараа ӨХРВ орчны өсгөврийн булингартай хэсгийн захаас тарилтын гогцоогоор 1 мкл материал авч хромоген агартай нэг аяга эсхүл нэг аяга новобиоцинтэй BGA болон нэг аяга XLD агарын гадаргууд татаж тарилт хийнэ.

vii) Тетратионатын шөлөөс 10 мкл -ийг авч хромоген агартай нэг аяга эсхүл нэг аяга новобиоцинтэй BGA болон XLD агарын гадаргууд татаж тарилт хийнэ.

viii) Аягануудыг 34–38°C-д 21-27 цаг байлгана.

ix) Олон найрлагатай TSI, LDC зэрэг тэжээлт орчин, шээгтэй орчин эсхүл худалдаанд гарсан биохимийн цомог ашиглах болон олон валенттай ‘O’ (A-S) болон поли ‘H’ (фаз 1 болон фаз 2) эсрэг ийлдсээр тавиур шил дээр явуулах наалдуулах урвалаар салмонелд сэжиглэм (BGA улаавтар орчин дээр улаан/ягаан, XLD орчин дээр хар төвтэй улаан эсхүл заримдаа H_2S үл үүсгэгч омгууд байгаа бол тунгалаг улаан) тав хүртэлх колонийн биохимийн шинжийг шалгана. ‘O’ бүлгийн өвөрмөц эсрэг ийлдэс ашиглан ийлдсийн бүлгийг баталгаажуулна. ‘O’ бүлгийн өвөрмөц эсрэг ийлдэс ашиглан ийлдсийн бүлгийг баталгаажуулна. Биохимийн болон ийлдсийн шинжилгээг хослуулан салмонелийг баталгаажуулж болно. Салмонел *Citrobacter* эсхүл *Enterobacter* spp-тэй солбицох урвал өгдөг учраас дан ийлдсийн бүлгийг тогтоосноор хуурамч эерэг үр дүнг үгүйсгэж чадахгүй. Биохимийн олон төрлийн шинжилгээ, полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ) эсхүл шингэнийг лазераар ионжуулан масс спектрометрээр хэмжих (ШЛИМСХ) аргаар *Salmonella*-ийн зүйлүүдийг баталгаажуулж бас болно.

x) Олон валенттай H эсрэг ийлдэсд наалдалт өгөөгүй мөртөө салмонелд маш их сэжиглэм колонийг сонгомол бус тэжээлт орчинд сэлгэн өсгөвөрлөөд дараа нь дахин шинжилнэ. Хэрэв олон валенттай ‘O’ болон ‘H’ эсрэг ийлдэстэй маш хүчтэй наалдалт өгч байвал урьдчилсан баталгаа гаргахад хангалттай үр дүн болно. Биохимийн болон ийлдсийн шинжилгээгээр батлагдсан өсгөврийг лавлах лабораторид илгээж ийлдсэн хэвшлийг тодорхойлуулна.

1.2. Тоон шинжилгээний арга

Халдвартай эд дэх салмонелийн тоог тэжээлт орчинд шууд тарилт хийх аргаар гаргаж болох ба баас, тэжээл, орчны дээжид бактерийн хамгийн магадлал бүхий тоог (ХМТ) гаргах арга хэрэглэх нь зүйтэй. ХМТ гаргах хялбаршуулсан аргыг боловсруулж ISO, 2012-д

оруулсан байна (ISO/TS 6579-2: 2012).Үүнээс гадна тоон илэрхийлэл бүхий бодит цагийн ПГУ-ын аргыг боловсруулжээ (Zhang нар, 2020).

1.3. Сэжигтэй колонийг ялган тогтоох

Салмонелд сэжиглэм колонийг сонгомол болон сонгомол бус агарт сэлгэн өсгөвөрлөж *Proteus* spp зэрэг болзошгүй бохирдуулагч байгаа эсэхийг тогтооно. Хэрэв их хэмжээний цэвэр ургалт өгвөл сэжигтэй колонийг салмонелийн хэвшил тогтоох олон валенттай эсрэг ийлдэстэй тавиур шилний наалдуулах урвалаар шинжилнэ (Ellis нар, 1976). Зарим тохиолдолд сэжигтэй колони наалдалт өгөхгүй эсхүл өөрөө наалдалт үүсгэдэг учир биохимийн шинжийг тогтоох аргаар ялган дүйж баталгаажуулна. Эдгээр шинжилгээг пептоны устай сахар эсхүл худалдаанд гарсан цомог эсхүл олон найрлагатай тэжээлт орчин (гурван сахарт төмөртэй агар [TSI]) ашиглан хийнэ. Амьд вакцины антибиотикт тэсвэржилтийг тодорхойлоход хэрэглэдэг салмонелийн өсгөвөр нь олон эмд тэсвэржсэн эсхүл аухотрофизээ далдлах илүү магадлалтай *Pseudomonas* гэх мэт бусад бичил биетэнтэй холилдоогүйг харуулахад онцгой ач холбогдолтой. Мөн ШЛИМСХ арга нь салмонелийг ялган тогтооход зөвшөөрөгдсөн, түргэн арга юм

О фактор болон Н эсрэгтөрөгчийг, зарим нөхцөл байдалд Vi эсрэгтөрөгчийг (*S.* Typhi, *S.* Paratyphi C, *S.* Dublin-д агуулагддаг) өвөрмөц эсрэг ийлдэс ашиглан тавиур шилний эсхүл хуруу шилний наалдуулах урвалаар тодорхойлно. Хоёр фазтай бичил биетэнд Н фазыг хоёуланг тодорхойлох, үүний тулд тухайн мэдэгдэж байгаа фазын эсрэг ийлдэс агуулсан хагас хатуу орчноор зорчуулах үе шат бүхий урвуу фазын аргаар тодорхойлох шаардлагатай. Илрүүлэх тандалтыг хэд хэдэн О факторын эсрэг ийлдэс хэрэглэн явуулаад цааш хэвшил тогтоох дан валенттай ийлдэс хэрэглэн үргэлжлүүлж болно. Салмонелийн ийлдсэн хэвшил тогтоох илүү дэлгэрэнгүй мэдээллийг ISO/TR 6579-3:2014-д оруулав. Салмонелийн илүү нийтлэг ийлдсэн хэвшлийг олон лаборатори ялган тогтоож чаддаг бөгөөд ялган тогтоосон өсгөврийг лавлах лабораторийн хүчин чадлыг ашиглан баталгаажуулах эсхүл ийлдсэн хэвшилд өвөрмөц хэвшил тогтооход бэлэн байгаа фаг ашиглан фагийн хэвшил тогтоох эсхүл удамшлын шинж чанарыг тодорхойлох хэрэгтэй. Зарим ийлдсэн хэвшлийн, жишээ нь *S.* Paratyphi B var. Java (d-tartrate+)-ыг *S.* Paratyphi-ээс ялгаварлахад ашигладаг д-тартратын исэлдэлт бүхий хувилбарыг ялган тогтооход биохимийн эсхүл ПГУ-ын нэмэлт шинжилгээ хийх шаардлага гарна. Мөн түүнчлэн олон эмэнд тэсвэртэй бичил биетний омгууд, цефалоспорин, колистин, флюороквинолонд тэсвэртэй дамжмал генүүд шинээр бий болж (Antonelli нар, 2019; Jajere, 2019) илүү анхаарах шаардлагатай учир өсгөврийг бичил биетний эсрэг цөөнгүй бодист мэдрэг эсэхийг шалгадаг байх хэрэгтэй. Амьд вакцины омгийн шинж чанарыг бичил биетний эсрэг тэсвэржилтийн маркераар, эсхүл ауксотроф болон барзгар гадаргуутай болох зэрэг биохимийн шинж чанарын өөрчлөлтөөр, мөн түүнчлэн худалдаанд гарсан ПГУ-ын цомгоор эсхүл нийтэд илэрхий болсон ПГУ-ын шинжилгээний аргаар тус тус ялган тогтоох нь нийтлэг болжээ.

1.4. Дархлаа судлалын болон нуклеин хүчил таних арга

Салмонелийг илрүүлэх өөр олон арга хэрэглэж байгаагаас заримыг нь цомог болгон худалдаанд гарсан байна. Ердийн болон тоон илэрхийлэлт бодит цагийн ПГУ, үүний дотор голлох ийлдсэн хэвшлийг нэгэн зэрэг ялган таних арга (Heymans нар, 2018; Zhang нар, 2020), гогцоон-холбоост изотермийн олшруулалтын (LAMP) арга (Yang нар, 2018), энзим холбоост дархлааны урвал (Cetin нар, 2019) хэрэглэгдэж байна. Зарим дэвшил гарсан ч эдгээрээс олон аргыг баас, орчны дээжид бүрэн баталгаажуулаагүй байгаа бөгөөд (Malorny & Hoorfar, 2005; Heymans нар, 2018) Европын холбоонд орлуулж болох өөр аргыг ISO16140-2-ыг мөрдөн хууль журмын дагуу хэрэглэхээр эрх бүхий баталгаатай байгууллагаар дамжуулан баталгаажуулах боломжтой. Түргэн шинжилгээний эдгээр арга хүн амын хэрэгцээнд зориулсан хүнсний бүтээгдэхүүнийг шинжлэхэд илүү тохирч байгаа ба учир нь ийм төрлийн хүнсэнд баасны дээжид байдаг шиг ПГУ-ыг саатуулагч бодис болон өрсөн ургадаг, солбицох урвал өгдөг бичил биетний асуудал байдаггүй юм. ПГУ-аар илрүүлэх аргыг илүү оновчтой болгоход ДНХ ялгах арга нь тохирсон байх, шинжилгээний мэдрэх чанарыг зарим тохиолдолд бууруулдаг ПГУ саатуулалтыг илрүүлэх хяналтын дээжүүд хэрэгтэй болно (Jensen нар, 2013; Kanki нар, 2009). Өсгөвөрлөх аргатай харьцуулахад эдгээр аргын гол давуу тал нь хүнс, малын тэжээлийг түргэн шинжилж тэдгээрийг салмонелгүй болохыг тогтоодогт оршино. Түргэвчилсэн арга ердийн өсгөвөрлөх аргаас ихэвчлэн илүү үнэтэй байдаг боловч бохирдол багатай гэж үздэг тэжээл гэх мэт материалд анхан шатны илрүүлэх шинжилгээ хийхэд эдийн засгийн хувьд ашигтай байдаг.

Энзим холбоост эсрэгбиеийн арга эсхүл ПГУ-тай холбосон баяжуулалт/IMS арга нь ихэнх салмонелийн бохирдлыг 24 цагийн дотор ялган тогтооно (Wang нар, 2018). Дээж дэх салмонелийн тоо бага бол түүнийг шууд илрүүлэхэд түргэн шинжилгээ нь аль ч арга тохирохгүй нь харагдсан учир ихэнхдээ сонгомол эсхүл сонгомол бус баяжуулалтыг хэрэглэх шаардлагатай байдаг (Oliveira нар, 2003). Баяжуулалт хийх нь илрүүлэх ажлын үе шат, цагийг нэмнэ. (Oliveira нар, 2003). Салмонелийг түргэн илрүүлэх олон хувилбар, шийдэл байгаа ч аль нь ч бүх нөхцөл байдалд өсгөвөрлөх аргыг бүрэн орлож чадахгүй нь харагдсан байна. Нөгөө талаар салмонелийн өсгөврийн ийлдсэн хэвшил, дэд зүйл тогтоох молекул түвшний аргын хэрэглээ өвчний дэгдэлтийн судалгаа, эх үүсвэрийн хамаарлыг тогтооход илүү өргөн хэрэглэгдэх болов (Munck нар, 2020). Эдгээр аргыг хэрэглэх зарим цомгийг лавлах лабораториудынх шиг хүчин чадал (Diep нар, 2019) бүрдээгүй жижиг лабораторид ч ашиглах боломжтой ба нэг нь ДМАЭМБ-д бүртгэгджээ. Мултиплекс ПГУ эсхүл бүтэн геномын нуклеотидийн дараалал тогтооход суурилсан аргуудыг салмонелийн өвөрмөц ийлдсэн хэвшлийг (Maurischat нар, 2015a) ялган тогтооход эсхүл шувууны суурь эсхүл мал, амьтны сүрэгт халдварласан салмонелийн (Maurischat нар, 2015b; Tang нар, 2019) ийлдсэн хэвшлээс гарган авсан амьд вакцины омгийг ялгаварлахад ашиглана. Шинэ ISO 16140-6:2019 стандартад салмонелийн хэвшил, дэд хэвшлийг баталгаажуулах арга орсон бөгөөд энэ аргаар Европын холбооны энэ өвчинтэй тэмцэх албан ёсны хөтөлбөр дэх салмонелийн ийлдсэн хэвшлийг тогтоох аргыг орлох урьдчилсан нөхцөл болж байна. Хэрэглэж байгаа цомог нь энэ гарын авлагын 1.1.6 дугаар бүлэгт заасны дагуу бүрэн баталгаажсан байх нь чухал юм. Цомгийг ДМАЭМБ-ын оношилгооны цомгийн бүртгэлийн жагсаалтаас[2] сонгохыг эрхэмлэх хэрэгтэй.

2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ

2.1. Халдвар авсан мал, амьтан, суурь, сүргийг ийлдэс судлалын аргаар ялган тогтоох

Мал, амьтанд салмонелийн халдварыг оношлох ийлдэс судлалын шинжилгээний хэд хэдэн аргыг боловсруулжээ. Тахианы аж ахуйд будмал эсрэгтөрөгч ашигладаг бүхэл цусны шинжилгээ болон ийлдэсний наалдуулах урвал (SAT-ыг 50 гаруй жилийн хугацаанд *S.* Gallinarum (Галлинарум, Пуллорумын биохэвшил) (3.3.7 бүлэг үз)-аар халдварласан шувууны суурийг илрүүлэн ялган тогтооход амжилттай хэрэглэж иржээ. *S.* Enteritidis нь *S.* Gallinarum шиг Д бүлгийн О эсрэгтөрөгчтэй учир тэднийг нэг гарал үүсэлтэй гэж үздэг (Thomson нар, 2008) бөгөөд *S.* Enteritidis-ийн халдварыг бүхэл цусны болон холбогдох шинжилгээгээр оношилж болох ч эдгээр аргын мэдрэх чанар сул байдаг. Тахианд *S.* Enteritidis, *S.* Typhimurium халдварыг, мал, амьтанд бусад ийлдсэн хэвшлийг оношлох ЕЛИЗА (Feld нар, 2000) зэрэг бусад шинжилгээний аргыг боловсруулжээ. *S.* Dublin тээгч үхрийг ийлдэс судлалын аргаар ялган тогтооход ЕЛИЗА шинжилгээг үр дүнтэй хэрэглэж ирсэн ба бас нийлүүлсэн сүүний дээж шинжлэн саалийн сүрэг малд халдвар илрүүлэхэд хэрэглэж байна. Хэд хэдэн улсад ийлдсэн хэвшлүүдийн холимгоос бэлтгэсэн О эсрэгтөрөгч бүхий ЕЛИЗА (“mix-ELISA”) цомгоор ийлдэс эсхүл хөлдөөн гэсгээх замаар шүүрүүлсэн булчингийн эдийн шүүс шинжлэн салмонелийн халдварыг гахайд илрүүлэх ажилд хэрэглэж байна. Ийм төстэй шинжилгээг худалдааны зориулалтын, вакцинжуулаагүй өндөглөгчийн сууриас өндөгний шар авч *S.* Enteritidis and *S.* Typhimurium-ын эсрэгбие илрүүлэхэд хэрэглэж болно. Худалдаанд гарсан хэд хэдэн ЕЛИЗА цомог байдаг ч гүйцэтгэлийн үр дүн янз бүр байдаг (Van der Heijden, 2001). Тэдгээрийг хэрэглэх аргыг стандартчилах шаардлагатай ба үүнтэй холбоотойгоор хяналтын ийлдэсний бүрдлийг Дани[3], Голланд[4] улсаас худалдан авч болно.

2.2. Ийлдэс судлалын оношилгоонд нөлөөлдөг хүчин зүйл

1. Ийлдэс судлалын аргыг халдвартай бодгаль амьтныг илрүүлэхээс илүүтэй халдвартай шувууны суурь, мал, амьтны сүргийг илрүүлэн тогтооход ашиглах ба сүргийн түвшинд дахин давтан хийсэн шинжилгээний дүн архаг халдвартай амьтныг сонгон устгах үндэслэл болж өгнө. Ийлдэс судлалын шинжилгээгээр үндсэндээ салмонелийн цөөн хэдэн ийлдсэн хэвшил, ийлдсэн бүлгийг илрүүлдэг.
2. Ийлдэс судлалын шинжилгээгээр эерэг урвалтай зарим амьтан салмонелийн халдваргүй байдаг нь нэгэнт тодорхой болсон ба салмонелийн тархалт бага улс оронд шинжилгээний аргын өвөрмөц чанартай холбоотойгоор ихэнх эерэг урвал хуурамч байдаг байна. Өвчний эхэн үед салмонелийг эрчимтэй ялгаруулж байгаа

[2] https://www.woah.org/en/what-we-offer/veterinary-products/diagnostic-kits/the-register-of-diagnostic-kits/
[3] Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark (www.ssi.dk)
[4] GD, Deventer, the Netherlands (www.gddeventer.com)

амьтан ийлдэс судлалын шинжилгээгээр сөрөг байдгаас гадна халдвар авсан зарим амьтны ийлдэсний урвал ердөө өөрчлөгддөггүй ажээ. Ийлдэс судлалын шинжилгээгээр эерэг урвалтай амьтан ялангуяа халдварыг нууцаар тээгч амьтны цусаар эргэлдэх иммунглобулин өндөр төвшрүүлэгтэй байж салмонелийг ялгаруулдаггүй болдог байхад тухайн аж ахуйн бусад амьтан салмонелийг үе үе ялгаруулсаар байдаг байна. Амьтан халдвар аваад удаагүй байгаа, иммунглобулин дээд түвшиндөө хүртэл үүсэхээс өмнө салмонел ялгаруулж байгаа эсхүл халдварлах чанараар сул ийлдсэн хэвшлийн халдварын үед ийлдэс судлалын шинжилгээгээр сөрөг урвал үзүүлж болох юм. Халдвар аваад удаагүй байгаа амьтныг тухайн суурь/сүрэгт байх үед нь хийсэн ийлдэс судлалын оновчтой хяналт шинжилгээгээр халдвартай гэдгийг бүрэн магадлалтайгаар тогтоож болох боловч ийм ач холбогдол бүхий хяналт шинжилгээний хөтөлбөр хэрэгжүүлэхэд голдуу санхүүжилтийн асуудал тулгардаг.

3. Нялх төлийн дархлааны тогтолцоо хөгжиж гүйцээгүй байдаг учраас 2-3 долоо хоногийн бойжилттой болтол ийлдсэнд нь липополисахаридийн О эсрэгтөрөгчийн эсрэг хариу урвал үүсдэггүй. Гэвч тэд салмонелийн шилбүүрийн уургийн эсрэгтөрөгчид ийлдсийн хариу урвал үзүүлнэ. Тугалд 10-12 орчим долоо хоногийн бойжилттой болтол хариу урвал үзүүлэхгүй, хөхүүл торойд дархлааны хариу урвал үүсэхгүй эсхүл эхээс дамжсан дархлааны эсрэгбиеийн хариу урвал үзүүлж болно. Гахайд янз бүрийн анги (IgM, IgA, IgG)-ийн эсрэгбиеийн хариу урвал ялгаатай илэрдэг учраас түүнийг тодорхой хугацааны өмнө авсан халдвараас саяхан авсан халдварыг ялгаварлахад ашиглаж болох боловч сүргийн доторх бодгалиуд ихэнхдээ халдварын өөр өөр шатанд байдаг тул түүнийг сүргийн түвшинд хэрэглэх нь үндсэндээ ач холбогдолгүй байдаг. Ихэнх шинжилгээ халдварын дараах 1-3 долоо хоногт үүсэж 2-3 сар үргэлжлэх IgG-ийг тодорхойлоход суурилна.

   Тахианы дэгдээхэй салмонелийн эсрэгбиеийг идэвхгүй замаар буюу өндөгний шаранд агуулагдах эсрэгбиеийг дамжуулан авч болох ба энэ нь эх сүрэг нь халдвар авсан эсхүл вакцинжуулалтад хамрагдсаныг харуулна. Хөхтөн амьтан эхийнхээ эсрэгбиеийг уураг сүүгээр дамжуулан авна.

4. Дархлаажуулалтыг тэжээвэр амьтдын салмонелийн зарим халдвартай тэмцэхэд дэм болгон олон жил хэрэглэж ирсэн ба вакцины эсрэг хариу урвалыг байгалийн халдварын хариу урвалаас ялгаварлаж чадах ийлдэс судлалын оношилгооны арга хэрэглэнэ. Амаар олгодог олон төрлийн амьд вакцин ихэнх амьтдын ийлдсэнд эсрэгбиеийн хариу урвал төдийлөн өдөөдөггүй боловч шинжилгээний үр дүнг үнэлэхэд бэрхшээлтэй байх зарим тохиолдол гарч болох юм. Тахианы салмонелтэй тэмцэхэд тарьж хэрэглэдэг үхүүлсэн вакцин нь ашигласан хүчлүүрээс хамаарч эсрэгбиеийн маш удаан үргэлжлэх хариу урвал үүсгэнэ. Вакцинжуулалтын хариу урвалын эсрэгбиеийг өвөрмөцөөр ялган тогтоож байгалийн халдвар авсан болон вакцинжуулсан амьтныг үнэн зөв ялгаварлах (вакцинжуулсан амьтанд халдварыг илрүүлэх) шинжилгээний арга байхгүй бөгөөд харин *S*. Gallinarum (галлинарум, пуллорумын биохэвшил)-ын халдварын үед липополисахарид болон шилбүүрийн эсрэгбиед суурилсан ЕЛИЗА аргыг хамтруулан хэрэглэх нь *S*. Enteritidis-ийн эсрэг вакцинжуулсан шувууны суурьт хуурамч эерэг урвал гарах магадлалыг үгүйсгэхэд тустай байх болно.

5. Антибиотикийн эмчилгээ ийлдсийн хариу урвалд хэрхэн нөлөөлдөг нь тодорхойгүй хэвээрээ байгаа ба ийм эмчилгээний дараа салмонелийн таньц буурсныг зарим судлагчид тогтоосон ч зарим нь нөлөөгүй гэж үзжээ. Гэвч антибиотикийн эмчилгээ хийсэн нөхцөлд салмонелийн оношилгооны тухайд ийлдэс судлалын арга өсгөвөрлөх аргаас илүү ач холбогдолтой байж болно.

6. Салмонелийн 2600 гаруй ийлдсэн хэвшил байна. Эсрэгтөрөгч болон хэрэглэж байгаа шинжилгээний аргаас хамаарч янз бүрийн ийлдсэн хэвшлийн, жишээ нь *S.* Typhimurium, *S*. Abortusequi, *S*. Gallinarum, *S.* Enteritidis хооронд солбицох урвал тохиолдож болзошгүй. Зарим тохиолдолд салмонелээс өөр бичил биетэнд өртсөний улмаас солбицох урвал өгч болно.

7. Тахианы аж ахуйд салмонелийн эсрэг иммунглобулиныг өндөгний шард шалгаж болох ба өндөг шинжлэх нь тухайн суурьд хийх илрүүлэх шинжилгээ болж өгнө. Энэ аргыг Дани улсад худалдааны чиглэлийн өндөглөгч тахианы суурьт хийх хяналт шинжилгээнд хэрэглэж байна. Сүүнд салмонелийн эсрэгбие шинжлэх замаар сүүний аж ахуйд халдвар илрүүлэх тандалт хийж болно.

8. Ийлдсийн дээжийг шүүлтүүрийн цаасан зээрэнцэг хэрэглэж цуглуулах нь ийлдсийг

тунаан ялгах аргыг орлоно. Зээрэнцэгт шингээсэн ийлдсийг удаан хугацаагаар хадгалж болох ба лабораторид хүргэх тээврийн зардлыг хэмнэнэ. Ийм ийлдсийг шинжлэхэд шинэхэн ийлдэстэй харьцуулахад шинжилгээний мэдрэх чанар үл мэдэг буурна.

2.3. Бүхэл цусны шинжилгээ

Бүхэл цусны шинжилгээг шувууны хижиг, пуллороз өвчнийг аж ахуй дээр хурдан шинжлэхэд хэрэглэнэ. Бүхэл цусны шинжилгээний мэдрэх чанар нь бага, шинжилгээг туршлагагүй ажилтан хийвэл хуурамч эерэг, хуурамч сөрөг дүн гарч болзошгүй. Бүхэл цусны шинжилгээний талаар 3.3.7 бүлэгт дэлгэрэнгүй оруулав.

2.4. Тавиур шилний наалдуулах түргэн урвал

Ийлдсийг (0.02 мл) кристал ягаанаар будсан олон валенттай эсрэгтөрөгтэй (0.02 мл) холино. Тавиур шилийг 2 минут болгоомжтой зайлаад дараа нь үр дүнг уншина. Шинжилгээнд хэрэглэх бүрэлдэхүүн хэсгүүдийг 4°C-д хадгалж хэрэглэхийн өмнө тасалгааны хэмтэй болгоно.

Шинжлэх ийлдэс бохирдолгүй, задарсан цусгүй байх хэрэгтэй. Ямар нэг хугацаагаар хадгалж байсан ийлдсийг хурилдуурдсаны дараа хэрэглэнэ.

Хэрэв өвөрмөц бус хуурамч эерэг дүн үзүүлсэн гэж сэжиглэвэл эерэг/сэжигтэй ийлдсийг хуруу шилний наалдуулах урвал эсхүл ЕЛИЗА аргаар дахин шинжилнэ.

2.5. Ийлдэсний наалдуулах урвал (ИНУ)

ИНУ нь төдийлөн мэдрэмтгий арга биш бөгөөд нас гүйцэж хөгширсөн олон амьтны ийлдсэнд салмонелээс бусад гэдэсний бактериас шалтгаалан наалдуулагч хүчин зүйл буурсан байх магадлалтай. Сүргийн түвшний илрүүлэх анхны шинжилгээ биш л бол ганц нэг дээжийн оношилгооны ач холбогдол бага юм. Халдвар идэвхтэй байгааг тогтоон баталгаажуулахад тавигдах наад захын шаардлага нь дээжийг хосоор шинжлэх юм. Энэ урвал харьцангуй хялбар буюу эсрэгтөрөгч бэлтгэхэд хялбар, үнэтэй багаж төхөөрөмж шаардлагагүй. ИНУ-ын эсрэгтөрөгчийн бэлдмэлийн цэвэршилт, дархлаа төрүүлэх байдалд чанарын шалгалт хийх стандарт ийлдэс, баталгаажуулалтын бусад аргыг хэрэглэхийг зөвлөдөг. Учир нь ИНУ-ын эсрэгтөрөгч нь түүнийг ашиглан гаргаж авсан ийлдсээс хамааралгүй байдаг. Энэ аргыг салмонелийн янз бүрийн ийлдсэн хэвшлүүд, тухайлбал цацагт хяруулд *S.* Typhimurium, *S.* Enteritidis, *S.* Dublin, *S. Diarizonae*-ийн, болон *S.* Abortusequi-н халдварт өртсөн эсэхийг ялган тогтооход хэрэглэсээр байна.

2.5.1. О эсрэгтөрөгч бэлтгэх

i) Тохирох нөөц өсгөврөөс салмонелийн өсгөврийг сонгон суулгац авч цустай агарын суурь (ВАВ) эсхүл өөр тохирох тэжээлт орчин цутгасан аяганд дан колони ургуулахаар тарилт хийж 37°C (±2°C)-д хонуут байлгана.

ii) Гөлгөр колонийг сонгож түүнд О эсрэгтөрөгч байгаа эсэхийг тавиур шилний наалдуулах урвалаар шалгана.

iii) Сонгосон колониос бактерийн ариун гогцоогоор авч универсал цодонтой мах, пептоны ташуу агарт тарилт хийнэ.

iv) Өсгөврийг 34–38°C-д 8-12 цаг байлгана.

v) Биохамгаллын шүүгээнд өсгөврийг Пастерийн соруур ашиглан ойролцоогоор 2 мл абсолют спиртээр угаагаад ариун универсал цодонд шилжүүлэн хийнэ.

vi) Спиртээр бактерийг үхүүлэх, шилбүүрийг салгахын тулд эсрэгтөрөгчийг тасалгааны хэмд 4-6 цаг орхино.

vii) Универсал цодонг ширээний хурилдууpаар 1000 *g*-д 5 минут эргүүлнэ. Шингэнийг шавхаад эсрэгтөрөгчийг Брауны No. 2 хуруу шилний бүүдэгшилтэй тэнцүү болтол (ойролцоогоор 10^8 колони үүсгэх нэгж/мл) эсхүл тохирох бусад стандарт ашиглан фенолын давсны уусмал ханатал нэмж тааруулна.

viii) Эсрэгтөрөгч тухайн шаардлагатай факторыг агуулж байгааг тогтоохын тулд найрлага нь тодорхой ийлдсээр стандарт таньцлалт хийнэ.

ix) Хэрэглэх хүртлээ хөргөгчийн 4°C-д хадгална.

2.5.2. Шилбүүрийн эсрэгтөрөгч бэлтгэх

i) Салмонелийн тохирох нөөц өсгөврөөс авч цустай агарын суурь (BAB) эсхүл өөр тохирох тэжээлт орчин цутгасан аяганд тарилт хийгээд 34–38°C-д хонуут байлгана.

ii) Шаардагдах шилбүүрийн эсрэгтөрөгчийг дээд зэргээр экспреслэх үүднээс Креигийн хуруу шил эсхүл өөр тохирох саванд бэлтгэсэн хагас хатуу агарт (0.3% орчим) зорчуулалт хийнэ. Хэрэв ийлдсэн хэвшил хоёр фазтай бол дарангуйлах шаардлагатай фазд нь тохирох H эсрэг ийлдсийг агарт нэмж өгнө.

iii) Салмонел ямар фаздаа байгааг шалгахад тавиур шилний наалдуулах урвал ашиглана. Хэрэв зөв фазад байгаа бол 20 мл мах, пептоны шөлөнд нэг гогцоо өсгөвөр тариад хамгийн сайн өсгөвөрлөгдөх 34–38°C-д хонуут байлгана. Хэрэв бактери буруу фазд байгаа бол хагас хатуу агар дээр дахин зорчуулна.

iv) Эсрэгтөрөгчийн цийдмэгт (бээлий өмсөж биохамгааллын эсхүл татах шүүгээнд ажиллана) соруураар 250 мкл 40% формальдгид хийгээд хонуут орхино.

v) Хэвшил тогтоох тохирох ийлдэс ашиглан ИНУ-аар эсрэгтөрөгчийг шалгана.

2.5.3. Шинжлэх аргачлал

i) 0.25 мл эсрэгтөрөгчийг физиологийн уусмалд 1/10-аар урьдчилан шингэлсэн 0.25 мл ийлдэс дээр нэмээд ийлдсийн 1/20 шингэлэлтийг илрүүлэх шинжилгээнд хэрэглэвэл хялбар байдаг.

ii) O эсрэгтөрөгч шинжлэх тохиолдолд дээжийг 50°C хэмтэй дулаан тогтоогуурт 24 цаг, шилбүүрийн эсрэгтөрөгчийг шинжлэх бол 4 цаг байлгана. Шингэлэлт болон өсгөвөрлөх хугацаа хэрэглэж байгаа эсрэг ийлдэснээс хамааран янз бүр байна.

iii) Эерэг урвал өгсөн ийлдсийг 1/20-оос 1/320 хүртэл шингэлээд тохирох эсрэгтөрөгчөөр дахин шинжилнэ.

2.6. *Salmonella* Enteritidis тодорхойлох энзим холбоост дархлааны урвал

S. Enteritidis-д өвөрмөц IgG (IgY) тодорхойлох хоёр гол үндсэн систем байгаагийн нэг нь шууд бус ЕЛИЗА, нөгөөх нь сэндвич хэлбэрийн өрсөлдөөнт ЕЛИЗА юм (Barrow& Methner, 2013).

Шууд бус ЕЛИЗА-д бичил хавтангийн үүрний ханыг бүрсэн илрүүлэгч эсрэгтөрөгчийг ашиглана. Өвөрмөц бус холбогдолтыг багасгах саатуулагч урвалж хэрэглэсний дараа шинжлэх дээжийг хавтангийн үүрэнд хийнэ. Дээж дэх өвөрмөцөөр холбогдсон эсрэгбиеийг эсрэгбие/энзимийн коньюгат илрүүлнэ. Төрөл бүрийн эсрэгтөрөгч, түүний дотор липополисахарид, шилбүүр, SEF14 сормуус, гадна мембраны уураг, бүтэн эсийн цэвэршүүлээгүй эсрэгтөрөгчийн бэлдмэлийг ашиглана.

Сэндвич хэлбэрийн өрсөлдөөнт ЕЛИЗА урвалын бичил хавтангийн үүрний ханыг эсрэгтөрөгчөөр бүрэхэд тусгай урвалжууд буюу ижил гарлын эсрэгбие (ИГЭБ) эсхүл олон гарлын эсрэгбиеийг ашиглана. Дараа нь цэвэр болон цэвэршүүлээгүй эсрэгтөрөгчийн бэлдмэл ашиглана. Хавтангийн үүрэнд шинжлэх дээжийг хийсний дараа коньюгатласан эсрэгбие нэмэх ба хэрэв дээжид өвөрмөц эсрэгбие агуулагдаж байгаа бол хавтангийн үүрийг бүрхсэн эсрэгтөрөгчтэй холбогдохгүй. Шинжлэх дээж, коньюгат хоёулыг нэгэн зэрэг хэрэглэх замаар шинжилгээний хугацааг богиносгож болно. ИГЭБ-ийг *S.* Enteritidis -ийн ЛПС, шилбүүр, SEF14-ээс гарган авсан байна.

Дээрх хоёр системийн алинд ч давуу болон сул тал бий. Шууд бус ЕЛИЗА шинжилгээ нь хийхэд хялбар, тахиа, цацагт хяруул, нугас, хөхтөн эзэн амьтдын салмонелийн ийлдсэн хэвшилд тохирох урвалж олдоцтой. Өрсөлдөөнт ЕЛИЗА урвалыг хөхтөн бүх амьтанд хэрэглэж болох ба ерөнхийдөө өвөрмөц чанар өндөр. Гэвч салмонелийн ихэнх ийлдсэн хэвшилд зориулан худалдаанд гаргасан урвалж байхгүй байна. Мөн дархлааны урвалын холбогдолтын зарим асуудал гардаг учраас мэдрэх чанарын хувьд шууд бус шинжилгээний аргад хүрдэггүй. Хээрийн шинжилгээнд аль ч арга нь хуурамч эерэг дүн үзүүлдэг ба зарим тохиолдолд шууд бус, ЛПС-ийн ЕЛИЗА-г хэрэглэн илрүүлэх шинжилгээ хийгээд үр дүнг

шилбүүрийн ЕЛИЗА шинжилгээгээр баталгаажуулж болох юм. Шинжилгээний энэ аргын хослолыг *S.* Enteritidis-ийн байгалийн халдварыг шилбүүрийн эсрэгтөрөгчгүй *S.* Gallinarum 9R вакцины үүсгэсэн хариу урвалаас ялгаварлахад хэрэглэж байна.

Шинжилгээний энэ хоёр аргаар ийлдэс, өндөгний шар, хатсан цусыг уусган сэргээгээд шүүлтүүрийн цаасан зээрэнцгээр шүүсэн шүүдэс шинжилж болно. Микс-ЕЛИЗА (эсхүл махны шүүсний ЕЛИЗА)-г Дани болон бусад улсад гахайд салмонелийн халдварыг илрүүлэхэд хэрэглэж байна (Van der Heijden, 2001). Энэ ЕЛИЗА нь *S.* Typhimurium, *S.* Choleraesuis-ын 'O' ЛПС-ын 1, 4, 5, 6, 7, 12 дугаар эсрэгтөрөгчийг агуулдаг учраас Европын ихэнх улсад гахайд илэрдэг салмонелийн ийлдсэн бүлгийн 95% хүртэл хувийг ийлдсийн шинжилгээгээр илрүүлэх боломжийг бүрдүүлжээ. Нөхөн үржүүлэх, тоо толгойг өсгөн олшруулах амьтны сүрэгт салмонел илрүүлэх тандалтад ийлдсийг ашигладаг бол мал төхөөрөх газарт гахайн 10 г хөлдөөсөн булчин махыг гэсгээхэд шүүрэх эдийн шингэнийг (махны шүүс) шинжилдэг. Энэ аргыг ихэнх улсад хэрэглэдэг ба харин дотор эрхтний гол судаснуудаас авсан цусанд шинжилгээ хийхэд мэдрэмтгий болон өвөрмөц чанар илүү болдог ажээ.

Өөр өөр ийлдсэн бүлгийн салмонелийн ийлдсэн хэвшлийн халдварыг хооронд нь зарим ЕЛИЗА аргаар ялгаварлаж болдог байна. Ийлдсэн бүлэг Б ба Д болон бусад халдварлах чанар өндөр ийлдсэн хэвшлийн хооронд солбицох урвал тохиолдоно. Гэвч гомолог ийлдсэн хэвшлийг ЕЛИЗА урвалд ашиглахад ЛПС-ийн эсрэг хариу урвал ихэвчлэн илүү байна. Тогтоосон босго утгаас дээш гэрэл шингээлт бүхий ийлдсийг *S.* Enteritidis-ийн халдвартай сүргээс гаралтай байна гэж үзэж болох гэрэл шингээлтийн тэрхүү "босго утга"-ыг хүлээн авч үл болохоор хуурамч-эерэг дүн гаргалгүйгээр сонгох оновчтой аргыг өдий хүртэл шийдээгүй, олон улсад болон Европын холбоонд харилцан тохиролцоогүй байгаа ба *S.* Enteritidis болон *S.* Typhimurium-ын эсрэг ялангуяа өндөглөгч тахиа, махны чиглэлийн шувууны үржлийн суурьт вакцинжуулалтыг эрчимтэй хийж байгаа учраас ЕЛИЗА аргыг нийтлэг бус хэрэглэж байна.

ЕЛИЗА аргыг хялбархан автоматжуулж болох тул түүнийг өргөн хүрээний шинжилгээний хөтөлбөрт ашиглана. Гол асуудал нь үнэтэй багаж төхөөрөмж шаардагдах ба урвалжууд нь бас өндөр үнэтэй. *S.* Enteritidis, *S.* Typhimurium-д зориулсан хэд хэдэн ЕЛИЗА цомог, салмонелийн B/C-бүлэгт зориулсан микс-ЕЛИЗА худалдаанд гарсан байна. *S*. Abortusovis-д зориулсан ЕЛИЗА цомог[5] саяхан ДМАЭМБ-ын оношилгооны цомгийн бүртгэлд нэмэгдсэн ба үүнтэй адилхан *S*. Abortusequi-д зориулсан баталгаажсан цомог хэрэгтэй байна.

Тэдгээрийг тандалтын зорилгоор туршин хэрэглэхийн өмнө олон улсын хэмжээний ур чадварын нэг сорьцыг олон лабораторид шинжлэх замаар баталгаажуулах нь хамгийн оновчтой юм.

ДМАЭМБ-ын Вейбриж [6] дэх лавлах лаборатори АРНА-д ЕЛИЗА-г боловсруулж баталгаажуулсан жишээ бий.

Шаардлагыг дор оруулав.

2.6.1. Багаж төхөөрөмж

PVC хуванцар хавтан: тохирох соруур, хэмжлийн цилиндр, бичил хавтан угаагч, ЕЛИЗА хавтан уншигч, 405–410 нм-ийн болон лавлагааны 630 нм гэрлийн шүүлтүүр.

2.6.2. Эсрэгтөрөгч

i) Фенолоор хандалсан *S.* Enteritidis ЛПС худалдаанд бий. Үүнийг 1мл ионгүйжүүлсэн усанд уусган сэргээгээд ФБУ-д pH 7.2, 2.5 мг/мл төвшрүүлэгтэйгээр 100-мкл хэмжээгээр хэсэгчлэн хуваагаад –20°C-д хадгална. Хэрэглэхдээ эсрэгтөрөгчийг тохирох төвшрүүлэг бүхий бүрхэгч буферт гэсгээнэ.

ii) ЛПС эсрэгтөрөгчийг Вестфэл, Людериц нарын аргаар (1954 бэлтгэж түүний нүүрс усны агууламжаар Герхардын (1981) аргаар стандартчилж болох ба төвшрүүлгийг 1000 мкг/мл-д тохируулна.

[5] https://www.woah.org/en/what-we-offer/veterinary-products/diagnostic-kits/the-register-of-diagnostic-kits/

[6] https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3

2.6.3. Ийлдэс, коньюгат шингэлэгч

ФБУ (100 мл)-д үхрийн ийлдэсний альбумин (BSA) (2 г), твин 20 (0.05 мл) нэмнэ. BSA-г 1 г хуурай сүүгээр орлуулж болох хувилбар бий. 4°C-д хадгалж байгаад долоо хоног тутамд шинэ уусмал бэлтгэнэ.

i) Бүрэх буфер

(1 литр) натрийн карбонат (1.59 г), натрийн бикарбонат (2.93 g) нэмээд pH 9.6-д тохируулна. 4°C-д хадгална.

ii) Субстратын буфер:

Ионгүйжүүлсэн усанд диэтаноламины 10% (э/э) уусмал бэлтгэнэ. Бэлтгэсэн диэтаноламиныг хавтангийн үүрт нэмэхээс өмнө урьдчилан 37°C хүртэл халаагаад 1M давсны хүчлээр pH 9.8-д тохируулна. 4°C-д хадгалж 2 долоо хоног тутамд шинэчилнэ.

iii) Энзим коньюгат

Тахиа-эсрэг ямааны иммунглобулиныг эсхүл бусад зүйлийн амьтны тахиа-эсрэг глобулиныг шүлтлэг фосфотазатай коньюгатлана. Тохирох шингэлэгчээр шингэлж 4°C-д хадгалах ба долоо хоног тутамд шинэчилнэ.

iv) Энзим субстрат

Хоёр натрит *p*-нитрофенил фосфатын нэг шахмалыг (5 мг) субстратын буферт (5 мл) уусгаж (хавтангийн үүрт хуваарилан хийхээс 30-аас доошгүй минутын өмнө шахмалыг уусган бэлтгэнэ) харанхуй газар хадгална.

2.7. Стандарт

i) Тусгайлан заасан эмгэг төрүүлэгчгүй орчинд үржүүлсэн 1 долоо хоногийн настай дөрвөн тахианы булчинд 10^6 *S*. Enteritidis агуулсан бэлдцийг тарьж халдвар хийх замаар эерэг хяналтын эсрэг ийлдсийг бэлтгэнэ. Ийлдсийг 3-4 долоо хоногийн дараа эсрэгбиеийн таньц хамгийн их болсон үед авч бэлтгэнэ.

ii) Сөрөг хяналтын А ийлдсийг эмгэг төрүүлэгчгүй тусгай орчинд үржүүлсэн 1 долоо хоногийн настай дөрвөн шувуунаас бэлтгэнэ.

iii) Сөрөг хяналтын Б ийлдсийг салмонелийн халдваргүй нь тогтоогдсон, 1 долоо хоногийн настай, үржлийн 58 шувуунаас бэлтгэнэ. Ийлдсийг нийлүүлж –20°C -д 100 мкл эзлэхүүнээр хуваан хадгална.

В. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

1. Оршил

1.1. Үндэслэл ба бүтээгдэхүүн хэрэглэх зориулалт

Төрөл бүрийн зүйлийн шувуунд янз бүрийн ийлдсэн хэвшлээр үүсдэг салмонеллезын эсрэг идэвхгүйжүүлсэн олон вакцин, үүний дотор тэжээвэр шувуунд зориулсан *S.* Enteritidis, *S.* Typhimurium-ын хам вакцин, сүүлийн үед *S*. Infantis-ийг оруулсан вакцин хэрэглэж байна. Идэвхгүйжүүлэлтийг ихэвчлэн халаах аргаар эсхүл формалин болон хөнгөн цагааны усан исэл, эрдэс тос зэрэг хүчлүүр ашиглан хийж байна. Хэд хэдэн улсад шувууны хижиг өвчний эсрэг 9R зэрэг хагас-барзгар омог, *S.* Dublin халдварын эсрэг HWS51 омог агуулсан амьд вакцин хэрэглэсээр байна (Mastroeni нар, 2001). Европт тэжээвэр амьтдыг салмонеллийн халдвараас сэргийлэх, ялангуяа тахиаг *S.* Enteritidis, *S.*Typhimurium халдвараас, гахайг *S*. Typhimurium халдвараас хамгаалах ауксотроф болон тохиолдлын мутант омог бүхий бусад сулруулсан вакцин хэрэглэж байна. Тодорхой генийг бүрэн идэвхгүйжүүлдэг молекул биологийн аргаар зориуд сулруулсан мутант вакциныг тахиа болон бусад зүйлийн шувуунд зориулж зохион бүтээсэн ба эдгээр вакцин нь aroA мутант, аденилат циклаза (cya), цагаригт аденозин монофосфат рецептор уургийг (crp) кодлогч генийн мутац бүхий омог агуулна (Redweik нар, 2020). Амьд вакциныг сулруулах нь салмонел гэдсэнд репликацд орох, мал, амьтан, хүрээлэх орчинд орогнох явдлыг хязгаарлахад чухал бөгөөд дархлаа төрүүлэх чанарт үл нөлөөлөх мөртөө ийнхүү сулруулалт хийх нь вакцин хэрэглэсний улмаас үзүүлэх хариу урвалд нөлөө үзүүлдэггүй байна (Redweik нар, 2020). Мал эмнэлгийн вакцин

үйлдвэрлэх зарчмын талаарх 1.1.8 дугаар бүлэгт мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх зааварчилгааг оруулав. Энэ хэсэгт болон 1.1.8 дугаар бүлэгт оруулсан зааварчилгаа нь ерөнхий агуулгатай учир тухайн улсын болон бүс нутгийн шаардлагыг нэмж оруулж болно.

Ихэнх вакциныг худалдан борлуулах бүтээгдэхүүн үйлдвэрлэлийн нарийн үйл ажиллагаагаар тухайн улсын мал эмнэлгийн эмийн бүтээгдэхүүний бүртгэл зөвшөөрлийн эрх бүхий байгууллагын хяналт дор үйлдвэрлэнэ. Лабораториуд болон вакцин үйлдвэрлэгчид тодорхой сургийн яаралтай вакцинжуулалтад зориулсан цөөн тооны вакцин эсхүл автовакцин үйлдвэрлэдэг бөгөөд харин үйлдвэрлэл явуулах бүрдээ тусгай зөвшөөрөл авсан байх шаардлагатай.

2. Уламжлалт вакцин үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны тодорхойлолт, тавигдах шаардлага

2.1. Эх омгийн шинж чанар

2.1.1. Биологийн шинж чанар

Үхүүлсэн болон амьд вакцинд агуулагдах бактерийн омог нь тухайн үед эргэлдэж байгаа хээрийн омогтой аль болохоор ойр хамааралтай байх шаардлагатай. Тийм омгийг өвчний эмнэл зүйн тод илрэлтэй, хүнд явцтай тохиолдлоос маш хянамгай сонгоод хоруу чанар болон эсрэгтөрөгчийн байдлыг үнэлнэ. Вакцинд хэрэглэх омгийг эцэслэн сонгохын өмнө боломжтой гэж үзсэн хэд хэдэн омгийг ийнхүү харьцуулан үнэлэх нь зүйтэй. Вакцинд хэрэглэхээр сонгосон омгийг түүний түүхэн бүртгэл, гадаад болон генетикийн тогтвортой маркераар тогтоосон шинж чанараар ялган дүйж шалгаруулна. Амьд вакцины омгийг хээрийн омгоос ялган харуулж чадах тогтвортой шинж чанараар нь шалгаруулна. Рифампицин гэх мэт антибиотикт тэсвэртэй эсхүл ауксотрофи зэр маркерийг ашиглана. Хоруу чанар байнга тогтвортой сул байх ёстой ба энэ нь генийн хоёр тусдаа тодорхой мутацаар нөхцөлдсөн байх нь чухал. Амьд вакцины омгийн тогтвортой чанарыг мэдрэх чанар өндөр молекулын фингерпринтингийн аргаар, боломжтой бол геномын нуклеотидийн дараалал тогтоох аргаар байнга шалган баталгаажуулж болно.

2.1.2. Чанарын шалгуур үзүүлэлт (ариун чанар, цэвэршилт, гаднын биетгүй байдал)

i) Ариун чанар, цэвэршилт

Дараах аргаар вакцины омгийг шалгана:

а. Тавиур шил дээр бактерийн цийдмэгээс бэлтгэсэн түрхцийн будагдах байдлыг шалгана

б. Сонгомол бус агар дээр өсгөврийг нэгэн жигд байдлыг шалгана

в. Биохимийн шинж чанарын шинжилгээгээр тогтоосон бодис солилцооны хэрэгцээ шаардлагыг шалгана

г. Хэрэглэдэг бол молекул маркер, ийлдсэн болон фагийн хэвшлийг тодорхойлно.

д. Өвөрмөц эсрэг ийлдсээр наалдалтыг шалгана.

е. Вакцины өсгөвөр, аливаа хүчлүүр, хадгалааслагч, бусад материал нь хэрэглэж байгаа вакцины тухайн төвшрүүлэгт бичил амь судлалын үүднээс ариун, хоргүй байх ёстой.

ii) Аюулгүй чанар

LD_{50} (50% үхүүлэх тун) эсхүл ID_{50} (50% халдварлуулах тун)-ийг хулганад тогтоож болох ба эсхүл боломжтой бол гаж нөлөөний сулавтар урвалын шинж тэмдгийг вакцин хэрэглэх зааллтай зүйлийн амьтанд тодорхойлно. Амьд вакцины ердийн тунг арав дахин, үхүүлсэн вакцины тунг хоёр дахин ихэсгээд вакцин хэрэглэх зааллтай, тохирох насны амьтанд зөвлөсөн замаар олгоно. Амьтанд ажиглалт үзлэг хийж гаж урвал илэрсэн эсэхийг шалгана. Амьд вакцины тухайд тогтвортой чанар, эргэж хоруу чанартай болоогүй болохыг мэдрэмтгий амьтанд хэд хэдэн удаагийн зорчуулалт хийсний дараа тогтооно. Давтан вакцинжуулалтыг авч үзэх шаардлага бий. Амьд вакцины хувьд омог нь

вакцинжуулсан амьтанд болон мал аж ахуй эрхэлж байгаа орчинд удаан хугацаагаар орогнодоггүй байх эсхүл хүн амын хэрэгцээний сүү, өндгөнд дамждаггүй, вакцин хэрэглэсэн этгээдэд аюул учруулахгүй гэдгийг нотлон харуулсан байх хэрэгтэй. Амьд вакциныг хэрэв өндгийг нь дулааны боловсруулалтад оруулдаггүй бол худалдааны зориулалтын өндөглөгчийн суурьт шувуу өндөглөх хугацаанд хэрэглэж болохгүй.

iii) Үр нөлөө

Вакцины үр нөлөөг лабораторийн болон үйлдвэрлэлийн туршилтаар тогтооно. Вакцин хэрэглэх заалттай, тохирох насны амьтанд зөвлөсөн тунгаар вакциныг олгож дараа нь зориудын халдвар хийх аргаар лабораторийн туршилтыг хийнэ. Үр нөлөөний шалгалтын дүнг тухайн цувралын идэвхийн суурь шалгалт болгон ашиглаж болно. Үйлдвэрлэлийн туршилт явуулж үр нөлөөг тогтоох нь илүү хэцүү бөгөөд учир нь зориудын халдвар хийх аргыг стандартчилах, шаардлага хангасан хяналтууд бэлтгэхэд олон бэрхшээл тулгарна.

iv) Хүрээлэн буй орчинд нөлөөлөх байдал

Амьд вакциныг хүрээлэн буй орчинд орогнох болон түүнд өртсөн мэрэгч амьтад, зэрлэг шувууд зэрэг хэрэглэх заалтгүй амьтанд халдварлах магадлалыг шалган тогтоосон байх ёстой. Амьд зарим вакцин амьтны баас, хог хаягдалд удаан хугацаагаар амьд орших нь тэдгээрийг амьтны байрнаас зайлуулахын цагт хүрээлэх орчинд үл зөвшөөрөгдөх хэмжээний аюул учруулж болзошгүй.

2.2. Үйлдвэрлэх арга

2.2.1. Арга ажиллагаа

Эх өсгөврийг салмонел өсгөвөрлөхөд тохиромжтой тэжээлт орчинд үржүүлж, хадгална. Хэрэглэж байгаа тэжээлт орчин нь ийлдэс, амьтны эд агуулах ёсгүй (тухайн улсын хууль журмаар зөвшөөрснөөс бусад тохиолдолд). Өсгөврийг Ру колботой хатуу тэжээлт орчинд эсхүл том оврын исгэлтийн төхөөрөмж ашиглаж байгаа бол шингэн тэжээлт орчинд хийнэ. Тэжээлт орчин дахь төмрийн агууламжийг хязгаарлах, орчныг багасгаж бага температурт өсгөвөрлөвөл вакцины омгоос үүсэх ЛПС эсрэгтөрөгч нэмэгдэж магадгүй.

Вакциныг зөвхөн зөвшөөрөл бүхий ажилтан орох эрхтэйг шаардлага хангасан цэвэр өрөөнд үйлдвэрлэнэ. Амьд бичил биетэнд боловсруулалт хийдэг болон бусад ажлын талбар хооронд солбицон бохирдохоос хамгаалахад анхаарал тавина. Ажиллагсад болон ажлын орчноос бохирдол үүсгэхгүй байх, вакцин бэлтгэх ажлыг оношилгооны өсгөвөр хийх ажлаас тусдаа хэсэгт гүйцэтгэнэ. Ажиллагсад өвчтэй байхдаа болон дархлаа суларсан эсхүл дархлаанд нөлөөлөх эм хэрэглэж байгаа үедээ вакцинтай холбоотой ажил хийж болохгүй. Ажиллагсдад үйлдвэрлэлийн хэсэг, мал, амьтны байранд өмсөх, шаардлага хангасан хамгаалалтын хувцас олгосон байна.

Эх өсгөврийн бэлдцийг анхдагч эх өсгөврөөс бэлтгэх ба хэдэн удаа зорчуулах нь уг арга ажиллагааны баталгаажуулалтаас хамаарна. Вакциныг мах пептоны шөл гэх мэт тохирох тэжээлт орчинд суулгалт хийж шинэхэн өсгөврийг 37°C-д 24 цаг агаартай эсхүл агааргүй орчинд зайлагч дээр өсгөвөрлөх замаар вакцин бэлтгэнэ. Тунаах эсхүл хурилдуурдах аргаар бичил биетнийг хурааж авна. Бичил биетнийг мах пептоны агар гэх мэт хатуу тэжээлт орчин дээр өсгөвөрлөсний дараа хураан авах өөр хувилбар бий. Амьд вакцины хувьд цийдмэгийг ФБУ-аар шингэлэн pH 7.0-д тохируулсны дараа хөлдөөн хатааж болно.

Үхүүлсэн вакциныг идэвхгүйжүүлэх хугацаа нь амьдрах чадвартай бактерийн тоог үл илрэх түвшин хүртэл бууруулах хугацаанаас наад зах нь 33% илүү байх ёстой. Вакцины хурааж авсан бүх эсийг хамарсан идэвхгүйжүүлэлт хийх ба идэвхгүй болсныг мэдрэмтгий өсгөвөр ашиглан баталгаажуулна.

Вакцины бэлдмэлд нэмдэг болон хамт хэрэглэдэг хадгалааслагч, хөлдөөн хатаалтад хэрэглэх дүүргэгч, олон тунгаар савлах вакцины тогтворжуулагч бусад бодис нь уг вакцины дархлаа төрүүлэх идэвхэд хортой нөлөө үзүүлдэггүй байх ёстой.

2.2.2. Субстрат, тэжээлт орчинд тавих шаардлага

Хэрэглэх аливаа химийн бодис, өсгөвөрлөх тэжээлт орчин ажлын шаардлага хангасан, түүнийг тохирох хяналт ашиглан шалгасан байх хэрэгтэй.

2.2.3. Явцын хяналт

Дараах хэсэгт анхаарал тавих шаардлагатай:

i) Цийдмэг, сонгомол бус тэжээлт орчны өсгөвөр, Грамаар будахад нэгэн жигд байгаа эсэхийг нүдээр харж шалгана.

ii) Өвөрмөц эсрэг ийлдэс ашиглан тавиур шилэн дээр наалдуулах урвал тавих.

iii) Бүүдэгшлийг хэмжих аргаар эсхүл аяганд колони тоолох бактерийн таньц тогтоох,

iv) Сонгомол бус орчинд тарилт хийн өсгөвөрлөх эсхүл бактерийн идэвхийг сэргээх хамгийн тохиромжтой орчин бүрдүүлдэг, өөрөөр хэлбэл идэвхгүйжүүлэгч бодисыг саармагжуулах орчин үүсгэдэг тэжээлт орчин хэрэглэх аргаар идэвхгүйжүүлэлтийн найдваршлыг шалгах,

v) Хөлдөөн хатаалтын өмнө болон хойно амьд вакцин дахь амьдрах чадвартай бактерийн таньц тогтоох

2.2.4. Эцсийн бүтээгдэхүүний багцын шалгалт

i) Ариун чанар ба цэвэршилт

Биологийн материалын цэвэршилт, бохирдолгүй болохыг тогтоох шалгалтыг Газрын амьтны өвчний оношилгоо, вакцины энэхүү гарын авлагын 1.1.9. бүлэгт оруулав.

ii) Аюулгүй чанар

Вакцинжуулсан амьтанд тухайн вакцин хортой нөлөөгүй болохыг тогтоохын тулд вакцин хэрэглэх заалттай амьтанд хэрхэн хэрэглэвэл аюулгүй байх шүтэлцээг өмнө нь харуулсан лабораторийн шинжилгээг ашиглаж болно. Үхүүлсэн вакцины тунг наад зах нь хоёр дахин, амьд вакцины тунг арав дахин ихэсгээд вакцин тарих заалттай, тохирох насны амьтанд зөвлөсөн замаар олгож вакцины багц тус бүрийг шалгана. Вакцинжуулсан амьтны зан авир, эрүүл мэндэд ямар нэг гаж нөлөө илэрч байгаа эсэхийг ажиглаж тарьсан хэсэг газарт илрэх эдийн хариу урвалд үнэлгээ хийнэ.

iii) Цувралын идэвх

Вакцинжуулах-зориудын халдвар хийх аргаар хулгана эсхүл бусад зүйлийн амьтанд, тэр дундаа хэрэв боломжтой бол вакцин хэрэглэх заалттай амьтанд болон хэрэглэх заалттай амьтны дархлааны хариу урвалаар вакцины идэвхийг шалгана. Тэжээвэр шувуунд хэрэглэх заалттай салмонелийн олон төрлийн вакцин байгаа ба тэдгээрийн идэвх, аюулгүй чанарыг шалгаж тогтооно.

2.3. Зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага

2.3.1. Аюулгүй чанарт тавих шаардлага

Үхүүлсэн зарим вакцины ЛПС-ын агууламжаас шалтгаалан хээлтэй амьтан хаа нэг тохиолдолд хээл хаяж болзошгүй бөгөөд мөн үүний адилаар амьд вакциныг хээлтэй амьтанд болгоомжтой хэрэглэнэ. Гэвч хээлтэй малыг вакцинжуулах замаар эхийн дархлааг гарах төлд нь дамжуулан тогтоох шаардлага нэлээд гардаг. Аюулгүй чанарын шалгалтад дотор хорын шалгалтыг нэмж өгвөл давхар тунгаар вакцин хэрэглэхэд аюулгүй байх түвшинтэй харьцуулж болох хэмжээг тогтооход ач холбогдолтой. Мөн түүнчлэн ялангуяа тосон хүчлүүртэй вакцин тарьсан хэсэгт хавдах тохиолдол гарна.

i) Вакцин хэрэглэх, үл хэрэглэх заалттай амьтанд аюулгүй байх чанар

Үхүүлсэн вакцин давхар-тунгийн шалгалтын аргаар үнэлэх ба амьд вакциныг арав дахин ихэсгэсэн тунгаар вакцин хэрэглэх заалттай амьтанд олгож үнэлнэ. Амьд вакциныг вакцинжуулсан амьтнаас гадагшлан ялгарах вакцины омогт өртөж болзошгүй вакцин үл хэрэглэхээр заасан амьтдад аюулгүй болохыг баталгаажуулсан байх хэрэгтэй.

ii) Сулруулсан/амьд вакцин эргэж хоруу чанартай болох

Вакцин хэрэглэх заалттай амьтанд хангалттай олон удаа хийсэн-болсон-явагдсан-явуулсан репликацийн хугацаанд амьд вакцины омог эргэж хоруу чанартай болоогүйг репликацийн шинжилгээгээр нотлон харуулна. Мутац, ялангуяа тодорхойгүй байгаа мутацын тогтвортой байгааг харуулах, үүний тулд молекул төвшний мэдрэмтгий фингерпринтинг эсхүл нуклеотидийн дараалал тогтоох аргаар тогтвортой эсэхийг тогтооно. Хэдийгээр эрсдэл бага ч вакцинд агуулагдах бичил биетнийг хэдийнээ устгасан улс оронд тэрхүү омгийн амьд вакциныг хэрэглэхгүй байх нь зохистой.

iii) Хүрээлэн буй орчинд нөлөөлөх байдал

Амьд вакцины омог хүрээлэн буй орчинд репликацид ордоггүй, түр зуур орогнохоос хэтэрдэггүй байх ёстой.

2.3.2. Үр нөлөөнд тавих шаардлага

i) МАА-н үйлдвэрлэлд

Дархлааны үргэлжлэх хугацаа хэрэглэх вакцин, вакцинжуулалтын дэглэм, вакцинжуулсан бодгаль амьтнаас хамааран нэлээд хэлбэлзэнэ. Салмонелийн эсрэг дархлаа үндсэндээ ийлдсэн хэвшилд эсхүл ийлдсэн бүлэгт өвөрмөц байна. Мэргэжилтнүүдийн зөвлөснөөр ихэнх үхүүлсэн вакцин 6 сарын хугацаатай дархлаа тогтоодог байхад зарим амьд вакциныг тарьж хэрэглэхэд нэг жил, түүнээс ч урт хугацаанд бат бөх дархлаа тогтоодог байна. Гэвч фермүүд мал, амьтнаар ямагт сэлбэгддэг эсхүл халдвар авсан мэрэгчид фермд үүрлэдгээс тэдгээр нь халдварын хүчтэй сэдээлт болж вакцины дархлааг унагах, худалдаанд гаргадаг амьд вакциныг хүрээлэх орчинд омгийн амьдрах чадварыг бууруулах зорилгоор сулруулсаар эцэст нь дархлааны хариу урвалыг багасгадаг зэргийг санаж байх хэрэгтэй. Түүнчлэн амаар олгох вакциныг зөв олгож чадах эсэх, тарьж хэрэглэдэг үхүүлсэн болон амьд вакциныг нягт нямбай тарихтай холбоотой асуудал гарна. Салмонелийн вакциныг хивэгч амьтан, гахай эмнэл зүйн шинжээр өвчилж хүндрэх болон тэжээвэр шувууны *S.* Gallinarum-ын халдварыг хязгаарлахад зориулан бэлтгэдэг. Хэрэв боломжтой бол вакцины үр нөлөөг зорилтот зүйлийн амьтанд үнэлэхэд идэвхийн шалгалтыг оруулах, вакцины багцыг шалгалтад тэнцүүлэхэд тохирсон шалгуур үзүүлэлтийг хэрэглэх хэрэгтэй. Хэдийгээр салмонелээс хамгаалах эзэн амьтны механизмын зөвхөн нэг хэсэг нь ийлдсэн дэх эсрэгбие гэдэг ч үхүүлсэн вакциныг О-Н эсрэг үүсгэсэн эсрэгбиеийн хариу урвалаар нь үнэлэх боломжтой. Вакцинжуулсан болон вакцинжуулаагүй амьтанд хийсэн зориудын халдварын үр дүнг тооны болон статистик аргаар гарган вакцины дархлаа тогтоох идэвхийг үнэлэх өөр хувилбар арга бий.

ii) Тэмцэх, устгах арга хэмжээнд

Салмонелийн эсрэг вакцин мал, амьтны сүрэг, тэжээвэр шувууны сууриас халдварыг ангижруулж чадахгүй боловч мэдрэмтгий байдлын улмаас халдварт өртдөг босгыг өндөрсгөх, бичил биетэн гадагшлуулахыг багасгах, халдвар тэжээвэр шувуунд хөндлөн дамжих, улмаар үржүүлгийн болон хэрэглээний өндгөнд бохирдол үүсгэхийг багасгана. Ийм учраас вакцинжуулалт нь мал, амьтныг шаардлагаар нядлах, аж ахуйд нэгэн зэрэг хүлээн авч нэгэн зэрэг чөлөөлөх арга, биохамгаалал, фермд эрүүл ахуйн дэглэм хэрэгжүүлэх зэрэг өвчнийг устгах, тэмцэх бусад арга хэмжээнд тус дэм болдог юм.

iii) Тогтвортой байдал

Үхүүлсэн вакцины тогтвортой байдлын мэдээлэл ховор байна. Хадгалалтын нөхцөл, бүтээгдэхүүнд үржиж болох бичил биетний бохирдол вакцины тогтвортой чанарт нөлөөлнө. Тиомерсал, фенол, кристал ягаан зэрэг бичил

биетний эсрэг үйлчлэлтэй химийн бодис, үхүүлсэн бактерийн вакцинд хадгалааслагчаар хэрэглэдэг. Тогтвортой чанарыг тогтоосон хугацааны зайтай давтах идэвхийн шалгалтаар үнэлнэ. Амьд вакцины тогтвортой чанарыг тогтоосон хугацааны завсарлагатайгаар доторх амьд бичил биетний тоог тоолох, исгэлтэт үйлдвэрлэлийн явцад генетик шинж чанарт өөрчлөлт орсон эсэхийг тогтоох генийн хэвшил тогтоох шинжилгээ хийж үнэлнэ. Тухайн орон нутагт эндемик болчхоогүй салмонелийн ийлдсэн хэвшил агуулж байгаа амьд вакциныг бусад ийлдсэн хэвшилтэй тэмцэх арга хэмжээнд хэрэглэхгүй байхыг зөвлөдөг.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

ANTONELLI P., BELLUCO S., MANCIN M., LOSASSO C. & RICCI A. (2019). Genes conferring resistance to critically important antimicrobials in *Salmonella enterica* isolated from animals and food: a systematic review of the literature, 2013– 2017. *Res. Vet. Sci.*, **126**, 59–67.

BARROW P.A. & METHNER U., EDS (2013). *Salmonella in Domestic Animals, Second Edition*. CAB International, Wallingford, Oxon, UK. ISBN: 9781845939021; doi:10.1079/9781845939021.0000

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) (2021). *Salmonella.* Available at: https://www.cdc.gov/salmonella/index.htмл (accessed on 6 January 2021).

CETIN E., TEMELLI S. & EYIGOR A. (2019). *Salmonella* prevalence and serovar distribution in healthy slaughter sheep and cattle determined by ISO 6579 and VIDAS UP Salmonella methods. *J. Food Sci. Technol.*, **56**, 5317–5325.

DIECKMANN R. & MALORNY B. (2011). Rapid screening of epidemiologically important *Salmonella enterica* subsp. enterica serovars by whole-cell matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Appl. Environ. Microbiol*., **77**, 4136–4146.

DIEP B., BARRETTO C., PORTMANN A-C., FOURNIER C., KARCZMAREK A., VOETS G., LI S., DENG X. & KLIJN A. (2019). *Salmonella* serotyping; comparison of the traditional method to a microarray-based method and an in silico platform using whole genome sequencing data. *Front. Microbiol.,* **10**, 2554.

ELLIS E.M., WILLIAMS J.E., MALLINSON E.T., SNOEYENBOS G.H. & MARTIN W.J. (1976). Culture Methods for the Detection of Animal Salmonellosis and Arizonosis. Iowa State University Press, Ames, USA.

FELD N.C., EKEROTH L., GRADEL K.O., KABELL S. & MADSEN M. (2000). Evaluation of a serological *Salmonella* Mix-ELISA for poultry used in a national surveillance programme. *Epidemiology & Infection*, **125**, 263–268.

FORD L., HAYWOOD P., KIRK M.D., LANCSAR E., WILLIAMSON D.A. & GLASS K. (2019). Cost of *Salmonella* Infections in Australia, 2015. *J. Food Protection*, **82**, 1607–1614.

GERHARDT P. (1981). Manual of Methods for General Microbiology. American Society for Microbiology, Washington DC, USA, 332–334.

GRIMONT P.A.D. & WEILL F.-X. (2007). Antigenic Formulae of the *Salmonella* Serovars, Ninth Edition, World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. Institut Pasteur, Paris, France.

HEYMANS R., VILA A., VAN HEERWAARDEN C.A., JANSEN C.C., CASTELIJN G.A., VAN DER VOORT M. & BIESTA-PETERS E.G. (2018). Rapid detection and differentiation of *Salmonella* species, *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Enteritidis by multiplex quantitative PCR. *PloS one*, **13**(10), p.e0206316.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (2012). ISO/TS 6579-2:2012. Microbiology of food and animal feed – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 2: Enumeration by a miniaturized most probable number technique, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (2014). ISO/TR 6579-3:2014. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 3: Guidelines for serotyping of *Salmonella* spp., International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (2017). ISO 6579-1:2017. Microbiology of food and animal feed – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1: Detection of *Salmonella* spp. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland. Amended 2020.

JAJERE S.M. (2019). A review of *Salmonella enterica* with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. *Vet. World*, **12**, 504.

JENSEN M.B.F., SCHJØRRING S., BJÖRKMAN J.T., TORPDAHL M., LITRUP E., NIELSEN E.M. & NISKANEN, T. (2017). External quality assessment for molecular typing of *Salmonella* 2013–2015: performance of the European national public health reference laboratories. *Euro. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, **36**, 1923–1932.

KANKI M., SAKATA J., TAGUCHI M., KUMEDA Y., ISHIBASHI M., KAWAI T., KAWATSU K., YAMASAKI W., INOUE K. & MIYAHARA M. (2009). Effect of sample preparation and bacterial concentration on *Salmonella enterica* detection in poultry meat using culture methods and PCR assaying of pre-enrichment broths. *Food Microbiol.*, **26**, 1–3.

MALORNY B. & HOORFAR J. (2005). Toward standardization of diagnostic PCR testing of fecal samples: lessons from the detection of salmonellae in pigs. *J. Clin. Microbiol.,* **43**, 3033–3037.

MASTROENI P., CHABALGOITY J.A., DUNSTAN S.J., MASKELL D.J. & DOUGAN G. (2001). *Salmonella:* Immune responses and vaccines. *Vet. J.,* **161**, 132–164.

MAURISCHAT S., BAUMANN B., MARTIN A. & MALORNY B. (2015a). Rapid detection and specific differentiation of *Salmonella enterica* subsp. e*nterica* Enteritidis, Typhimurium and its monophasic variant 4,[5],12:i:- by real-time multiplex PCR. *Int. J. Food Microbiol*., **193**, 8–14.

MAURISCHAT S., SZABO I., BAUMANN B. & MALORNY B. (2015b). Rapid real-time PCR methods to distinguish *Salmonella* Enteritidis wildtype field isolates from vaccine strains Salmovac SE/Gallivac SE and AviPro *Salmonell*a Vac E. *J. Microbiol. Methods,* **112**, 92–98.

MUNCK N., NJAGE P.M.K., LEEKITCHAROENPHON P., LITRUP E. & HALD T. (2020). Application of Whole-Genome Sequences and Machine Learning in Source Attribution of *Salmonella Typhimurium*. *Risk Analysis*, **40**, 1693–1705.

OLIVEIRA S.D., RODENBUSCH M.C. CE, ROCHA S.L.S. & CANAL C.W. (2003). Evaluation of selective and non-selective enrichment PCR procedures for *Salmonella* detection. *Lett. Appl. Microbiol.*, **36**, 217–221.
REDWEIK G.A., JOCHUM J. & MELLATA M. (2020). Live Bacterial Prophylactics in Modern Poultry. *Front. Vet. Sci.*, **7**, 826. TANG Y., DAVIES R. & PETROVSKA-HOLMES L. (2019). Identification of Genetic Features for Attenuation of Two *Salmonella* Enteritidis Vaccine Strains and Differentiation of These From Wildtype Isolates Using Whole Genome Sequencing. *Front. Vet. Sci.*, **6**, 447.

THOMSON N.R., CLAYTON D.J., WINDHORST D., VERNIKOS G., DAVIDSON S., CHURCHER C., QUAIL M.A., STEVENS M., JONES M.A., WATSON M., BARRON A., LAYTON A., PICKARD D., KINGSLEY R.A., BIGNELL A., CLARK L., HARRIS B., ORMOND D., ABDELLAH Z., BROOKS K., CHEREVACH I., CHILLINGWORTH T., WOODWARD J., NORBERCZAK H., LORD A., ARROWSMITH C., JAGELS K., MOULE S., MUNGALL K., SANDERS M., WHITEHEAD S., CHABALGOITY J.A., MASKELL D., HUMPHREY T., ROBERTS M., BARROW P.A., DOUGAN G. & PARKHILL J. (2008). Comparative genome analysis of *Salmonella enteritidis* Pt4 and *Salmonell*a Gallinarum 287/91 provides insights into evolutionary and host adaptation pathways. *Genome Res.*, **18**, 1624–1637.

VAN DER HEIJDEN H.M.J.F. (2001). First international ring trial of ELISAs for Salmonella-antibody detection in swine. *Berl. Munch. Tierarztl*., **114**, 389–392. PMID: 11570186.

WANG J., LI Y., CHEN J., HUA D., DENG H., LI Y., LIANG Z. & HUANG J. (2018). Rapid detection of food-borne *Salmonella* contamination using IMBs-qPCR method based on *pag*C gene. *Braz. J. Microbiol.*, **49**, 320–328.

WESTPHAL O. & LUDERITZ O. (1954). Chemische Erforschung von Lipopolysacchariden gramnegativer Bakterien. *Angew. Chem.,* **66**, 407–417.

YANG Q., DOMESLE K.J. & GE B. (2018). Loop-mediated isothermal amplification for *Salmonella* detection in food and feed: current applications and future directions. *Foodborne Pathog. Dis.*, **15**, 309–331.

ZHANG J., KHAN S. & CHOUSALKAR K.K. (2020). Development of PMAxxTM-Based qPCR for the Quantification of Viable and Non-viable Load of *Salmonella* from Poultry Environment. *Front. Microbiol.*, **11**. doi:10.3389/fmicb.2020.581201.

*
* *

ЖИЧ: Салмонеллёз өвчнийг оношлох ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори бий
(ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас мэдээлэл авна уу:
https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3).

Салмонеллёз өвчнийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториудтай холбогдож авна уу.

ЖИЧ: САЛМОНЕЛЛЁЗ (*S. ABORTUS OVIS, S. EQUI*) , САЛМОНЕЛЛЁЗ (*S. TYPHIMURIUM, S. ENTERITIDIS*) ГАРЧИГТАЙГААР 1989 ОНД АНХ, ХАМГИЙН СҮҮЛД 2022 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.