



МВА-н эдийн засгийн
эргэлтийг нэмэгдүүлэх
төсөл



МАЛ, АМЬТНЫ ЗАРИМ ӨВЧНИЙ ОНОШИЛГОО, ВАКЦИНЫ ГАРЫН АВЛАГА



МОНГОЛ УЛСЫН
МАЛ ЭМНЭЛГИЙН АЛБА



2023 он



**ЗАСГИЙН ГАЗРЫН ХЭРЭГЖҮҮЛЭГЧ АГЕНТЛАГ
МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ЕРӨНХИЙ ГАЗАР**



МОНГОЛ УЛСЫН МАЛ ЭМНЭЛГИЙН АЛБА

**МАЛ, АМЬТНЫ ЗАРИМ ӨВЧНИЙ
ОНОШИЛГОО, ВАКЦИНЫ
ГАРЫН АВЛАГА**

АЛБАН ХЭРЭГЦЭЭНД

Мал, амьтны өвчний оношилгоо, тандалтад ДМАЭМБ-ын стандарт аргыг нэвтрүүлэх Улсын мал эмнэлэг ариун цэврийн төв лабораторийн хүсэлтийг дэмжин энэхүү номд орсон стандартыг Англи хэлнээс орчуулах ажлыг Дэлхийн банкны санхүүжилтээр хэрэгжиж байгаа НҮБ-ын ХХААБ-ын “Мал аж ахуйн эдийн засгийн эргэлтийг нэмэгдүүлэх” төслийн, номыг хэвлэх ажлыг МЭЕГ-ын санхүүжилт, тусламжтайгаар тус тус хэрэгжүүлэв. Тус номд Монгол Улс, Дэлхийн банк, ХХААБ-ын бодлого, үзэл бодол тусаагүй болно.

© Мал эмнэлгийн ерөнхий газар, 2023 он

Орчуулсан:	Содномдаржаагийн ДЭЛГЭРЦЭЦЭГ (MSc.)
Орчуулгын редактор:	Рүүрагчийн СОДНОМДАРЖАА, Профессор (Ph.D.) Өлзийбатын ГЭРЭЛМАА (MSc.)
Дизайнер:	Бадамсэд АРИУНЧИМЭГ

ӨМНӨХ ҮГ

Дэлхийн мал, амьтны эрүүл мэндийн байгууллага (ДМАЭМБ)-ын жил бүрийн ерөнхий чуулганаар батлан Гишүүн улсдаа зөвлөмж болгодог Газрын амьтны эрүүл мэндийн кодекс (ГАЭМК)-ийг 2022 онд монгол хэлнээ орчуулан хэвлэж мал эмнэлгийн албаны бүтцийн байгууллагуудын удирдах болон гүйцэтгэх ажилтан, малын эмч, мал, амьтны гаралтай бүтээгдэхүүн, тэжээл үйлдвэрлэгч, экспортлогч, импортлогч, борлуулагч, хэрэглэгч нартаа өргөн барьсан билээ. Нэг мянган А4 нүүр бүхий хоёр боть ширээний хэвлэмэл зузаан уг номын цахим эхийг ДМАЭМБ-ын веб хуудсанд байршуулсныг уншигч Та татан авч аль сонирхсон сэдвээ сонгон ашиглах боломжтой юм.

Энэ удаад Монгол улсад мал эмнэлгийн алба байгуулагдсаны 100 жилийн ойг угтсан бүтээлч ажлын хүрээнд мал эмнэлгийн лабораторид ажиллагсад болон вакцин, биобэлдмэлийн үйлдвэрлэл эрхлэгч 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 14 нэрийн халдварт өвчнийг сонгон тэдгээрийн оношилгоо, тандалтын арга, вакцин, оношлох биобэлдмэлийн талаар ДМАЭМБ-ын ГАЭМК-ын нэгэн хэсэг болох “Газрын амьтны өвчний оношилгооны арга, вакцины гарын авлагын 2023 оны хэвлэлт”-ээс орчуулан ашгийн бус зорилгоор хэвлүүлэн түгээж байна.

Бараг 25 жилийн өмнө ДМАЭМБ-ын Гишүүнээр элссэн Монгол улс ДМАЭМБ-ын 183 гишүүн улсын Төлөөлөгч, нарийн мэргэжлийн экспертүүдийн боловсруулж харилцан хүлээн зөвшөөрсөн мал, амьтны өвчний оношилгооны эдгээр олон улсын стандарт аргыг Монгол улсын мал эмнэлгийн алба, лабораторийнхоо үйл ажиллагаанд нэвтрүүлэх үүргийг бусад гишүүн улсын нэгэн адил хүлээдэг билээ. Ийнхүү мал, амьтны өвчний оношилгоо, вакцины олон улсын хэмжээний эдгээр стандартыг нэвтрүүлэх нь үйл ажиллагаа нь олон улсын хэмжээнд явагддаг Мал эмнэлгийн албаны хэрэгжүүлж байдаг мал, амьтан, тэдгээрийн гаралтай бүтээгдэхүүний олон улсын худалдааны чөлөөт байдал, хүнсний аюулгүй байдал болон хил даван халдварладаг мал, амьтны халдварт өвчний оношилгооны шуурхай, баталгаат байдал зүй ёсоор хангагдана.

Сайн үйлс дэлгэрэх болтугай!

ДМАЭМБ-ын албан ёсны Төлөөлөгч,
Монгол улсын малын Ерөнхий эмч

 А.Нарантуяа

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.

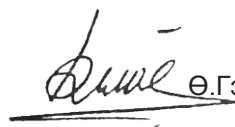
ДМАЭМБ-аас гишүүн улс орнуудын мал эмнэлгийн албадын чанарыг сайжруулахад онцгой анхааран кодексийн болон гарын авлагын хэлбэрээр гаргасан олон улсын стандартыг ялангуяа мал, амьтны өвчний оношилгоо тандалтын ажилд нэвтрүүлэх шаардлагын талаар ДМАЭМБ-ын Төлөөлөгч, Монгол улсын малын Ерөнхий эмчтэй зөвлөлдсөний үндсэн дээр мал эмнэлгийн лабораторийн ажилтан нарын өдөр тутмын албан ажлын хэрэгцээнд зориулан ДМАЭМБ-ын тусгай ангиллын 14 нэрийн халдварт өвчний оношилгоо, тандалтын арга, вакцин, оношлох биобэлдмэлийн тухай ДМАЭМБ-ын “Газрын амьтны өвчний оношилгооны арга, вакцины гарын авлага (ГАОАВГА) -ын 2023 оны хэвлэлт”-ээс орчуулан хэвлэх ажлыг зохион байгуулж байна.

Шинжлэх ухаан технологийн ирмүүн хөгжлийн үр дүнд маш түргэн шинэчлэгдэж байгаа мал, амьтны өвчний оношилгоо, вакцин, биобэлдмэлийн үйлдвэрлэлийн стандарт аргыг жил бүр шинэчлэн эмхэтгэж гаргадаг ДМАЭМБ-ын ГАОАВГА-д орсон өөрчлөлтийг жил бүрийн 7-р сард орчуулан Мал, амьтны өвчний оношилгоо, вакцины энэхүү гарын авлага (МАЗӨОВГА)-д орсон үндсэн сэдэвт нэмээд цахим хувилбарыг УМЭАЦТЛ-ын веб хуудсанд байршуулж байхаар төлөвлөж байна. Мөн түүнчлэн МАЗӨОВГА-ын цахим хувилбарыг дээр сонгосон 14 өвчнөөс гадна тусгай ангиллын бусад өвчинд зориулсан сэдвээр ч байнга баяжуулж байх болно.

Бидний хүсэлтийг хүлээн авч энэхүү номд орсон стандартыг англи хэлнээс орчуулсан, хянан тохиолдуулсан малын эмч мэргэжилтнүүд, орчуулгын ажлыг санхүүжүүлсэн “Мал аж ахуйн эдийн засгийн эргэлтийг нэмэгдүүлэх” төслийн хамт олонд гүн талархал дэвшүүлье.

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

Улсын мал эмнэлэг ариун цэврийн
төв лабораторийн захирал

 Ө.Гэрэлмаа

ГАРЧИГ

Өмнөх үг

БҮЛЭГ 1 (3.1.1)

БООМ ӨВЧИН

А. Удиртгал

1. Зоонозын эрсдэл, био аюулгүй байдлын шаардлага

Б. Оношилгооны арга

1. Үүсгэгч илрүүлэх
 - 1.1. *Bacillus anthracis*-ыг өсгөвөрлөх, ялган таних
 - 1.1.1. Шинэ дээж
 - 1.1.2. Бүрээс харах
 - 1.1.3. Бусад сорьц
 - 1.2. Дархлаа судлалын аргаар илрүүлэх, оношлох
 - 1.2.1. Асколийн сорил
 - 1.2.2. Иммунофлюоресценц
 - 1.3. Полимеразагийн гинжин урвалаар хоруу чанарыг баталгаажуулах

В. Вакцинд тавих шаардлага

1. Оршил
 - 1.1. Үндэслэл, хэрэглэх зориулалт
2. Уламжлалт вакцин үйлдвэрлэлийн тойм, тавигдах шаардлага
 - 2.1. Эх омгийн шинж чанар
 - 2.1.1. Биологийн шинж чанар
 - 2.1.2. Чанарын шалгуур
 - 2.2. Үйлдвэрлэлийн арга
 - 2.2.1. Үйлдвэрлэлийн явц
 - 2.3. Субстрат, тэжээлт орчинд тавих шаардлага
 - 2.3.1. Явцын хяналт
 - 2.3.2. Эцсийн бүтээгдэхүүний цувралд хийх шалгалт
 - 2.4. Зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага
 - 2.4.1. Аюулгүй чанарын шаардлага
 - 2.4.2. Вакцины үр нөлөөнд тавих шаардлага
3. Биотехнологид суурилсан вакцин
 - 3.1. Боловсруулж хэрэглээнд гаргасан вакцин, тэдгээрийн давуу тал
 - 3.2. Биотехнологийн вакцинд тавих тусгай шаардлага

БҮЛЭГ 2 (3.1.4)

БРУЦЕЛЛЁЗ ӨВЧИН

А. Удиртгал

1. Өвчний тодорхойлолт
 - 1.1. Үхрийн бруцелийн халдвар
 - 1.2. Хонь, ямааны бруцелийн халдвар
 - 1.3. Гахайн бруцелийн халдвар
 - 1.4. Бусад тэжээвэр болон ан олзворын зэрлэг эсхүл зэрлэг амьтны бруцелийн халдвар
 - 1.5. Хүнд халдварлах эрсдэл, биоаюулгүй байдлын шаардлага

Б. Оношилгооны арга

1. Үүсгэгч илрүүлэх
 - 1.1. Будах арга
 - 1.2. Сорьц цуглуулах, өсгөвөрлөх
 - 1.2.1. Үндсэн тэжээлт орчин
 - 1.2.2. Сонгомол тэжээлт орчин
 - 1.2.3. Сорьц цуглуулах, өсгөвөрлөх
 - 1.3. Ялган таних, хэвшил тогтоох
 - 1.4. Нуклеин хүчлийг илрүүлэн таних арга
 - 1.5. Вакцины омгийг ялган таних
2. Ийлдэс судлалын арга
 - 2.1. Лавлагааны ийлдэс
 - 2.2. Эсрэгтөрөгч бэлтгэх
 - 2.3. Бруцелийн буфержүүлсэн эсрэгтөрөгчийн шинжилгээний арга
 - 2.3.1. Роз бенгалын урвал
 - 2.3.2. Хавтан дээр наалдуулах буфержүүлсэн урвал
 - 2.4. Хавсарга холбох урвал
 - 2.4.1. Эсрэгтөрөгч бэлтгэх
 - 2.4.2. Эсрэгтөрөгчийг стандартчилах
 - 2.4.3. Шинжлэх арга зүй (жишээ)

- 2.5. Энзим холбоост дархлааны урвал
 - 2.5.1. Шууд бус ЕЛИЗА
 - 2.5.2. Өрсөлдөөнт ЕЛИЗА
- 2.6. Флюоресценц туйлшралын арга
 - 2.6.1. Эсрэгтөрөгч бэлтгэх (жишээ)
 - 2.6.2. ФТА шинжилгээг стандартчилах
 - 2.6.3. Шинжлэх арга зүй
- 2.7. Ийлдэсний наалдуулах урвал (зөвхөн үхэрт)
- 2.8. Төрөлх гаптен, цитозолын уурагт суурилсан шинжилгээ (зөвхөн хивэгч амьтанд)
- 2.9. Сүүний шинжилгээ
 - 2.9.1. Сүүний ШБ-ЕЛИЗА (зөвхөн үхэр, хонь, ямаанд)
 - 2.9.2. Сүүний цагариган урвал (зөвхөн үхэрт)
- 2.10. Зэрлэг амьтан шинжлэх ийлдэс судлалын арга
- 3. Эсийн дархлааны сорил
 - 3.1. Арьсны бруцелиний сорил
 - 3.1.1. Шинжлэх арга зүй
 - 3.2. Гамма интерферон үүсэлтийн шинжилгээ
- В. Вакцин, оношилгооны биологийн бэлдмэлд тавих шаардлага
 - 1. Вакцин
 - 1.1. Удиртгал
 - 1.1.1. *Brucella abortus* 19 омгийн вакцин
 - 1.1.2. *Brucella abortus* RB51 омгийн вакцин
 - 1.1.3. *Brucella melitensis* Rev.1 омгийн вакцин
 - 1.1.4. Гахайг вакцинжуулах
 - 1.1.5. Бусад төрлийн амьтныг вакцинжуулах
 - 1.2. Үйлдвэрлэлийн тойм, шаардлага
 - 1.2.1. Эх омгийн шинж чанар
 - 1.2.2. Үйлдвэрлэх арга
 - 1.2.3. Зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага
 - 2. Оношилгооны биологийн бэлдмэл: Бруцелин
 - 2.1. Удиртгал
 - 2.2. Үйлдвэрлэлийн тойм, шаардлага
 - 2.2.1. Эх омгийн шинж чанар
 - 2.2.2. Үйлдвэрлэх арга
 - 2.2.3. Зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага

БҮЛЭГ 3 (3.1.8)**ШҮЛХИЙ ӨВЧИН**

- А. Удиртгал
- Б. Оношилгооны арга
 - 1. Өвчин үүсгэгч илрүүлэх, ялган таних
 - 1.1. Вирус ялгах
 - 1.2. Дархлаа судлалын арга
 - 1.2.1. Энзим холбоост дархлааны урвал - ЕЛИЗА
 - 1.2.2. Шинжлэх арга зүй
 - 1.2.3. Түргэн сорил
 - 1.3. Нуклеин хүчлийг ялган таних арга
 - 1.3.1. Агарозын гельд суурилсан УТ-ПГУ-ын арга
 - 1.3.2. Шинжлэх арга зүй
 - 1.3.3. Нөөц уусмал
 - 1.3.4. Бодит цагийн УТ-ПГУ
 - 1.3.5. БЦ-ПГУ-д хэрэглэх нөөц уусмал
 - 1.3.6. Молекул эпидемиологи
 - 2. Ийлдэс судлалын арга
 - 2.1. Вирус саармагжуулах урвал
 - 2.1.1. Шинжлэх арга зүй
 - 2.2. Хатуу фазат өрсөлдөөнт ЕЛИЗА
 - 2.2.1. Шинжлэх арга зүй
 - 2.3. Шингэн фазат саатуулагч ЕЛИЗА
 - 2.3.1. Шинжлэх арга зүй
 - 2.4. Бүтцийн бус уургийн эсрэг биеийн шинжилгээ
 - 2.4.1. Энзим холбоот дархлааны шууд бус урвал
 - 2.4.2. Энзим холбоот дархлааны электрофорезийн шинжилгээ
- В. Вакцинд тавих шаардлага
 - 1. Эх омгийн менежмент
 - 1.1. Эх омгийн шинж чанар
 - 1.2. Өсгөвөрлөх арга
 - 1.3. Вакцины омог болгон баталгаажуулах

- 1.4. Шинэ үндсэн эх омгийг түр зөвшөөрч, түүгээр бэлтгэсэн вакциныг хэрэглээнд гаргах журам
2. Үйлдвэрлэх арга
3. Үйлдвэрлэлийн явцын хяналт
 - 3.1. Идэвхгүйжүүлэлтийн кинетик
 - 3.2. Идэвхгүйжүүлэлтийн хяналт
4. Эцсийн бүтээгдэхүүний цувралд хийх шалгалт
 - 4.1. Хоруу чанарын шалгалт
 - 4.2. Ариун чанарын шалгалт
 - 4.3. Мөн эсэхийг таних шалгалт
 - 4.4. Цэвэршилтийн шалгалт
 - 4.5. Аюулгүй чанарын шалгалт
 - 4.6. Дархлаа төрүүлэх идэвхийн шалгалт
 - 4.6.1. Хамгаалалтын таамаг хувь
 - 4.6.2. Хамгаалалтыг үнэлэх бусад арга
5. Вакцин бүртгэхэд тавих шаардлага
 - 5.1. Үйлдвэрлэлийн явц
 - 5.2. Аюулгүй чанар
 - 5.3. Үр нөлөө
 - 5.3.1. PD_{50} туршилт
 - 5.3.2. Хөлд үүсэх түгмэл халдвараас хамгаалах чанарын шалгалт
 - 5.3.3. Вакцины үр нөлөөг шууд бус аргаар тогтоох
 - 5.3.4. Бусад зүйл амьтанд үзүүлэх вакцины үр нөлөө
 - 5.4. Цэвэршүүлэлт: ББУ-ийн эсрэг биеийг шалгах
 - 5.5. Дархлаа үргэлжлэх хугацаа
 - 5.6. Тогтвортой байдал
 - 5.7. Сэрэмжлүүлэг
6. Өтгөрүүлсэн эсрэгтөрөгчийг хадгалах, хяналт-шинжилгээ хийх
 - 6.1. Хадгалах нөхцөл
 - 6.1.1. Барилга байгууламж, тоног төхөөрөмж
 - 6.1.2. Хадгалж байгаа эсрэгтөрөгчийг хамгаалах
 - 6.1.3. Хадгалсан эсрэгтөрөгчийг шошголох
 - 6.2. Хадгалж байгаа өтгөн эсрэгтөрөгчид хяналт-шинжилгээ хийх
7. Өтгөрүүлсэн эсрэгтөрөгчөөс бэлтгэсэн вакциныг яаралтай хэрэгцээнд гаргах
- Г. Вакцины тохирцын шалгалт
 1. Оршил
 2. Вакцины тохирц шалгахад ашиглах вирусийн хээрийн омог сонгох
 3. Тохирцын шалгалтад хэрэглэх вакцины омог сонгох
 4. Вакцины тохирц шалгах арга
 - 4.1. Хээрийн өсгөвөр, вакцины омог хоорондын хамаарал
 - 4.1.1. Хоёр хэмжээст (шатрын хөлгөн) саармагжуулах урвалаар вакцины тохирц шалгах
 - 4.1.2. Нэг-хэмжээст саармагжуулах урвалаар тодорхойлсон хамгаалалтын таамаг хувиар (ХТХ) илэрхийлэх вакцины тохирц
 - 4.1.3. Вакцины тохирцыг ЕЛИЗА урвалаар шалгах
 - 4.1.4. Вакцины тохирцыг ХХУ-аар шалгах
 - 4.2. Вакцин үйлдвэрлэхэд тохирох эсэхийг шалгах

БҮЛЭГ 4 (3.1.13)**ХӨХТӨН АМЬТНЫ СҮРЬЕЭ ӨВЧИН****А. Удиртгал****Б. Оношилгооны арга**

1. Үүсгэгч илрүүлэх, ялган таних
 - 1.1. Дурандах шинжилгээ
 - 1.2. Өсгөвөр
 - 1.3. Нуклеин хүчлийг таних арга
 - 1.3.1. Полимеразагийн гинжин урвал
 - 1.3.2. ДНХ фингерпринтинг
 - 1.3.3. Геномын бүрэн дараалал тогтоох
2. Хэт мэдрэгшлийн сорил
 - 2.1. Арьсны сүрьеэлүүрийн сорил
 - 2.2. Шинжлэх арга зүй
 - 2.2.1. Сүрьеэлүүрийг арьсан дотор тарих
 - 2.2.2. Үхэрт хийсэн сорилын дүнг унших
 - 2.2.3. Бугын төрлийн амьтанд хийсэн сорилын үр дүнгийн үнэлгээ
 - 2.2.4. Хонь, ямаанд хийсэн сорилын үр дүнгийн үнэлгээ
 - 2.2.5. Тэмээний овгийн амьтанд хийсэн сорилын үр дүнгийн үнэлгээ
 - 2.2.6. Гахайд хийсэн сорилын үр дүнгийн үнэлгээ

- 2.2.7. Ховор болон амьтны хүрээлэнгийн амьтанд хийсэн сорилын үр дүнгийн үнэлгээ
- 2.3. Эсрэгтөрөгч нь тодорхой арьсны сорил
- 3. Цусанд суурилсан лабораторийн шинжилгээ
 - 3.1. Гамма интерфероны ялгарлын шинжилгээ
 - 3.2. Өвөрмөц эсрэг бие илрүүлэх ийлдэс судлалын арга
- В. Вакцин, оношилгооны биобэлдмэлд тавих шаардлага
 - 1. Вакцин
 - 2. Сүрьеэлүүрийн үйлдвэрлэл
 - 2.1. Эх омгийн менежмент
 - 2.2. Өсгөвөрлөх арга
 - 2.3. Үйлдвэрлэх арга, явцын хяналт
 - 2.4. Цувралын хяналт
 - 2.4.1. Ариун чанар
 - 2.4.2. Аюулгүй чанар
 - 2.4.3. Мэдрэгжүүлэх нөлөө
 - 2.4.4. Идэвх
 - 2.4.5. Өвөрмөц чанар
 - 2.4.6. Тогтвортой чанар
 - 2.4.7. рН хяналт
 - 2.4.8. Уургийн агууламж
 - 2.4.9. Хадгалалт
 - 2.4.10. Хадгалааслагч
 - 2.4.11. Сэрэмжүүлэг

БҮЛЭГ 5 (3.1.18)**ГАЛЗУУ ӨВЧИН**

- А. Удиртгал
- Б. Оношилгооны арга
 - 1. Үүсгэгчийг илрүүлэх, ялган таних
 - 1.1. Тархины эд цуглуулах
 - 1.1.1. Дагзны (нугасны) том нүхээр тархины сорьц авах
 - 1.1.2. Нүдний ухархайн араас тархины сорьц авах
 - 1.2. Сорьц тээвэрлэх
 - 1.3. Лабораторийн оношилгоо
 - 1.3.1. Галзуу өвчний вирусийн эсрэгтөрөгчийг иммуногистохимийн аргаар ялган таних
 - 1.3.2. Вирус ялгах
 - 1.3.3. Иммунохроматографийн түргэн сорил
 - 1.3.4. Эсийн өвөрмөц шинжит гэмтлийг гистологийн шинжилгээгээр ялган таних
 - 1.3.5. Урвуу транскрипт полимеразгийн гинжин урвал
 - 1.4. Ялган таних шинжилгээний бусад арга
 - 2. Ийлдэс судлалын арга
 - 2.1. Эсийн өсгөвөрт вирус саармагжуулах урвал
 - 2.1.1. Вирус, ДМАЭМБ-ын стандарт ийлдэс
 - 2.1.2. Халдвар хийх стандарт вирус (ХСВ) үйлдвэрлэх
 - 2.1.3. Вирус титрлэх TCID₅₀ (эсийн өсгөврийн 50%-д халдварлах тун)
 - 2.1.4. Шинжлэх арга зүй
 - 2.1.5. Халдвар хийх вирусийн стандартад нэмэлт хийх
 - 2.1.6. Бэхжүүлэх, будах
 - 2.1.7. Үр дүнг унших, боловсруулах
 - 2.1.8. log D₅₀ утгыг ОУН/мл титрт хувиргах томьёо
 - 2.2. Эсийн өсгөвөрт вирус саармагжуулах урвал: эсрэг биеийн саатуулалтыг илрүүлэх флюоресценцийн түргэн арга
 - 2.2.1. Эх вирусийн цийдмэг бэлтгэх
 - 2.2.2. Эх вирусийн цийдмэгийг титрлэх
 - 2.2.3. Нөөц эх вирусийн цийдмэг бэлтгэх
 - 2.2.4. Нөөц эх вирусийн цийдмэгийг титрлэх
 - 2.2.5. Лавлагааны ийлдэс
 - 2.2.6. Шинжлэх ийлдэс
 - 2.2.7. Вирус нэмэх
 - 2.2.8. Эс нэмэх
 - 2.2.9. Ацетонаор бэхжүүлж имунофлюоресценц будалт хийх
 - 2.2.10. Вирус саармагжуулах эсрэг биеийн титрийг тооцоолох
 - 2.3. Энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА)
 - 3. Чанарын үнэлгээ

В. Вакцинд тавих шаардлага

1. Ерөнхий удиртгал
2. Галзуу өвчний тарьж хэрэглэх вакцин
 - 2.1. Удиртгал
 - 2.2. Уламжлалт вакцины үйлдвэрлэлийн тойм, вакцинд тавих наад захын шаардлага
 - 2.2.1. Эх омгийн шинж чанар
 - 2.2.2. Үйлдвэрлэх арга
 - 2.3. Эрх бүхий холбогдох байгууллагаас зөвшөөрөл авахад тавих шаардлага
 - 2.3.1. Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаа
 - 2.3.2. Аюулгүй чанарын шаардлага
 - 2.3.3. Үр нөлөөний шаардлага
 - 2.3.4. Тогтвортой байдал
 - 2.3.5. Дархлааны үргэлжлэх хугацаа
3. Галзуу өвчний амаар олгох вакцин
 - 3.1. Оршил
 - 3.2. Үйлдвэрлэлийн тойм ба вакцинд тавигдах наад захын шаардлага
 - 3.2.1. Эх омгийн шинж чанар
 - 3.2.2. Үйлдвэрлэх арга
 - 3.3. Эрх бүхий холбогдох байгууллагын зөвшөөрөл авахад тавих шаардлага
 - 3.3.1. Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаа
 - 3.3.2. Аюулгүй чанарын шаардлага
 - 3.3.3. Үр нөлөөнд тавих шаардлага
 - 3.3.4. Тогтвортой байдал
 - 3.3.5. Өгөөшт тавих шаардлага, шинж чанар

БҮЛЭГ 6 (3.4.9)**ҮХРИЙН ЭНЗООТ ЛЕЙКОЗ ӨВЧИН****А. Удиртгал****Б. Оношилгооны арга**

1. Үүсгэгчийг ялган таних
 - 1.1. Вирус ялгах
 - 1.2. Полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ)-аар нуклеин хүчил илрүүлэх
 - 1.2.1. Аргын мэдрэх чанарын тохирол
 - 1.2.2. Дээж бэлтгэх
 - 1.2.3. ДНХ ялган авах
 - 1.2.4. Угсраа ПГУ-ын арга зүй
 - 1.2.5. Бодит цагийн ПГУ-ын арга зүй
2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ
 - 2.1. Энзим холбоост дархлааны урвал
 - 2.1.1. Энзим холбоост дархлааны саатуулагч урвал - Ийлдэсний дээж шинжлэх ЕЛИЗА
 - 2.1.2. Энзим холбоост дархлааны шууд бус урвал – Сүүний дээж шинжлэх ЕЛИЗА
 - 2.2. Агар гелд нэвчин тунадасжих урвал
 - 2.2.1. Агар гел
 - 2.2.2. Эсрэгтөрөгч
 - 2.2.3. Эерэг нь тогтоогдсон хяналтын ийлдэс
 - 2.2.4. Сөрөг болох нь мэдэгдсэн сөрөг хяналтын ийлдэс
 - 2.2.5. Шинжлэх ийлдэс
 - 2.2.6. Шинжлэх арга зүй

В. Вакцинд тавих шаардлага**БҮЛЭГ 7(3.4.12)****АРЬС ТОВРУУТАХ ӨВЧИН****А. Удиртгал****Б. Оношилгооны арга**

1. Өвчний үүсгэгч илрүүлэх
 - 1.1. Сорьц авах, илгээх, бэлтгэх
 - 1.2. Эсийн өсгөвөрт вирус ялгах
 - 1.3. Полимеразагийн гинжин урвал
 - 1.3.1. Шинжлэх арга зүй
 - 1.4. Дамжуулагч электрон микроскоп
 - 1.4.1. Шалгах арга
 - 1.5. Флюоресценц эсрэг биеийн арга
 - 1.6. Иммуногистохимийн арга
 - 1.7. Изотермал орчинд геном олшруулах арга

2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ
 - 2.1. Вирус саармагжуулах урвал
 - 2.1.1. Шинжлэх арга зүй
 - 2.2. Энзим холбоост дархлааны урвал
 - 2.3. Флюоресценц эсрэг биеийн шууд бус арга
 - 2.4. Вестерн блотын урвал
- В. Вакцинд тавих шаардлага
 1. Оршил: Үндэслэл, хэрэглэх зориулалт
 2. Уламжлалт вакцин үйлдвэрлэлийн тойм, тавигдах шаардлага
 - 2.1. Эх омгийн шинж чанар
 - 2.1.1. Биологийн шинж чанар
 - 2.1.2. Чанарын шалгуур (ариун чанар, цэвэршүүлэлт, гаднын зүйл агуулаагүй байх)
 - 2.2. Үйлдвэрлэлийн арга
 - 2.2.1. Үйлдвэрлэлийн явц
 - 2.2.2. Субстрат, тэжээлт орчинд тавих шаардлага
 - 2.2.3. Үйлдвэрлэлийн явцын хяналт
 - 2.2.4. Эцсийн бүтээгдэхүүний цуврал шалгах
 - 2.3. Зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага
 - 2.3.1. Аюулгүй чанарт тавих шаардлага
 - 2.3.2. Үр нөлөөнд тавих шаардлага
 - 2.3.3. Тогтвортой чанар
 3. Биотехнологид суурилсан вакцин

БҮЛЭГ 8 (3.6.3)**АДУУНЫ НИЙЛҮҮЛГИЙН ӨВЧИН**

- А. Удиртгал
- Б. Оношилгооны арга
 - 1.1. Шимэгч судлалын аргын тойм
 - 1.2. Трипаносомын ДНХ илрүүлэх, ялгаварлан оношлох
 2. Ийлдэс судлалын арга
 - 2.1. Хавсарга холбох урвал
 - 2.1.1. Эсрэгтөрөгчийн үйлдвэрлэл
 - 2.1.2. Ийлдэс
 - 2.1.3. Хавсаргын эсрэг ийлдэс
 - 2.1.4. Буфер ба урвалж
 - 2.1.5. Эхний шингэлэлт
 - 2.1.6. Илрүүлэх шинжилгээний арга зүй
 - 2.2. Флюоресцент эсрэг биеийн шууд бус урвал
 - 2.2.1. Эсрэгтөрөгч
 - 2.2.2. Хүчил-цитрат-дестрозын уусмал
 - 2.2.3. Конъюгат
 - 2.2.4. Шинжлэх арга зүй
 - 2.3. Энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА)
 - 2.3.1. Саатуулагч буфер
 - 2.3.2. Угаалтад хэрэглэх Твин 20-той ФБУ, рН 7.4
 - 2.3.3. Дээж болон конъюгатын буфер
 - 2.3.4. Субстрат илрүүлэх систем
 - 2.3.5. Конъюгат
 - 2.3.6. Эсрэгтөрөгч
 - 2.3.7. Шинжлэх арга зүй
 - 2.4. Ийлдэс судлалын бусад арга
- В. Вакцинд тавих шаардлага

БҮЛЭГ 9 (3.6.6)**АДУУНЫ ЦУС БАГАСАХ ХАЛДВАРТ ӨВЧИН**

- А. УДИРТГАЛ
- Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА
 1. Үүсгэгчийг илрүүлэх
 - 1.1. Вирус ялгах, ялган таних
 - 1.2. Полимеразагийн гинжин урвал
 2. Ийлдэс судлалын арга
 - 2.1. Агарын гелд нэвчин тунадасжих арга
 - 2.1.1. Эсрэгтөрөгч бэлтгэх
 - 2.1.2. Стандарт эсрэг ийлдэс бэлтгэх
 - 2.1.3. Шалгах арга, ажиллагаа
 - 2.2. Энзим холбоост дархлааны урвал
- В. Вакцинд тавих шаардлага

БҮЛЭГ 10 (3.6.7)**АДУУНЫ ТОМУУ ӨВЧИН**

А. Удиртгал

Б. Оношилгооны арга

1. Үүсгэгчийг ялган таних
 - 1.1. Тахианы хөврөлжүүлсэн өндгөнд вирус ялган авах
 - 1.2. Эсийн өсгөвөрт вирус ялган авах
 - 1.3. Гемаглютининий (Н) дэд хэвшил тогтоох
 - 1.4. Неираминидазагийн дэд хэвшил тогтоох
 - 1.5. Полимеразагийн гинжин урвал
 - 1.5.1. Үр дүнг үнэлэх
 - 1.5.2. Хамжаа ДНХ-ийн нийлэгжилт
 - 1.5.3. ГА болон НА генийн хэрчмийг ПГУ-аар олшруулах
2. Ийлдэс судлалын арга
 - 2.1. Цус наалдалтыг саатуулах урвал
 - 2.1.1. Вирусийг Твин 80/эфирээр боловсруулах
 - 2.1.2. Цус наалдалтыг титрлэх
 - 2.1.3. Ийлдсийг калийн периодатаар боловсруулах
 - 2.1.4. Шинжлэх арга зүй
 - 2.2. Цус задралын бүслүүр - цагариг үүсгэх арга
 - 2.2.1. Урвалж бэлтгэх
 - 2.2.2. Шинжлэх арга зүй
 - 2.2.3. Хавтан бэлтгэх
 - 2.2.4. Үр дүнг үнэлэх
 - 2.3. Өрсөлдөөнт/саатуулагч ЕЛИЗА
- В. Вакцинд тавих шаардлага
 1. Оршил
 - 1.1. Бүтээгдэхүүний үндэслэл, хэрэглэх зориулалт
 2. Үйлдвэрлэлийн тойм, ердийн вакцинд тавих наад захын шаардлага
 - 2.1. Эх омгийн шинж чанар
 - 2.1.1. Биологийн шинж чанар
 - 2.1.2. Чанарын шалгуур (ариун чанар, цэвэршүүлэлт, гаднын зүйл агуулаагүй байх).
 - 2.2. Үйлдвэрлэх арга
 - 2.2.1. Шинжлэх арга зүй
 - 2.2.2. Субстрат, тэжээлт орчинд тавих шаардлага
 - 2.2.3. Үйлдвэрлэлийн явцын шалгалт
 - 2.2.4. Нэвчилтийн бүслүүр-цагариг үүсгэх арга (НБҮА)
 - 2.2.5. Эцсийн бүтээгдэхүүний цувралын шалгалт
 - 2.3. Вакцинд зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага
 - 2.3.1. Аюулгүй чанарын шаардлага
 - 2.3.2. Үр нөлөөнд тавих шаардлага
 - 2.3.3. Тогтвортой чанар
 - 2.4. Вакцины шинэ омогт зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага
 3. Биотехнологид суурилсан вакцин
 - 3.1. Боловсруулж хэрэглээнд гаргасан вакцин, тэдгээрийн давуу тал
 - 3.2. Тусгай шаардлага

БҮЛЭГ 11 (3.6.11)

ЯМ ӨВЧИН БА ХУУРАМЧ ЯМ ӨВЧИН

А. Удиртгал

Б. Оношилгооны арга

1. Ям өвчнийг оношлох шинжилгээний үр дүнг боловсруулах
2. Үүсгэгч илрүүлэх
 - 2.1. *Burkholderia mallei*-н хэлбэр зүй
 - 2.2. Өсгөврийн шинж чанар
 - 2.3. *Burkholderia mallei*-г полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ), бодит цагийн ПГУ-аар ялган таних
 - 2.3.1. ДНХ бэлтгэх
 - 2.3.2. ПГУ-аар шинжилгээ хийх
 - 2.3.3. Бодит цагийн ПГУ-аар шинжилгээ хийх
 - 2.4. Бусад арга
3. Ийлдэс судлалын арга
 - 3.1. Адуу, илжиг, луусыг шинжлэх хавсарга холбох урвал
 - 3.1.1. Эсрэгтөрөгч бэлтгэх
 - 3.1.2. ХХУ тавих арга
 - 3.1.3. Үр дүнг унших
 - 3.2. Энзим холбоост дархлааны урвал
 - 3.3. Иммуноблотын шинжилгээний арга
 - 3.4. Ийлдэс судлалын бусад арга
4. Эсийн дархлааны шинжилгээ
 - 4.1. Ямлуураар шинжлэх

В. Вакцин, оношилгооны био бэлдмэлд тавих шаардлага

1. Эх омгийн менежмент
2. Үйлдвэрлэл
3. Үйлдвэрлэлийн явцын шалгалт
4. Цувралын шалгалт

БҮЛЭГ 12 (3.8.3)**ХАВЪТАЛ ХАЛДВАРТ СОХОР ДОГОЛ ӨВЧИН**

А. Удиртгал

Б. Оношилгооны арга

1. Үүсгэгчийг ялган таних
 - 1.1. Сорьц сонгох
 - 1.2. Микоплазм ялган таних
 - 1.2.1. Шинжлэх арга зүй
 - 1.3. Биохимийн шинжилгээ
 - 1.4. Ийлдэс судлалын аргаар ялган таних
 - 1.4.1. Шинжлэх арга зүй
 - 1.4.2. Үр дүнг үнэлэх
 - 1.5. Нуклеин хүчлийг таних арга
 - 1.5.1. Полимеразагийн гинжин урвалын арга
 - 1.5.2. Бодит хугацааны ПГУ
 - 1.5.3. Нуклеин хүчлийн молекулыг харьцуулах шинжилгээ
 - 1.5.4. MALDI-TOF
 - 1.5.5. Шинжлэх арга зүй
2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ
 - 2.1. Энзим холбоост дархлааны урвал
 - 2.2. Хавсарга холбох урвал
 - 2.3. Иммуноблотын урвал

В. Вакцинд тавих шаардлага

1. Хавьтал халдварт сохор догол өвчний вакцин
 - 1.1. Халдварт *Mycoplasma agalactiae*-ын идэвхгүйжүүлсэн вакцин
 - 1.2. Халдварт *Mycoplasma agalactiae*-ын амьд, сулруулсан вакцин
2. Халдварт *Mycoplasma mycoides subsp. capri*-ийн вакцин
3. *Mycoplasma mycoides capri* дэд хэвшил ба *M. Putrefaciens*

БҮЛЭГ 13 (3.8.9)**БОГ МАЛЫН МЯЛЗАН ӨВЧИН**

А. Удиртгал

Б. Оношилгооны арга

1. Сорьц цуглуулах
2. Үүсгэгч илрүүлэх
 - 2.1. Баригч эсрэг бие бүхий энзим холбоост дархлааны урвал
 - 2.2. Нуклеин хүчил таних арга
 - 2.2.1. N уургийг кодлогч генийг хэсэгчлэн олшруулах замаар БММӨ-ий вирусийг илрүүлэх УТ-ПГУ арга
 - 2.2.2. F уургийг кодлогч генийг хэсэгчлэн олшруулах замаар БММӨ-ий вирусийг илрүүлэх УТ-ПГУ арга
- 2.3. Өсгөвөрлөх, ялгах арга
- 2.4. БММӨ-ий вирусийн эсрэгтөрөгч илрүүлэх түргэн сорил
- 2.5. Агарын гелд нэвчин тунадасжих урвал
- 2.6. Угтуулах электрофорез
3. Ийлдэс судлалын арга
 - 3.1. Вирус саармагжуулах урвал
 - 3.2. Энзим холбоост дархлааны өрсөлдөөнт урвал

В. Вакцинд тавих шаардлага

1. Оршил
 - 1.1. Үндэслэл, бүтээгдэхүүний зориулалт
2. Ердийн вакцины үйлдвэрлэлийн тойм, вакцинд тавих ерөнхий шаардлага
 - 2.1. Эх омгийн шинж чанар
 - 2.1.1. Биологийн шинж чанар
 - 2.1.2. Чанарын шалгуур (ариун чанар, цэвэршүүлэлт, гаднын зүйл агуулаагүй байх)
 - 2.2. Үйлдвэрлэх арга
 - 2.2.1. Субстрат, тэжээлт орчинд тавих шаардлага
 - 2.2.2. Үйлдвэрлэлийн явцын хяналт
 - 2.2.3. Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаа
 - 2.2.4. Эцсийн бүтээгдэхүүний цувралын шалгалт
 - 2.3. Албан ёсны зөвшөөрөл авахад тавих шаардлага

- 2.3.1. Аюулгүй чанарын шаардлага
- 2.3.2. Вакцины үр нөлөөнд тавих шаардлага
- 2.3.3. Тогтвортой байдал
- 2.3.4. DIVA (халдвар авсан, вакцин тарьсан мал ялган илрүүлэх) стратегид нийцэх вакцин
- 2.3.5. Дархлааны үргэлжлэх хугацаа
- 3. Биотехнологид суурилсан вакцин
- 3.1. Боловсруулж хэрэглээнд гаргасан вакцин, тэдгээрийн давуу тал
- 3.2. Биотехнологийн вакцинд тавих тусгай шаардлага байгаа эсэх

БҮЛЭГ 14 (3.8.12)**ХОНИНЫ ЦЭЦЭГ БА ЯМААНЫ ЦЭЦЭГ ӨВЧИН****А. Удиртгал****Б. Оношилгооны арга**

- 1. Өвчний үүсгэгчийг ялган таних
 - 1.1. Сорьц авах, илгээх
 - 1.2. Эсийн өсгөвөрт вирус ялгах
 - 1.3. Электрон микроскоп
 - 1.4. Бичил бие бүтцийн эмгэг судлал
 - 1.5. Дархлаа судлалын арга
 - 1.5.1. Флюоресценц эсрэг биеийн арга
 - 1.6. Нуклеин хүчлийг ялган таних арга
 - 1.6.1. Энгийн ПГУ-ын арга
 - 1.6.2. Бодит цагийн ПГУ-ын арга
 - 1.6.3. Изотермийн геном олшруулалт
- 2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ
 - 2.1. Вирус саармагжуулах урвал
 - 2.1.1. Шинжлэх арга зүй
 - 2.2. Флюоресценц эсрэг биеийн шууд бус сорил
 - 2.3. Вестерн блотын урвал
 - 2.4. Энзим холбоост дархлааны урвал

В. Вакцинд тавих шаардлага

- 1. Оршил
 - 1.1. Үндэслэл, хэрэглэх зориулалт
- 2. Уламжлалт вакцин үйлдвэрлэлийн тойм, тавигдах шаардлага
 - 2.1. Эх омгийн шинж чанар
 - 2.1.1. Биологийн шинж чанар
 - 2.1.2. Чанарын шалгуур (ариун чанар, цэвэршүүлэлт, гаднын зүйл агуулаагүй байх)
 - 2.2. Үйлдвэрлэлийн арга
 - 2.2.1. Үйлдвэрлэлийн явц
 - 2.2.2. Субстрат, тэжээлт орчинд тавих шаардлага
 - 2.2.3. Үйлдвэрлэлийн явцын хяналт
 - 2.2.4. Эцсийн бүтээгдэхүүний цуврал шалгах
 - 2.3. Зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага
 - 2.3.1. Аюулгүй чанарт тавих шаардлага
 - 2.3.2. Үр нөлөөнд тавих шаардлага
 - 2.3.3. Тогтвортой байдал
- 3. Биотехнологид суурилсан вакцин
 - 3.1. Худалдаанд гарсан вакцинууд, тэдгээрийн давуу тал
 - 3.2. Биотехнологийн вакцинд тавигдах тусгай шаардлага

БООМ ӨВЧИН

А. УДИРТГАЛ

Ихэвчлэн өвсөн тэжээлтэнд бактериар үүсдэг цочмог явцтай боом өвчин хүнд дамжин халдварлана. Өвчин үүсгэгч бактери нь грам-ээрэг, үрэнцэр (спор) үүсгэдэг, савханцар хэлбэртэй *Bacillus anthracis* юм. Боом өвчин дэлхий дахинаа ноос ялгагчийн өвчин, хорт хатги, нүүрс, хорт идээт үрэвсэл, Сибирь яр зэрэг олон нэрээр нэршжээ.

Амьтан боомын үрэнцэр залгиж халдвар авах, эсхүл халдвартай амьтан, түүний хүүр сэгээр хооллосон намрын хайруул батгана (*Stomoxys calcitrans*), шумуул (*Aedes aegypti*; *Aedes taeniorhynchus*) зэрэг шавжид хазуулж халдвар авах боломжтой. Халдвар авсан амьтан 24 цагийн дотор үхдэг тул ихэвчлэн үхсэн байдалтай олдоно. Хүрээлэн буй орчныг боомын үрэнцрээр бохирдуулахгүйн тулд боом өвчнөөр үхсэнд сэжиглэж байгаа амьтны хүүрт задлан шинжилгээ хийхийг зөвлөдөггүй бөгөөд үрэнцэр үүсэхээс сэргийлж ам, хамар, хошного зэрэг биеийн сүвийг бөглөнө (жишээ нь зөвшөөрсөн халдваргүйжүүлэгчид дүрсэн хөвөн эсхүл бусад тохирох материалаар бөглөж болно). Ихэнх улс оронд боом өвчнөөр үхсэнд сэжиглэж байгаа амьтны хүүрт задлан шинжилгээ хийхийг хориглосон байдаг. Дөнгөж үхсэн амьтанд эмгэг хувирал янз бүрээр илрэх боловч аль нь ч уг өвчний өвөрмөц хэв шинжит хувирал болж өгдөггүй эсхүл бүрэн нийцдэггүй.

Хамгийн нийтлэг ажиглагддаг эмгэг хувирал нь түгмэл цус үжил бөгөөд үүнийг ихэвчлэн дэлүү томорч биелэг байдал нь “бөөрөлзгөнийн чанамал” шиг болох, цусны бүлэгнэл муудах эмгэг хувирал дагалдана. Үхэх үед хамар, ам, үтрээ, хошноогоос цус гоожсон байж болно.

Грамм-ээрэг савханцар хэлбэртэй *B. anthracis* нь жинхэнэ эмгэг төрүүлэгч юм. *Bacillus*-ын бусад зүйлийн ихэнх нь хүрээлэн буй орчинд өргөн тархсан сапрофитүүд боловч зарим нь, ялангуяа *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. subtilis* хүнд хоолны хордлого үүсгэх, хүн, мал амьтны аль алинд эмнэл зүйн бусад шинж тэмдэг үзүүлэхтэй холбоотой байдаг.

1. Зоонозын эрсдэл, био аюулгүй байдлын шаардлага

Хүний боом өвчний 95%-аас илүү тохиолдол арьсны хэлбэрээр илрэх ба мал, амьтны халдвартай гулууз, тэрхүү гулуузнаас бэлтгэсэн арьс, шир, мах эсхүл ясаар дамжин халдварлана. *Bacillus anthracis* нь биеийн эдэд шууд бус буюу гэмтлээр орж халдварлана. Малын эмч болон мал, амьтантай харьцдаг бусад хүн боом өвчний сэжигтэй хүүрээс сорьц авахдаа бээлий, бусад хамгаалах хувцас (тухайн нөхцөл байдлаас хамаарч хувийн хамгаалах иж бүрдэл хувцас, хэрэгсэл) өмсөж өөрийгөө хамгаалах ба нүүр эсхүл нүдэндээ хүрч болохгүй. Хүн боом өвчний халдвартай мал, амьтны мах идсэн тохиолдолд боом өвчний ходоод-гэдэсний хэлбэрээр өвчлөх эрсдэлтэй.

Бараа бүтээгдэхүүн үйлдвэрлэх зорилгоор мал, амьтны дайвар бүтээгдэхүүн боловсруулах ажлын байранд ажиллагч халдвар үүсгэх (үйлдвэрийн боом) хэмжээний үүсгэгчээр амьсгалах эрсдэл өндөр байдаг. Үүнд арьс шир, үс, ноос боловсруулах үйлдвэр, хивсний үйлдвэр, яс боловсруулах үйлдвэр, түүнчлэн халдварт өртөх эрсдэлийг ихэсгэдэг боомын их хэмжээний үрэнцэр агаарт дэгдэх боломжтой бусад үйлдвэр багтана. Иймээс үйлдвэрийн ажилтнууд хувийн хамгааллын зохих хувцас, хэрэгсэл ашиглаж, халдвар дамжих эрсдэлийг дээд зэргээр бууруулах стандарт ажиллагааны зааврыг мөрдөн ажиллах нь чухал. Агаар сорох төхөөрөмжийг үс, ноос түүх, сэмлэх, самнах, ээрэх машины дээд хэсэгт байрлуулах хэрэгтэй. Боомын үрэнцэр тарах эрсдэлтэй тул багаж хэрэгслийг цэвэрлэхэд сэнсээр үлээгч машин огт ашиглаж болохгүй.

B. anthracis-ын эмнэл зүйн сорьц, өсгөөртэй ажиллахдаа биологийн эрсдэлийн дүн шинжилгээнд тулгуурлан тогтоосон биоаюулгүйн болон тусгаарлалтын тохирох арга ажиллагааг баримтална (Бүлэг 1.1.4 *Биохамгаалал, биоаюулгүй байдал: Мал эмнэлгийн лаборатори, мал, амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандартыг* үз). Лабораторийн ажилтнуудыг вакцинжуулалтад хамруулах нь зохистой.

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Боом 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)						
Бүрээс (капсул) илрүүлэх	–	–	–	++	–	–
Бактерийн хөдөлгөөнгүй шинжийг тодорхойлох	–	–	–	++	–	–
Гамма фагийн задрал	–	–	–	++	–	–
Пенициллинд мэдрэмтгий чанар	–	–	–	++	–	–
Бодит цагийн ПГУ	–	–	–	++	+++ / ++	–

Түлхүүр үг:

- +++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
- ++ энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
- + = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
- = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй;
- ПГУ = полимеразагийн гинжин урвал;

^(a)Үүсгэгчийг ялган таних төрөл бүрийн шинжилгээг эмнэл зүйн нэг ижил сорьцод хийхийг зөвлөдөг.

1. Үүсгэгч илрүүлэх

Боомын халдвараар үхээд удаагүй амьтны цус эсхүл эдийн түрхцэд бүрээсжсэн *B. anthracis*-ыг харж илрүүлэх, цустай агартай аяганд үүсгэгчийг өсгөвөрлөх нь харьцангуй хялбар, нян судлалын ихэнх лабораторид хийж болох шинжилгээ юм. Өвчний үүсгэгч бактери үхэлд хүргэх хэмжээнд цусаар тархсаны шинж тэмдэг ихэнхдээ мэдэгддэггүй гахай болон махчин амьтны боом өвчний тохиолдолд эсхүл үхэхийн өмнө нь антибиотик олгосон мал, амьтанд оношлох шинжилгээ хийхэд бэрхшээл учирна.

Ялзарч муудсан хүүр, боловсруулсан эд (ясны гурил, арьс шир) эсхүл орчны дээж (бохирдсон хөрс)-ээс *B. anthracis*-ыг илрүүлэх нь ихэвчлэн төвөгтэй байдаг бөгөөд ихээхэн хүч хөдөлмөр шаардана. Гэсэн хэдий ч үхсэн мал, зэрлэг амьтны самалдаг яснаас амьд үрэнцрийг удаан хугацааны туршид илрүүлэн ялгах боломжтой (М. Hugh-Jones ам мэдээ).

1.1. *Bacillus anthracis*-ыг өсгөвөрлөх, ялган таних

1.1.1. Шинэ дээж

Bacillus anthracis ихэнх төрлийн мах пептоны агар (МПА) дээр сайн ургадаг боловч адуу эсхүл хонины 5–7%-ийн цустай агарыг оношилгооны үндсэн тэжээлт орчноор сонгоно. Шинжилгээнд хэрэглэх эмнэл зүйн үндсэн сорьц нь цус юм. Цус, биеийн бусад шингэний арчдас эсхүл эд, эрхтэнд зүсэлт хийж авсан арчдасыг аяганд цутгасан цустай агар дээр тараана. 37°C-д хонуут инкубацласны дараа үүссэн *Bacillus anthracis*-ын колони цайвар саарлаас цагаан өнгөтэй, 0.3–0.5 см голчтой, цус задлаагүй, бүүдгэр шил шиг гадаргуутай, тарилтын гогцоогоор хөндөхөд маш наалдамтгай байна. Заримдаа бүгд эх колони руу нэг зүгт чиглэсэн, илт мушгирсан утаслаг маягийн ургалт ажиглагдана. Энэ шинж чанарыг харагдах байдлаар нь “медузийн толгой” эсхүл “буржгар үс” мэт гэж зүйрлэн нэрлэдэг байна. Цустай орчинд бүрээсжиж үрэнцэр үүсгэсэн, грам-ээрэг савханцрыг илрүүлэх замаар *B. anthracis*-ыг баталгаажуулна. Бактерийн хөдөлгөөнгүй шинжийг нэмэлт шинжилгээгээр тодорхойлж болно.

Боом өвчинд өвөрмөц фагийг анх 1950 онд ялган авсан бөгөөд гамма фаг гэж оноон нэрлэсэн фагийг 1955 онд анх зарлаж (Brown & Cherry, 1955) удалгүй боомын стандарт оношилгооны фаг болжээ. Боомын ойр хамааралтай фагийн овогт гамма фаг багтдаг (Дэлхийн эрүүл мэндийн байгууллага [WHO], 2008).

B. anthracis болохыг баталгаажуулах хоёр шинжилгээнд гамма фагийн задралыг болон пенициллинд мэдрэмтгий чанарыг тодорхойлох арга орно. Эдгээр шинжилгээний ердийн арга зүй нь цустай агар эсхүл МПА-тай аяганы гадаргуугийн нийт талбай дээр сэжиг бүхий *B. anthracis*-ыг тараан тарьж, фагийн цийдмэгээс 10–15 мкл дуслыг нэг талд, 10 нэгж пенициллин зээрэнцгийг нөгөө талд байрлуулна. Аягыг 37°C-д инкубацлахын өмнө агарт фагийн цийдмэгийн дусал бүрэн нэвчих хүртэл хүлээнэ. Штерн омгийн вакцин эсхүл НСТС-ийн 10340 омгийг хяналтын өсгөврөөр ашиглаж сэжиг бүхий өсгөвөртэй хамт шалгаж гамма фагийн задрал болон пенициллинд мэдрэмтгий чанарын урвалаар илрэх үр дүнг жишнэ. Хэрэв сэжиг бүхий өсгөвөр *B. anthracis*-ынх мөн бол фаг хийсэн хэсгийн бактерийн ургалт задралын улмаас зогсох ба пенициллинм зээрэнцгийн эргэн тойронд антибиотикт мэдрэмтгий чанарыг илтгэх тод бүс үүснэ. *B. anthracis*-ын ялгаж авсан зарим хээрийн омог фагт эсхүл пенициллинд тэсвэртэй байж болохыг анхаарах хэрэгтэй. Гамма фагийн задралын урвалд бактерийн нягтшил нөлөөлж болох тул Абшир нар (2005) сэжиг бүхий өсгөврийн аяганы нийт талбайд тараан тарих аргын оронд түүний талбайг 4 хуваасны хэд хэдэд хэсэгт таталт хийж тариад эхний болон хоёрдох хэсэгт гамма фагийн дусал тарихыг зөвлөсөн байна. Хэрэв *B. anthracis*-ыг антибиотик эсхүл фагт тэсвэртэй байна гэж сэжиглэх тохиолдолд полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ)-ын оношилгооны аргыг хэрэглэж болно.

Фагийн цийдмэгийг мал эмнэлгийн төв лаборатори эсхүл нийтийн эрүүл мэндийн төв лабораториос олж авч болно.

Фагийг дараах арга зүйн дагуу үржүүлж, өтгөрүүлж болно. Фагийг 2–4°C-д хадгалах ба хөлдөөхөд хурдан үхдэг тул хөлдөөж болохгүй.

1.1.1.1. 1-р шат

- i) *B. anthracis*-ын Штерн омгийн вакциныг цустай агар бүхий аяганы гадаргууд тараана. 37°C-д хонуут инкубацлана.
- ii) Цустай агар бүхий аяганы өсгөврийг 10 мл орчим мах пептоны шөл (МПШ)-д тарина. 37°C-д ойролцоогоор 4 цаг эсхүл тунадас үүсэж эхлэх хүртэл инкубацлана. Дараа нь хөргүүрт тавина.
- iii) Урьдчилан хатаасан цустай агар бүхий гурван аяганд ii-д гаргаж авсан өсгөврөөс 100 мкл-ийг тарааж, 37°C-д 30-60 минут инкубацлана.
- iv) Эдгээр аяганы гадаргууд олшруулах фагийн цийдмэгээс 100 мкл-ийг тарааж, 37°C-д хонуут инкубацлана.
- v) Цустай агар бүхий аяга дахь фагаар задалсан өсгөврийг 5 мл МПШ-д хураан авсны дараа 5 мл МПШ-өөр хоёр дахь “угаалт”-ыг хийнэ. 37°C-д хонуут инкубацлана.
- vi) 0.45 μм-ийн шүүлтүүрээр шүүж, давсны уусмалд 10 дахин шингэлсэн шүүдэснээс 20 мкл дуслыг (шингэлэлт бүрд 3 дусал) iii-д бэлтгэсэнтэй адил *B. anthracis*-ын тарааж ургуулсан өсгөвөр дээр дусааж тоолно.

1.1.1.2. 2-р шат

Энэ шат нь vi-аас эхлэн аяганаас фагийг хурааж авах хүртэл шүүдсийг хэрэглэхээс бусдаар 1-р шаттай ижил.

- vii) iii-д заасантай адил цустай агар бүхий гурван аяганд Штерн омгийг тарааж бэлтгэнэ. 37°C-д 30-60 минут инкубацлана.
- viii) vi-д заасны дагуу бэлтгэсэн фагаас 100 мкл-ийг авч тараана. 37°C-д хонуут инкубацлана.
- ix) c-д заасны дагуу бэлтгэсэн 9 мл шүүдэс дээр 10× МПШ-өөс 1 мл-ийг нэмнэ.
- x) viii-д заасны дагуу бэлтгэсэн фагийг хурааж ix-д бэлтгэсэн 5 мл уусмалд хийсний дараа vi-д бэлтгэсэн 5 мл үлдэгдэл уусмалаар хоёр дахь угаалтыг хийнэ.
- xi) 1× МПШ-өөс 10 мл-ийг нэмнэ.
- xii) 37°C-д хонуут инкубацласны дараа шүүж, тоолно.

1.1.1.3. 3-р шат

- xiii) ii-д бэлтгэсэн өсгөврөөс 2.5 мл орчмыг авч 100 мкл тархи-зүрхний хандтай шөлөнд тарина. Эргэлдүүлэн холигч дээр тавьж 37°C-д булингар үүстэл инкубацлана.
- xiv) xii-д бэлтгэсэн шүүдсээс 20 мл-ийг нэмж үргэлжлүүлэн хонуут инкубацлана.
- xv) Гарсан шүүдсийн ариун чанарыг шалгаж, фагийн төвшрүүлгийг тогтоохын тулд vi-д заасантай адил вакцины омгийн тарааж ургуулсан өсгөвөр дээр 10 дахин шингэлэлтээр титрлэнэ. Энэ нь нэг мл тутамд ойролцоогоор 10^8 – 10^9 толбо үүсгэх нэгж (PFU) байна.

1.1.2. Бүрээс харах

Боомоор өвчилж үхсэн мал, амьтны эд, цус, биеийн бусад шингэнд хоруу чанартай, бүрээсжсэн *B. anthracis* агуулагддаг. Чихний эсхүл бусад захын хураагуур судаснаас авсан цуснаас, эсхүл ам, хамар зэрэг биеийн сүвний гоождосноос, адуу, гахайны хувьд хавангийн шингэнээс эсхүл хүзүү орчмын ил харагдах тунгалгийн зангилаанаас нимгэн түрхэц бэлтгэнэ. Гэхдээ мал, амьтан үхсэнээс хойш 24 цаг өнгөрсөн тохиолдолд бүрээс илрүүлэхэд төвөгтэй байж болно. Эдгээр дээжийн түрхцийг хатааж дараа нь халааж эсхүл 95–100%-ийн спиртэд 1 минут дүрж агаарт хатаан бэхжүүлж полихром метилений хөхөөр (МакФадений урвал) будсаны дараа бактерийг харна. Бүрээс ягаан өнгөөр будагддаг бол савханцар хар хөхөөр будагдана. Боомын савханцар хосоор эсхүл богино гинж үүсгэн холбогдсон байх ба ихэвчлэн тэгш өнцөгт төгсгөлтэй харагдана. Грамын болон гимзийн будгаар будахад бүрээс илрэхгүй. *B. anthracis*-ыг агаартай орчинд МПА эсхүл МПШ-д ургуулахад түүний бүрээс харагдахгүй боловч хоруу чанартай бактерийг хэдхэн мл цусанд (адуу эсхүл хонины *фибриногений* цус хамгийн тохиромжтой) цөөхөн цаг өсгөвөрлөхөд бүрээс нь харагдана. Энэ аргын оронд хоруу чанартай *B. anthracis*-ыг 0.7%-ийн натрийн бикарбонаттай МПА-т CO_2 (20%-тай байхад хамгийн тохиромжтой ч лаатай сав байхад хангалттай) бүхий орчинд инкубацлан өсгөвөрлөхөд бүрээс үүснэ. МПА-ыг эцсийн эзлэхүүн нь 100 мл байхаар тооцож МПА-ын суурь нунтгийг жинлэж бэлтгэх ба жинлэн авсан агарыг 90 мл усанд уусган сэргээнэ. Автоклавдсаны дараа усан ваннад 50°C хүртэл хөргөнө. Шүүлтүүрээр ариутгасан (0.22–0.45 мкм шүүлтүүр) натрийн бикарбонатын 7%-ийн уусмалаас 10 мл-ийг нэмж хольсны дараа Петрийн аяганд цутгана. Бүрээсжсэн *B. anthracis* салслаг наалдамхай колони үүсгэх ба микроскопын тавиур шил дээр нимгэн түрхэц бэлтгэн бэхжүүлж полихром метилен хөхөөр (МакФадений будаг) будаж бүрээсийг харна.

Полихром метилений хөхийг дараах аргаар бэлтгэнэ: 95%-ийн 30 мл этанолд 0.3 г метиленхөхийг уусгасны дараа 0.01%-ийн 100 мл калийн гидроксид (KOH) нэмж холино. Энэ холимог бүрэн исэлдэж, хэрэглэж болох хүртэл наад зах нь 1 жил шаардлагатай бөгөөд энэ хугацаанд холимгийг агаартай орчинд үе үе сэгсэрч байлгана. Энэ явцыг хурдасгахын тулд K_2CO_3 (эцсийн төвшрүүлэг 1% хүртэл) нэмж болох боловч оношилгоонд хэрэглэхэд найдвартай гэж үзэхээс өмнө түүний үр нөлөөг өмнө нь бэлтгэсэн, ажиллаж байгаа будгийн цувралтай зэрэгцүүлэн батлагдсан дээжийг шинжилж үзнэ. Адууны цусанд зориуд өсгөвөрлөсөн *B. anthracis*-ын өсгөврийг будахад эерэг урвал үзүүлдэг будаг хээрийн дээж будахад эерэг дүн үзүүлэхгүй байх тохиолдол заримдаа гардаг болох нь тогтоогдсон байна.

Бүрээс харах аргыг Оуэн нар тодорхойлсны дагуу шинэчилсэн (2013) бөгөөд энэ өөрчлөлт нь үхсэн амьтны цус эсхүл эдийн түрхцийг полихром метилийн хөхөөр будах энгийн арга (МакФадений урвал)-ыг номин цэнхэр В (azure В)-ээр будах аргаар сольсонд оршино. Боом өвчинтэй тэмцэх ажил сайжирснаар дэлхий даяар энэ өвчин ховор тохиолдох болсон нь худалдааны зориулалтаар чанарын хяналт дор үйлдвэрлэсэн полихром метилен хөх будаг олж авахад бэрхшээлтэй болсныг тэмдэглэх нь зүйтэй. Үүнээс гадна метилийн хөх суурьтай өөр будгууд хэрэглэснээр төдийлөн сайн үр дүн гарахгүй байгаа тухай мэдээлж байгаа нь анхаарах асуудал болоод байна. Иймд үүсгэгчийг түргэн илрүүлэх МакФадений найдвартай будаг хэрэгтэй байгаа лабораториуд худалдааны цэвэр номин цэнхэр В будаг ашиглахыг зөвлөж байна (Owen нар, 2013).

Бичил харуурын энэ аргыг хэрэглэн Амину нар хээрийн сорьцоос бэлтгэсэн цусны түрхцэд *B. anthracis*-ыг илрүүлж баталгаажуулсан байна (2020). Боом өвчнөөр үхсэн гэж сэжиглэсэн малын хүүрт хийсэн магадлах шинжилгээгээр бүрээс будах дөрвөн аргад үнэлгээ хийжээ. Хээрээс бэлтгэсэн цусны сорьцыг бичил харуурын аргаар шинжилсэн үр дүнгээс үзэхэд номин цэнхэр В будгийг ашигласан шинжилгээ нь зөвлөсөн стандарт болох полихром метилен хөхтэй харьцуулахуйц дундаж мэдрэх болон өвөрмөц чанартай болохыг харуулсан байна (Амину нар, 2020).

Номин цэнхэр В будгийг бэлтгэхдээ 3 мл 95%-ийн этилийн спирт эсхүл метанолд 0.03 г номин цэнхэр В-ийг уусгаж, дараа нь 10 мл 0.01%-ийн КОН нэмнэ (номин цэнхэр В-ийн эцсийн төвшрүүлэг 0.23% байна). Үүнийг бэлтгэсэн даруйдаа болон шинжилгээний туршид ашиглаж болно. Бэлтгэсэн будгийг харанхуй газар тасалгааны хэмд хадгалахад наад зах нь 12 сар тогтвортой байна. Будах түрхцийг халуунаар бус харин этанол эсхүл метанол (95-100%)-оор

бэхжүүлэх ба таван минут будсаны дараа угаавал хамгийн сайн үр дүнд хүрнэ (Owen нар, 2013).

Будах түрхцийг бэлтгэхэд цус эсхүл эдийн шингэний багахан дусал шаардлагатай бөгөөд нимгэн, бага хэмжээтэй түрхэц хамгийн сайн. Түрхцийг бэхжүүлж (халааж эсхүл 95–100%-ийн спиртэд 1 орчим минут дүрэхийн аль нэгээр) хатаасны дараа түрхэц дээр жижиг дусал (20 мкл орчим) будаг дусааж тарилтын гогцоогоор тараана. Нэг минутын дараа будгийг усаар угааж үлдэгдэл шингэнийг шингээн авч агаарт хатаан эхлээд $\times 10$ дурандуураар харахад савханцрын богино гинж богинохон үс шиг харагдана; энэ богино гинжийг иммерсийн тос ашиглаж харах ($\times 1000$) бөгөөд хөх/хараар будагдсан савханцрыг тойрон хүрээлсэн ягаан өнгийн бүрээс харагдана. Лабораторийн бохирдлоос сэргийлж тавиур шил, шингэн уугч цаасыг автоклавдах эсхүл натрийн гипохлоритын 10%-ийн уусмалд хэдэн цаг байлгана.

1.1.3. Бусад сорьц

Хуучирсан, ялзарч муудсан сорьц, боловсруулсан материал, түүнчлэн хөрс зэрэг орчны дээжээс *B. anthracis*-ыг ялган тодорхойлох боломжтой ч эдгээр дээж сонгомол бус агарт түрэн ургаж *B. anthracis*-ыг халхалдаг сапрофитүүдээр бохирдсон байдаг. Дараах аргыг зөвлөдөг:

- i) Дээжийг 2 хэсэг эзлэхүүн ариун нэрмэл эсхүл ионгүйжүүлсэн устай хольж $62.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ -д 15–30 минут усан халаагуурт тавина. Тернбулл нар (2007) дулаанаар идэвхжүүлэхдээ 60 – 70°C -д 15–30 минутаас хэтрүүлэхгүй байлгавал үрэнцрийг илрүүлэн ялгахад сайн нөлөөлдгийг тогтоожээ.
- ii) Дараа нь 10^{-2} эсхүл 10^{-3} хүртэл 10 дахин шингэлэлт бэлтгэнэ. Шингэлэлт тус бүрээс 10–100 мкл-ийг цустай агарт, боломжтой бол 250–300 мкл-ийг PLET агар (полимиксин, лизоцим, EDTA [этилен диамин тетра цууны хүчил], цуу хүчлийн талли) дээр тарааж тарина (Knisely, 1966; WHO, 2008). Бүх аягыг 37°C -д инкубацлана. Цустай агарт суурилсан тэжээлт орчныг хэрэглэх нь давуу талтай. Үүнээс гадна PLET агар хортой цуу хүчлийн талли агуулдаг. Энэ агарын оронд TSPB агар гэж нэрлэгддэг цустай агарыг хэрэглэж болох ба уг агарт триметоприм, сульфаметоксазол, полимиксин В нэмсэн байдаг тул Грам-сөрөг бактерийг сонгомлоор сайн өсгөвөрлөдөг (Hudson нар, 2007; Rosenblatt & Stewart, 1974). TSPB агарыг 40 г/литр МПА-ын суурийг (жишээ нь: SIFIN) уусгах замаар бэлтгэнэ. Энэ холимгийг автоклавдаж, 45°C хүртэл жигд хөргөсний дараа 50 мл/литр хонины ариун цус (5%), триметоприм (13.1 мг/литр), сульфаметоксазол (20 мг/литр), полимиксин В (30,000 ОУН/литр) нэмнэ. Агарыг сайтар хольсны дараа Петрийн аяганд цутгана.
- iii) Цустай агарын хавтанг хонуут байлгасны дараа энгийн колонийг дээр дурдсантай адил шалгах бол PLET агарын хавтанг 40–48 цагийн дараа шалгана. *B. anthracis*-ын сэжиг бүхий колонийг дээр дурдсан аргаар шалгаж баталгаажуулна.

PLET тэжээлт орчныг (Knisely, 1966; WHO, 2008) 0.25–0.3 г/литр EDTA, 0.04 г/литр цуу хүчлийн талли нэмж үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу зүрхний хандтай агар (DIFCO)-ын суурийг ашиглан бэлтгэнэ. Холимгийг автоклавдаж 50°C хүртэл нэгэн жигд хөргөсний дараа 30,000 нэгж/литр полимиксин, 300,000 нэгж/литр лизоцим нэмнэ. Сайтар хольсны дараа агарыг Петрийн аяганд цутгана.

ПГУ-аар хөрс болон орчны бусад сорьцод *B. anthracis*-ыг шууд илрүүлэх аргын талаар мэдээлэл гарсаар байна. Одоогийн байдлаар эдгээр аргын алийг нь ч тогтмол хэрэглэхгүй байна.

Бусад боломжтой аргаар *B. anthracis*-ыг ялгаж чадаагүй бол амьтанд халдвар хийх аргыг авч үзнэ. Энэ аргыг жишээлбэл үхэхээс нь өмнө антибиотикийн эмчилгээ хийсэн амьтны сорьц эсхүл бактерийн үрэнцэр үүсэлтийг саатуулагч химийн бодис агуулсан орчны дээжийг шинжлэх тохиолдолд хэрэглэж болно. Биологийн шинжилгээг амьтанд хийхээс татгалзах асуудлыг ихээхэн анхаарч байгаа учраас энэ аргыг зөвхөн зайлшгүй тохиолдолд л эцсийн арга болгон хэрэглэнэ. Бие гүйцсэн хулгана эсхүл усан гахайг халдвар хийх амьтнаар сонгоно. Хэрэв хөрсний дээж бол халдвар хийхийн өмнөх өдөр амьтанд зогсоо өвчний эсрэг ийлдэс болон хийт үхжилийн эсрэг ийлдэс аль алиныг нь урьдчилан тарина. Дээжийг дээр дурдсан өсгөвөрлөх аргын адилаар бэлтгэн 62.5°C -д 15 минут дулаанаар үйлчилнэ. Хулганад арьсан дор 0.05–0.1 мл-ээр, усан гахайн 0.4 мл хүртэл (гуяны булчинд 0.2 мл) булчинд тарина. *B. anthracis* байгаа бол амьтан 48–72 цагийн дотор үхэх ба цуснаас энэ бактерийг дээр дурдсантай адил өсгөвөрлөх боломжтой.

1.2. Дархлаа судлалын аргаар илрүүлэх, оношлох

B. anthracis эсрэгтөрөгчийн хувьд хүрээлэн буй орчны хэвийн бичил биетний бүрэлдэхүүнд багтдаг, өргөн тархалттай *B. cereus*-тэй маш ойр хамааралтай гэдгийг санах хэрэгтэй. Өсгөвөрлөлтийн хамгийн эрчимтэй шугаман өсөлтийн явцад үүсдэг боомын хор, үүнээс гадна *B. anthracis*-ын бүрээс хоёр бол дархлаа судлалын аргаар дээрх хоёр зүйл бактерийг хооронд нь ялгаварлах боломж олгодог, бас өөр

хоорондоо ялгаатай эсрэгтөрөгчүүд юм. Энэ онцлогоос хамааран боом өвчний үүсгэгчийг илрүүлэх тогтмолжсон шинжилгээнд ашиглаж болох дархлаа судлалын аргын хүрээ нэлээд хумигдмал байдаг.

1.2.1. Асколийн сорил

Асколи (1911) дайвар бүтээгдэхүүний үйлдвэрлэлд ашиглаж байсан амьтны эдэд боом өвчний дулаанд тэсвэртэй эсрэгтөрөгчийг илрүүлэх аргын талаар нийтэлжээ. Энэ нь туулайд үүсгэсэн эсрэг ийлдсийг ашиглан тунадасжих урвал явуулах арга юм. *B. anthracis*-ын дулаанд тэсвэртэй эсрэгтөрөгч бусад зүйлийн *Bacillus*-д ч бас үүсдгээс энэ сорилын өвөрмөц чанар сул байдаг бөгөөд энэ нь амьтанд зөвхөн *B. anthracis* дангаараа үржсэн байх, эерэг урвал үзүүлэхэд хангалттай эсрэгтөрөгч хуримтлагдсан байх магадлалаас хамаарна. Энэ сорилыг зөвхөн Зүүн Европын улсууд хэрэглэж байна.

Асколийн урвал тавихын тулд 1/100 эцсийн төвшрүүлэгтэй цууны хүчил агуулсан физиологийн 5 мл уусмалд 2 г орчим дээж хийж 5 минут буцалгана. Үүссэн уусмалыг хөргөөд шүүлтүүрийн цаасаар шүүнэ. Цөөн хэдэн дусал туулайн эсрэг ийлдсийг (бэлтгэх аргыг дор дурдав) сорилын жижиг цодонд дусаана. Шүүдсийг эсрэг ийлдэс дээр аяархан нэмж үелүүлнэ. Эерэг урвалтай бол 15 минутын дотор нүдэнд харагдах тунадасжилтын зурвас үүснэ. Эерэг ба сөрөг хяналтын цийдмэг дээжийг хамт шинжилнэ.

Туулайд Штерн омгийн боомын вакциныг 1 ба 14 дэх хоногт арьсан дор тарьж эсрэг ийлдэс бэлтгэнэ. 28 ба 35 дахь хоногт физиологийн уусмалд цийдмэгжүүлсэн 10^5 колони-үүсгэх нэгж (КҮН)/мл-ээс ихгүй хоруу чанартай *B. anthracis*-ын хэд хэдэн омгийн холимгоос 0.5 мл-ийг туулайд олгоно. Өөр нэг арга нь хоруу чанартай амьд бактерийг 0.2%-иар формалинжуулсан физиологийн уусмалд удаан хугацаагаар цийдмэгжүүлэх замаар идэвхгүйжүүлнэ. Гэхдээ эсрэгтөрөгчийн массыг 10^8 - 10^9 КҮН/мл хүртэл нэмэгдүүлэх шаардлагатай. Цийдмэгийг амьтанд тарихаас өмнө түүнд агуулагдах *B. Anthracis* идэвхгүй болсон эсэхийг 0.1% гистидин агуулсан 100 мл МПШ-д 0.1 мл-ээр өсгөвөр хийж, 37°C-д 7 хоног өсгөвөрлөсний дараа цус эсхүл МПА-д сэлгэн өсгөвөрлөж шалгана. Формалинжуулсан цийдмэгийг 1 ба 14 дэх хоногт хийсэн эхний вакцинжуулалтын дараа 4-5 хоногийн завсарлагатайгаар хураагуур судсаар тунг нэмэх байдлаар буюу 0.1; 0.5; 1; 2 мл тунгаар тарина. Аль ч аргын дараа сүүлчийн тарилга хийснээс хойш 10 хоногийн дараа цус авч шинжлэн тунадасжилтын титрийг нэмэхээр дахин 2 мл тун хийх шаардлагатай эсэхийг тогтооно.

1.2.2. Иммунофлюоресценц

Судалгааны ажлын хүрээнд иммунофлюоресценцийн аргыг бактерийн бүрээс илрүүлэхэд ашиглах талаар тодорхой амжилтад хүрсэн ч (Ezell & Abshire, 1996) түүнийг тогтмолжсон оношилгооны ажилд хэрэглэх түвшинд хараахан хүрээгүй байна.

1.3. Полимеразагийн гинжин урвалаар хоруу чанарыг баталгаажуулах

Полимеразагийн гинжин урвалаар хоруу чанарыг баталгаажуулж болно. Дараах зааврыг ДЭМБ-аас авав (2008). МПА-д өсгөвөрлөсөн *B. anthracis*-ын шинэ колониос нэг гогцоог авч 25 мкл ионгүйжүүлсэн (эсхүл нэрмэл) ариун усанд цийдмэгжүүлж, 20 минутын турш 95°C хүртэл халааж ПГУ-ын темплат ДНХ-ийг бэлтгэнэ. Ойролцоогоор 4°C хүртэл хөргөж, хэсэгхэн зуур хурилдуурдсаны дараа дээд талын шингэн хэсгийг ПГУ-ын урвалд ашиглаж болно.

Дээж рХО1, рХО2 плазмид агуулж байгааг баталгаажуулахад тохирох праймерийн жишээг (Beyer нар, 1996; Hutson нар, 1993) дараах хүснэгтээр харуулав.

Бай	Праймерийн ялгах дугаар	Дараалал 5'–3'	Хэмжээ	Төвшрүүлэг
Хамгаалалтын эсрэгтөрөгч	РА 5 3048–3029	TCC-TAA-CAC-TAA-CGA-AGT-CG	596 bp	1 mM
	РА 8 2452–2471	GAG-GTA-GAA-GGA-TAT-ACG-GT		
Бүрээс	1234 1411–1430	CTG-AGC-CAT-TAA-TCG-ATA-TG	846 bp	0.2 mM
	1301 2257–2238	TCC-CAC-TTA-CGT-AAT-CTG-AG		

Дээрх праймер, тус бүр нь 200 μ M dATP, dCTP, dTTP, dGTP, 1.5 mM MgCl₂, 2.5 нэгж ДНХ полимераза бүгдийг нь NH₄ буферт хийж, дараа нь 5 мкл темплат ДНХ нэмж нийт 50 мкл эзлэхүүнтэйгээр ПГУ-ыг явуулна. ДНХ-ийн эдгээр жижиг хэрчимд 2%-ийн агароз гель хамгийн сайн тохирно.

Үүний оронд худалдаанд байгаа урьдчилан хольж, хэрэглэхэд бэлэн болгосон, хатаасан үрэл ашиглаж болно. Эдгээр нь тасалгааны температурт тогтвортой бөгөөд 25 мкл ПГУ-ын урвал явуулахад шаардлагатай праймер болон темплатаас бусад бүх урвалжийг агуулна.

Дараах мөчлөгөөр ПГУ-ыг явуулж болно: 95°C-д 5 минутаар 1 мөчлөг; 95°C-д 0.5 минут, 55°C-д 0.5 минут, 72°C-д 0.5 минутаар 30 мөчлөг; 72°C-д 5 минутаар 1 мөчлөг; 4°C хүртэл хөргөнө.

Дээрх хүснэгтэд өгөгдсөн праймер амьтны (хүний) сорьц эсхүл орчны дээжээс ялгасан цэвэр өсгөөрт рХО1 ба/эсхүл рХО2 байгааг баталгаажуулахад үр дүнтэй байсныг тэмдэглэж байна. Гэвч эдгээр праймер нь ийм сорьц эсхүл дээжээс *B. anthracis*-ыг шууд илрүүлэхэд тохиромжгүй байж болзошгүй. Жэксон нар (1998), Рамиссе нарын (1996) зохиосон өөр хувилбарыг сонгож болно. Ялгасан өсгөөрт ховор боловч рХО1 ба рХО2 хоёулаа дутмаг байх тохиолдолд хромосомын жиших хяналтыг электрофорезд хамт гүйлгэж шалгах ба үүнд тохирох праймерыг мөн Жэксон нар (1998) болон Рамиссе нар (1996) боловсруулжээ.

Арген нар (2013) *B. anthracis*-ын 20 хромосомын жиших хяналтад зориулсан ПГУ-д суурилсан 35 аргыг *in-silico* болон *in vitro* орчинд үнэлсэн талаар маш өргөн хүрээтэй судалгааны дүнг нийтлүүлжээ. Энэ судалгаагаар PL3 (бай: профагийн нэг хэсэг) илрүүлэх шинжилгээг (Wielinga нар, 2011) хамгийн үр дүнтэй шинжилгээний нэг бөгөөд тогтмол хийх оношилгоонд ашиглах боломжтой гэж тодорхойлжээ.

рХО1, рХО2, *Bacillus anthracis* болон бусад ойр хамааралтай *Bacillus* зүйлийн хромосомын генийг илрүүлэх илүү хурдан, мэдрэх болон өвөрмөц чанар өндөр бодит цагийн ПГУ-ын шинжилгээний аргыг боловсруулсан байна (жишээ нь Hadjinicolaou нар, 2009; Hoffmaster нар, 2002; Irenge нар, 2010; Qi нар, 2001; Rao нар, 2010). Ямар арга зүй сонгох нь ажлын зорилгод түүний нийцэх байдал, анхны хэрэглэх материалын эх үүсвэр (ялгасан өсгөөр, эмнэл зүйн сорьц, орчны дээж гэх мэт), *Bacillus*-ын бусад зүйлээс эсхүл вакцины омгоос ялгаварлах шаардлага, генетикийн ялгаатай байдлыг харуулах эсхүл өсгөврийг баталгаажуулах зэргээс хамаарна. Бодит цагийн ПГУ-ын шинжилгээ хийж байгаа лаборатори шинжилгээнийхээ гүйцэтгэлийг зорилгодоо нийцүүлэн үнэлж, түүнийг зорилгынхоо дагуу тохируулж, стандартчилсан болохыг баталгаажуулах шинжилгээг бүрэн хийж дуусгах нь чухал (1.1.6 Халдварт өвчний оношилгооны аргыг баталгаажуулах зарчим, арга бүлгийг үз).

В. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

1. Оршил

1.1. Үндэслэл, хэрэглэх зориулалт

Мал, амьтныг боом өвчнөөс хамгаалахад хамгийн өргөн хэрэглэгддэг вакциныг Штерн (1937) зохион бүтээсэн байна. Тэрээр СО₂-ийг ихэсгэсэн орчинд ийлдэст агар дээр ургуулсан өсгөврөөс хоруу чанартай *B. anthracis*-ын барзгар гадаргуутай омгийг гарган авчээ. 34F2 гэгддэг энэ омог нь бүрээс үүсгэх чадваргүй байсан бөгөөд хожим нь бүрээс үүсэлтийг кодолдог рХО2 плазмидаа гээчихсэн болохыг тогтоожээ. Энэ нь мал, амьтны боом өвчний эсрэг вакцин үйлдвэрлэхэд дэлхий даяар хамгийн өргөн хэрэглэгддэг омог болсон байна. Эдүгээ Төв болон Зүүн Европын мал сүрэгт хэрэглэж байгаа вакцины үндсэн найрлага нь рХО2⁻-тэй адилхан үүсгэмэл омог-55 юм. Мал, амьтанд хэрэглэх боом өвчний вакцин үйлдвэрлэгчдийн жагсаалтыг ДЭМБ-ын 5-р хавсралтад оруулсан байна (2008).

Мишра (1991) болон ДЭМБ-ын (1967) бүтээлд тулгуурлан мал, амьтанд хэрэглэх боом өвчний вакцин бэлтгэх мэдээллийг доор дурдав. Энэ мэдээлэлд ерөнхий арга ажиллагааг оруулсан бөгөөд тухайн орон нутагт тохирох стандарт ажиллагааны зааврын талаар үндэсний эрх бүхий холбогдох байгууллагатай зөвлөлдөх хэрэгтэй.

2. Уламжлалт вакцин үйлдвэрлэлийн тойм, тавигдах шаардлага

2.1. Эх омгийн шинж чанар

2.1.1. Биологийн шинж чанар

Боомын вакциныг эх омгийн бэлдцэд суурилан үйлдвэрлэнэ. Эх омгийн бэлдэц гэдэг нь нэг удаагийн боловсруулалтаар нэгэн жигд найрлагатай болгоод вакцин бэлтгэх зорилгоор хадгалж байгаа үрэнцрийн тоо хэмжээ юм. Эх омгийн бэлдэц бүр үндсэн эх өсгөврөөс гурваас илүү зорчуулаагүй өсгөөр байх бөгөөд түүнийг ашиглаж үйлдвэрлэсэн вакциныг мал, амьтанд хэрэглэхэд үр нөлөөтэй, аюулгүй байх ёстой. Үндсэн эх омгоос эх омгийн бэлдцийг их хэмжээгээр бэлтгэж, цаашдын үйлдвэрлэлийн цувралд зориулан хөлдөөн хатааж хадгалахыг зөвлөдөг. Үндсэн эх өсгөврийг худалдан авч болно¹.

¹ Эрүүл мэндийг хамгаалах агентлаг, Өсгөврийн сан; Эрүүл мэндийг хамгаалах агентлаг, Микробиологийн үйлчилгээ, Англи улс, Салисбури хот SP4 0JG (<http://www.hpacultures.org.uk/>)

2.1.2. Чанарын шалгуур

Хэрэв эх омгийн бэлдцээс бэлтгэсэн вакцин эсхүл эх омгийн бэлдцээс ургуулсан өсгөврөөс хураан цуглуулсан цийдмэг нь бактерийн бохирдолгүй, аюулгүй чанар, үр нөлөө (дархлаа төрүүлэх идэвх)-ний хувьд эцсийн нийлүүлсэн вакциныг хянаж шалгахад тавьдаг шаардлагыг хангаж байвал эх омгийн бэлдцийг боом өвчний вакцин үйлдвэрлэхэд хэрэглэхийг зөвшөөрнө.

2.2. Үйлдвэрлэлийн арга

2.2.1. Үйлдвэрлэлийн явц

i) Үндсэн эх омгийг бэлтгэх

Бактерийн үрэнцэр үүсэлтийг дэмжих найрлагатай хатуу тэжээлт орчинд эх омгийн бэлдцийг өсгөвөрлөнө. Мишрагийн (1991) казейн задлах агар (үрэнцэр үүсгэх агар)-аар хэрэглэх хатуу тэжээлт орчны найрлага нь: 50 г трипсинээр задалсан казейн; 10 г хөрөнгөний ханд; 0.1 г $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0.01 г $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0.05 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0.03 г $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 5.0 г K_2HPO_4 ; 1.0 г KH_2PO_4 ; 22 г агар; 1000 мл ионгүйжүүлсэн эсхүл нэрмэл уснаас бүрдэнэ. Эдгээр орцыг тохирох температурт халаасан усанд уусгана; уусмалын орчныг pH 7.4 болгон тохируулсны дараа өсгөврийн колбод (колбо бүрд 120 мл) эсхүл бусад тохирох саванд хийж автоклаваар ариутган хэвтээ байрлалд тавьж хөргөнө. Агар хатуурсны дараа илүүдэл шингэнийг үжилгүйжүүлэх аргыг мөрдөн зайлуулж өсгөврийн колбыг инкубаторт (37°C) 2-оос доошгүй хоног байлган хатааж, ариун чанарыг шалгана.

Вакцины эх омгийн 2 мл эзлэхүүнийг өсгөврийн Ру колбо дахь агар дээр тарааж, наад зах нь 80% үрэнцэр үүсэх хүртэл 37°C -д инкубацлана (хамгийн багадаа 72 цаг). Үжилгүйжүүлэх аргыг мөрдөн өсгөврөөс тарилтын гогцоог дүүргэн авч бичил дурангаар харж үрэнцэр үүсэлтийг шалгана. Өсгөврийг тус бүрдээ 10 мл ионгүйжүүлсэн эсхүл нэрмэл ариутгасан ус агуулсан саванд хураан авч цэвэршилтийг шалгана. Эцсийн цийдмэгийг ионгүйжүүлсэн эсхүл нэрмэл ариутгасан усаар гурван удаа угаасны дараа бас ионгүйжүүлсэн эсхүл нэрмэл ариутгасан усанд хийж ариутгасан тогтворжуулагч нэмсний дараа хөлдөөн хатаах зориулалттай цодонд тараан хийж хөлдөөж хатаана.

Вакцины сулруулсан омгийг дахин давтан сэлгэн өсгөвөрлөсөн нөхцөлд эсрэгтөрөгчийн шинж чанараа аажмаар алдана. Иймд үндсэн эх омгийн бэлдцийг бөөнөөр нь үйлдвэрлэж анхдагч эх өсгөврийг гурваас илүүгүй зорчуулах хугацаанд хадгалахыг зөвлөдөг. Үндсэн эх омгийн нөөцийг нэг дор их хэмжээгээр бэлтгэнэ.

ii) Ажлын эх омгийг бэлтгэх, шалгах

Нэг цодон эх омгийн нөөцийг уусган сэргээж, үрэнцэр үүсгэх (казейны задраг) хэд хэдэн ташуу агарт тарина (10 мл орчим). 37°C -д 72 цаг инкубацлаж хөргөгчид хадгална. Ташуу өсгөврийн цэвэршилтийг МПА-тай аяганд эсхүл МПШ-д (100 мл МПШ-д 0.1 мл) өсгөвөрлөж шалгана. Сүүлийнхийг нь 37°C -д 7 хоног инкубацласны дараа МПА-т сэлгэн өсгөвөрлөх ба *B. anthracis*-ын цэвэр өсгөвөр ургасан байх ёстой. Шөлөн өсгөврийн дээжид бактерийн хөдөлгөөнгүй байх шинжийг нь бас шалгана.

Үйлдвэрлэлд шаардагдах эх омгийн эзлэхүүнийг ташуу өсгөвөр бүрээс үрэнцрийг 10 мл ионгүйжүүлсэн эсхүл нэрмэл ариун усаар хурааж аваад түүгээр өсгөврийн таван Ру колбод тарилт хийнэ гэж тооцоолно.

iii) Вакцины өтгөрүүлэг бэлтгэх

Дээр дурдсан В.2.2.1.i хэсэгт үндсэн эх омгийг өсгөвөрлөхөд хэрэглэсэнтэй адил казейн задлах агарыг өсгөврийн Ру колбод бэлтгэнэ. Нэг колбоноос 2000 орчим тун вакцин гарна гэж тооцно.

Өсгөврийн колбо бүрд ажлын эх омгийн цийдмэгээс 2 мл-ийг тарих ба санамсаргүйгээр сонгосон колбын өсгөврөөс тарилтын жижиг гогцоог дүүргэн авч нойтон түрхэц бэлтгэн фазыг тодосгох аргаар (фаз тод үрэнцэр) эсхүл үрэнцрийг будаж шалгахад бактерийн 90%-д нь үрэнцэр үүсэх хүртэл шүүлтүүртэй тагаар таглаж хэдэн хоног 37°C -д инкубацлана. Дараа нь колбо бүрийн өсгөврийг 20 мл физиологийн давсны уусмалаар угаах замаар хураана. Хураан авсан 0.1 мл үрэнцэр бүхий 100 мл МПШ-ийг МПА бүхий аяганд тарьж сэлгэн өсгөвөрлөөд 37°C -д 7 хоног байлгасны дараа МПА-д сэлгэн өсгөвөрлөж бактерийн хөдөлгөөнийг шалгах замаар бохирдлыг шалгана. Хурааж авсан өсгөвөр шалгалтад тэнцвэл (жишээ нь бохирдуулагч илрээгүй өсгөвөр) нийлүүлж нөөцөлнө.

iv) Глицеринжүүлэлт

Нийлүүлж нөөцөлсөн вакцины өтгөрүүлэгт вакцинд түүний эзлэхүүнээс хоёр дахин илүү ариун, цэвэр, саармаг глицеринийг нэмнэ. Сапониныг (эцсийн төвшрүүлэг 0.1%) хүчлүүрээр ашиглах бол энэ үед нэмж болно. Сайн холино (шилэн ариун үрэл хийж хольж болно). Цэвэршилтийг шалгаж, бактерийн ургал (вегетатив) хэлбэрийг задлах, амьдрах чадвартай үрэнцрийн тоог тогтоохын тулд орчны температурт 3 долоо хоногийн турш байлгах ба дараа нь хөргөгчид хадгална.

v) Хэрэглэх титр, шингэлэлтийг тогтоох

Үүний дараа бүтээгдэхүүнийг арав дахин шингэлэн МПА бүхий аяганд тараан тарьж түүн дэх өсгөвөрлөгдөх үрэнцрийн тоо хэмжээг тооцоолж гаргана. Цийдмэгийг шингэлэх бөгөөд ингэснээр эцсийн нийлүүлсэн вакцинд хүссэн хэмжээний өсгөвөрлөгдөх үрэнцэр агуулагдана. Шингэлэгчид агуулагдах физиологийн уусмал, глицерин ба (хэрэв байгаа бол) сапонины харьцаа вакцины өтгөрүүлэг дэх тэдгээр бодисын харьцаатай ижил байна. Вакцинд агуулагдах өсгөвөрлөгдөх үрэнцэр үхэр, одос үхэр, адуунд зориулсан тун тутамд хамгийн багадаа $2-10 \times 10^6$, хонь, ямаа, гахайд зориулсан тун тутамд $1-5 \times 10^6$ -аас багагүй байна.

vi) Савлах

ДЭМБ-ын заавар (1965) ёсоор вакциныг нэг болон олон тунгаар савлана. Үндсэндээ савлахад бэлэн болсон нийлүүлсэн вакциныг үйлдвэрлэлийн бус хэсэгт үжилгүйжүүлэх арга ажиллагааг баримтлан тохирох саванд савлах ба бүтээгдэхүүнд аливаа бохирдол эсхүл өөрчлөлт орохоос сэргийлнэ. Вакциныг шаардлагатай тунгаар савласны дараа хөлдөөн хатааж болно. Вакцины савыг доторх бүтээгдэхүүнд сөрөг нөлөөлөхөөргүй, вакцины хүчинтэй байх хугацаанд бин битүү хадгалж чадах материал ашиглан аль болох хурдан битүүмжилнэ.

2.3. Субстрат, тэжээлт орчинд тавих шаардлага

Боом өвчний вакцины үйлдвэрлэлд ашиглах субстрат, тэжээлт орчны талаарх дэлгэрэнгүй мэдээллийг Мишра (1991)-аас лавлана уу.

2.3.1. Явцын хяналт

i) Эх омгийн бэлдцийн цэвэршилт

В.2.2 дугаар хэсэгт заасны дагуу өсгөврийн түрхцийг будаж микроскопоор харах, бичил биетний хөдөлгөөн тодорхойлох замаар вакцины цэвэршилтийг шалгана.

ii) Эх омгийн аюулгүй чанар

Вакцинжуулаагүй, эрүүл, 1-2 настай гурван хонь тус бүрд 5×10^9 -аас багагүй өсгөвөрлөгдөх үрэнцрийг арьсан дор тарьж наад зах нь 10 хоног ажиглахад бүгд амьд үлдэх ёстой.

iii) Эх омгийн дархлаа төрүүлэх чанар

300–500 г жинтэй, 10-аас доошгүй эрүүл усан гахайд 5×10^6 амьд үрэнцэр тарьж 21 хоног ажиглана. Амьтдын наад зах нь 80% нь амьд үлдэнэ. Хяналтын дархлаажуулаагүй гурван амьтны хамт дархлаажуулсан амьтанд *B. anthracis*-ын 17 JB омгийн үхүүлэх дундаж 10 тун (LD_{50})-аар халдвар хийнэ. 10 хоногийн ажиглалтын явцад дархлаажуулсан амьтан бүгд энэ сорилтод тэнцэх ба харин хяналтын бүх амьтан боом өвчнөөр үхнэ. Дархлаажуулсан амьтны аль нэг нь үхсэн тохиолдолд давтан халдвар хийнэ.

2.3.2. Эцсийн бүтээгдэхүүний цувралд хийх шалгалт

i) Ариун чанар, цэвэршилт

Вакцин нь *B. anthracis*-ын үрэнцрийн амьд өсгөвөр тул ариун чанарын шалгалт хийхгүй боловч цуврал бохирдолгүй болохыг заавал шалгана (Бүлэг 1.1.9. Мал эмнэлгийн зориулалтаар хэрэглэх биологийн материалын ариун чанар, бохирдолгүй болохыг шалгах хэсгийг үз).

ii) Аюулгүй чанар

Аюулгүй чанарын шалгалтыг эрүүл хоёр хонь эсхүл ямаанд вакцинжуулалтын ердийн тунг хоёр дахин ихэсгэж арьсан дор тарьж олгоно. Амьтдыг 10 хоног ажиглана. Хэрэв тогтолцооны ямар нэг хариу урвал үүсээгүй, тарьсан газарт хаван зөвхөн тур зуур илэрсэн

бол нийлүүлсэн эцсийн вакцин шалгалтад тэнцэнэ. Хэрэв шалгалтыг зөвхөн хонинд хийхэд хаван аажим аажмаар нэмэгдэх шинж илэрвэл тухайн вакцин ямаанд тохирохгүй байж болохыг илтгэнэ.

iii) Цувралын идэвх

Нийлүүлсэн эцсийн вакцины үр нөлөө, дархлаа төрүүлэх чанарыг дараах байдлаар шалгана: 300–500 г жинтэй, 10-аас доошгүй, эрүүл усан гахайд хонины тунгаар вакцин тарина. Усан гахайг 21 хоног ажиглах хугацаанд 80%-иас доошгүй нь амьд байна. Амьд үлдсэн дархлаажуулсан усан гахай, түүнчлэн хяналтын дархлаажуулаагүй гурван усан гахайд хоруу чанартай *B. anthracis*-ын тогтоосон тунгаар халдвар хийнэ. Халдвар хийхэд Пастер II омог (17JB)-ын 200 LD₅₀ хэрэглэхийг зөвлөдөг. Хэрэв халдвар хийснээс 10 хоногийн дараа вакцинжуулсан бүх усан гахай амьд үлдэж, харин хяналтын усан гахай үхвэл нийлүүлсэн эцсийн вакциныг шалгалтад тэнцсэн гэж үзнэ. Халдвар хийсний дараах ажиглалтын хугацаанд вакцинжуулсан амьтан боом өвчнөөс өөр шалтгаанаар үхсэн, үхлийн шалтгаан нь вакцинтай холбогдолгүй тохиолдолд шалгалтыг давтан хийж болно.

2.4. Зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага

2.4.1. Аюулгүй чанарын шаардлага

i) Вакцин хэрэглэх болон үл хэрэглэх амьтанд аюулгүй байх чанар

Вакцин зарим ямаа, лама гөрөөсөнд өвчин үүсгэдэг болох нь тогтоогдсон ба энэ нь сапонин хүчлүүртэй холбоотой байсан байж болно. Вакциныг хээлтэй болон вакцинжуулснаас хойш 2-3 долоо хоногт төхөөрөх мал, амьтны аль алинд нь хэрэглэхийг зөвлөдөггүй. Зарим улс эсхүл бүсэд дотоодын дүрэм журмаар энэ хугацааг өөрөөр тогтоосон байдаг ч вакцинжуулсны дараах хүлээлтийн 2 долоо хоног өнгөрсний дараа эмнэл зүйн хувьд эрүүл мал, амьтны махыг хүн бэлтгэж боловсруулах эсхүл хүнсэнд хэрэглэхэд тэнцэхгүй гэж үзэх шинжлэх ухааны үндэслэл байхгүй. Вакцины үйлчлэлд антибиотик нөлөөлдөг тул вакцинжуулсан мал, амьтанд антибиотикийг нэгэн зэрэг хэрэглэхийг хориглодог. Вакцин тарихын өмнө болон дараах хэд хоногт антибиотик олгож болохгүй.

Хүнд санамсаргүй байдлаар вакцин тарьсан тохиолдолд вакциныг тарьсан хэсгээс аль болохоор зайлуулж, шархыг савантай усаар сайтар угаана. Халдвар үүссэн тохиолдолд эмнэлгийн тусламж заавал авна.

ii) Сулруулсан/амьд вакцин эргэж хоруу чанартай болох

B. anthracis-ын 34F2 омог тогтвортой, *in vitro* орчинд бүрээс үүсгэж чаддаггүй болох нь тогтоогдсон.

iii) Хүрээлэн буй орчинд нөлөөлөх байдал

Задалсан вакцины хэрэглээгүй үлдэгдэл, вакцины хоосон цодон, вакцинжуулахад хэрэглэсэн багаж хэрэгсэл нь амьд үрэнцрээр бохирдсон байдаг тул заавал автоклавдах, халдваргүйтгэх ба эсхүл шатаана.

2.4.2. Вакцины үр нөлөөнд тавих шаардлага

i) МАА үйлдвэрлэлд

Хамаарахгүй.

ii) Тэмцэх, устгах арга хэмжээнд

Үхэр, адуунд хамгийн багадаа $2-10 \times 10^6$ өсгөвөрлөгдөх үрэнцэр; хонь, ямаа, гахайд $1-5 \times 10^6$ өсгөвөрлөгдөх үрэнцэр агуулсан тунг зөвлөдөг. Вакцины тодорхой эзлэхүүнд эдгээр үрэнцэр шаардагдах тоогоор агуулагдана (тухайлбал 2×10^6 /мл). Дархлаа наад зах нь 1 жил сайн тогтдог бөгөөд жил тутам дархлаа сэргээх тун хийхийг зөвлөдөг. Адуунд нэг удаагийн вакцинжуулалтаар дархлаа тогтохдоо удаж болно. Иймд зарим үйлдвэрлэгч адуунд эхний вакцинжуулалтыг нэг сарын зайтай хоёр удаа хийж улмаар жил тутам сэргээх тун олгохыг зөвлөдөг.

Bacillus anthracis-ын үрэнцэр хөлдөөн хатаагаагүй эсхүл хөлдөөн хатаасан аль ч хэлбэрт тогтвортой ба хадгалааслагч шаардлагагүй байдаг. Хөргөгчид хадгална (4°C).

Боом өвчний вакцины тогтвортой байдлыг шалгах хүлээн зөвшөөрөгдсөн нийтлэг арга байхгүй тул эцсийн савлагааны цуврал бүрд түүний өсгөвөрлөгдөх үрэнцрийн тоог зохих

температурт тодорхой хугацаанд хадгалахаас өмнө болон дараа нь тогтоохыг зөвлөдөг. Шалгахад өсгөвөрлөгдөх үрэнцрийн тоо буурсан байх ёсгүй.

3. Биотехнологид суурилсан вакцин

3.1. Боловсруулж хэрэглээнд гаргасан вакцин, тэдгээрийн давуу тал

Боом өвчний биотехнологид суурилсан хэрэглэхэд бэлэн болсон вакцин байхгүй байна.

3.2. Биотехнологийн вакцинд тавих тусгай шаардлага

Хамаарахгүй.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

- ALTON G.G., JONES L.M., ANGUS R.D. & VERGER J.M. (1988). Techniques for the Brucellosis Laboratory. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, France.
- ANGUS R.D. & BARTON C.E. (1984). The production and evaluation of a buffered plate antigen for use in a presumptive test for brucellosis. *Dev. Biol. Stand.*, 56, 349–356.
- ASHFORD D.A., DI PIETRA J., LINGAPPA J., WOODS C., NOLL H., NEVILLE B., WEYANT R., BRAGG S.L., SPIEGEL R.A., TAPPERRO J. & PERKINS B.A. (2004). Adverse events in humans associated with accidental exposure to the livestock brucellosis vaccine RB51. *Vaccine*, 22, 3435–3439.
- BLASCO J.M. (1997). A review on the use of *B. melitensis* Rev 1 vaccine in adult sheep and goats. *Prev. Vet. Med.*, 31, 275–283.
- BLASCO J.M., GARIN-BASTUJI B., MARÍN C.M., GERBIER G., FANLO J., JIMÉNEZ DE BAGÜES M.P. & CAU C. (1994a). Efficacy of different rose bengal and complement fixation antigens for the diagnosis of *Brucella melitensis* infection in sheep and goats. *Vet. Rec.*, 134, 415–420.
- BLASCO J.M., MARÍN C., JIMÉNEZ DE BAGÜES M.P. & BARBERÁN M. (1993). Efficacy of *Brucella suis* strain 2 vaccine against *Brucella ovis* in rams. *Vaccine*, 11, 1291–1294. doi: 10.1016/0264-410x(93)90097-h. PMID: 8296481
- BLASCO J.M., MARÍN C.M., JIMÉNEZ DE BAGÜES M.P., BARBERÁN M., HERNANDEZ A., MOLINA L., VELASCO J., DIAZ R. & MORIYÓN. (1994b). Evaluation of allergic and serological tests for diagnosing *Brucella melitensis* infection of sheep. *J. Clin. Microbiol.*, 32, 1835–1840.
- BRICKER B.J. (2002). PCR as a diagnostic tool for brucellosis. *Vet. Microbiol.*, 90, 435–446.
- BRICKER B.J. & HALLING S.M. (1994) Differentiation of *Brucella abortus* bv. 1, 2, and 4, *Brucella melitensis*, *Brucella ovis*, and *Brucella suis* bv. 1 by PCR. *J. Clin. Microbiol.*, 32, 2660–2666.
- DE MASSIS F., ATZENI M., CALISTRI P., DI GIANNATALE E., FERRI N., MARCHI E., MARTUCCIello A. & TITTARELLI M. (2015). A diagnostic protocol to identify water buffalo (*Bubalus bubalis*) vaccinated with *Brucella abortus* strain RB51 vaccine. *Vet. Ital.*, 51, 99–105. doi:10.12834/VetIt.472.2296.3
- DE MASSIS F., GIOVANNINI A., DI EMIDIO B., RONCHI G.F., TITTARELLI M., DI VENTURA M., NANNINI D. & CAPORALE V. (2005). Use of the complement fixation and brucellin skin tests to identify cattle vaccinated with *Brucella abortus* strain RB51. *Vet. Ital.*, 41, 291–299.
- 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.
- DIESTE-PEREZ L., BLASCO J.M., DE MIGUEL M.J., MARÍN C.M., BARBERÁN M., CONDE-ÁLVAREZ R., MORIYÓN I., MUÑOZ P.M. (2014). Performance of skin tests with allergens from *B. melitensis* B115 and rough *B. abortus* mutants for diagnosing swine brucellosis. *Vet. Microbiol.*, 168, 161–168.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). (2006). Opinion of the Scientific Panel on Animal Health and Welfare (AHAW) on a request from the Commission concerning Brucellosis Diagnostic Methods for Bovines, Sheep, and Goats. *EFSA J.*, 432, 1–44. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2007.432>.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AGENCY (EFSA) (2009). Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare (AHAW) on a request from the Commission on porcine brucellosis (*Brucella suis*). *EFSA J.*, 1144, 1–112.
- EUROPEAN UNION (2008). Commission Decision of 10 December 2008 amending Annex C to Council Directive 64/432/EEC and Decision 2004/226/EC as regards diagnostic tests for bovine brucellosis (notified under document number C [2008] 7642) (Text with EEA relevance) (2008/984/EC). *Official Journal of the European Union*, L 352/38–45.
- FOSTER G., OSTERMAN B.S., GODFROID J., JACQUES I. & CLOECKAERT A. (2007). *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 57, 2688–2693.
- GREINER M., VERLOO D. & DE MASSIS F. (2009). Meta-analytical equivalence studies on diagnostic tests for bovine brucellosis allowing assessment of a test against a group of comparative tests. *Prev. Vet. Med.*, 92, 373–381.

- GRILLO M.J., BOSSERAY N. & BLASCO J.M. (2000). In vitro markers and biological activity in mice of seed lot strains and commercial *Brucella melitensis* Rev.1 and *Brucella abortus* B19 vaccines. *Biologicals*, 28, 119–127.
- GUSI A.M., BERTU W.J., JESÚS DE MIGUEL M., DIESTE-PÉREZ L., SMITS H.L., OCHOLI R.A., BLASCO J.M., MORIYÓN I. & MUÑOZ P.M. (2019). Comparative performance of lateral flow immunochromatography, iELISA and Rose Bengal tests for the diagnosis of cattle, sheep, goat and swine brucellosis. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 13, e0007509.
- HER M., CHO D.H., KANG S.I., CHO Y.S., HWANG I.Y., BAE Y.C., YOON H., HEO Y.R., JUNG S.C. & YOO H. (2010). The development of a selective medium for the *Brucella abortus* strains and its comparison with the currently recommended and used medium *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 67, 15–21.
- INTERNATIONAL AIR TRANSPORT ASSOCIATION (IATA) (2021). Dangerous Goods Regulations Manual <https://www.iata.org/en/publications/dgr/>
- JIMENEZ DE BAGÜES M.P., MARÍN C. & BLASCO J.M. (1991). Effect of antibiotic therapy and strain 19 vaccination on the spread of *Brucella melitensis* within an infected dairy herd. *Prev. Vet. Med.*, 11, 17–24.
- JOINT FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO)/WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) EXPERT COMMITTEE ON BRUCELLOSIS (1986). Technical Report Series 740, Sixth Report. WHO, Geneva, Switzerland.
- JONES L.M., BERMAN D.T., MORENO E., DEYOE B.L., GILSDORF M.J., HUBER J.D. & NICOLETTI P.L. (1980). Evaluation of a radial immunodiffusion test with polysaccharide B antigen for diagnosis of bovine brucellosis. *J. Clin. Microbiol.*, 12, 753–760.
- KANG S.I., HER M., KIM J.W., KIM J.Y., KO K.Y., HA Y.M. & JUNG S.C. (2011). Advanced multiplex PCR assay for differentiation of *Brucella* species. *Appl. Environ. Microbiol.*, 77, 6726–6728.
- KHALAFALLA A.I., RASHID J., KHAN R.A., ALAMIN K.M., BENKHELIL A., DE MASSIS F., CALISTRI P., GIOVANNINI A., KHAN I.A., AL HOSANI M.A. & AL MUHAIRI S.S. (2020). Preliminary Comparative Assessment of Brucellergene Skin Test for Diagnosis of Brucellosis in Dromedary Camels *Camelus dromedarius*. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 20, 412–417.
- LE FLECHE P., JACQUES I., GRAYON M., AL DAHOUK S., BOUCHON P., DENOEUDE F., NÖCKLER K., NEUBAUER H., GUILLLOTEAU L.A. & VERGNAUD G. (2006). Evaluation and selection of tandem repeat loci for a *Brucella* MLVA typing assay. *BMC Microbiol.*, 6, 9.
- LOPEZ-GONÍ I., GARCÍA-YOLDI D., MARÍN C.M., DE MIGUEL M.J., BARQUERO-CALVO E., GUZMÁN-VERRIC., ALBERT D. & GARIN-BASTUJI B. (2011). New Bruce-ladder multiplex PCR assay for the biovar typing of *Brucella suis* and the discrimination of *Brucella suis* and *Brucella canis*. *Vet Microbiol.*, 154, 152–155.
- MCGIVEN J., TAYLOR A., DUNCOMBE L., SAYERS R., ALBERT D., BANAI M., BLASCO J.M., ELENA S., FRETIN D., GARIN-BASTUJI B., MELZER F., MUÑOZ P.M., NIELSEN K., NICOLA A., SCACCHIA M., TITTARELLI M., TRAVASSOS DIAS I., WALRAVENS K. & STACK J. (2011). The first International Standard anti-*Brucella melitensis* Serum. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 30, 809–819.
- MACMILLAN A.P. & COCKREM D.S. (1985). Reduction of non-specific reactions to the *Brucella abortus* serum agglutination test by the addition of EDTA. *Res. Vet. Sci.*, 38, 288–291.
- MORENO E., CLOECKAERT A. & MORIYON I. (2002). *Brucella* evolution and taxonomy. *Vet. Microbiol.*, 90, 209–227.
- MORGAN W.J.B., MACKINNON D.J., LAWSON J.R. & CULLEN G.A. (1969). The rose bengal plate agglutination test in the diagnosis of brucellosis. *Vet. Rec.*, 85, 636–641.
- MORIYON I., GRILLÓ M.J., MONREAL D., GONZALEZ D., MARÍN C.M., LÓPEZ-GOÑÍ I., MAINAR-JAIME R.C., MORENO E. & BLASCO J.M. (2004). Rough vaccines in animal brucellosis: structural and genetic basis and present status. *Vet. Res.*, 35, 1–38.
- MUNOZ P.M., BLASCO J.M., ENGEL B., DE MIGUEL M.J., MARÍN C.M., DIESTE L., MAINAR-JAIME R.C. (2012). Assessment of performance of selected serological tests for diagnosing brucellosis in pigs. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 146, 150–158
- MUNOZ P.M., MARIN C.M., MONREAL D., GONZALES D., GARIN-BASTUJI B., DIAZ R., MAINAR-JAIME R.C., MORIYON I. & BLASCO J. (2005). Efficacy of several serological tests and antigens for the diagnosis of bovine brucellosis in the presence of false positive serological results due to *Yersinia enterocolitica* O:9. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 12, 141–151.
- NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING AND MEDICINE (2020). Revisiting Brucellosis in the Greater Yellowstone Area. Washington, DC: The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/24750>.
- NICOLETTI P. (1990). Vaccination against *Brucella*. *Adv. Biotech. Processes*, 13, 147–168.
- NICOLETTI P., JONES L M & BERMAN D.T. (1978). Comparison of the subcutaneous and conjunctival route of vaccination with *Brucella abortus* strain 19 vaccine in adult cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 173, 1450–1456.
- NIELSEN K., GALL D., JOLLEY M., LEISHMAN G., BALSEVICIUS S., SMITH P., NICOLETTI P. & THOMAS F. (1996). A homogenous fluorescence polarisation assay for detection of antibody to *Brucella abortus*. *J. Immunol. Methods*, 195, 161–168.
- NIELSEN K., KELLY L., GALL D., NICOLETTI P. & KELLY W. (1995). Improved competitive enzyme immunoassay for the diagnosis of bovine brucellosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 46, 285–291.
- OCAMPO-SOSA A.A., AGÜERO-BALBÍN J. & GARCÍA-LOBO J.M. (2005). Development of a new PCR assay to identify *Brucella abortus* biovars 5, 6 and 9 and the new subgroup 3b of biovar 3. *Vet. Microbiol.*, 110, 41–51.
- OLSEN S.C., GARIN-BASTUJI B., BLASCO J.M., NICOLA A.M., SAMARTINO L. (2012). Swine Brucellosis. In: *Diseases of Swine*,

Zimmerman J.J., Karriker A.L., Ramirez A., Schwartz K.J. & Stevenson G.W. eds, 10th Edition, John Wiley & Sons, USA, 697–708.

PONSART C., RIOU M., LOCATELLI Y., JACQUES I., FADEAU A., JAY M., SIMON R., PERROT L., FREDDI L., BRETON S., CHAUMEIL T., BLANC B., ORTIZ K., VION C., RIOULT D., QUÉMÉRÉ E., SARRADIN P., CHOLLET J.Y., GARIN-BASTUJI B. & ROSSI S. (2019). *Brucella melitensis* Rev.1 vaccination generates a higher shedding risk of the vaccine strain in Alpine ibex (*Capra ibex*) compared to the domestic goat (*Capra hircus*). *Vet. Res.*, 50, 100.

POUILLOT R., GARIN-BASTUJI B., GERBIER G., COCHE Y., CAU C., DUFOUR B. & MOUTOU F. (1997). The brucellin skin test as a tool to differentiate false positive serological reactions in bovine brucellosis. *Vet. Res.*, 28, 365–374.

POUILLOT R., GRILLÓ M.J., ALABART J.L., GARIN-BASTUJI B. & BLASCO J.M. (2004). Statistical procedures for calculating the residual virulence of *Brucella abortus* strain 19 (S19) and *Brucella melitensis* strain Rev.1 vaccines in mice: theoretical basis and practical applications. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 22, 1051–1063.

PRAUD A., GIMENEZ O., ZANELLA G., DUFOUR B., POZZI N., ANTRAS V., MEYER L. & GARIN-BASTUJI B. (2012). Estimation of sensitivity and specificity of five serological tests for the diagnosis of porcine brucellosis. *Prev. Vet. Med.*, 104, 94–100.

SCHOLZ H.C., HUBALEK Z., SEDLACEK I., VERGNAUD G., TOMASO H., AL DAHOUK S., MELZER F., KÄMPFER P., NEUBAUER H., CLOECKAERT A., MAQUART M., ZYGMUNT M.S., WHATMORE A.M., FALSEN E., BAHN P., GÖLLNER C., PFEFFER M., HUBER B., BUSSE H.J. & NÖCKLER K. (2008). *Brucella microti* sp. nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 58, 375–382.

SCHOLZ H.C., NÖCKLER K., GÖLLNER C., BAHN P., VERGNAUD G., TOMASO H., AL DAHOUK S., KÄMPFER P., CLOECKAERT A., MAQUART M., ZYGMUNT M.S., WHATMORE A.M., PFEFFER M., HUBER B., BUSSE H.J. & DE B.K. (2010). *Brucella inopinata* sp. nov., isolated from a breast implant infection. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 60, 801–808.

SCHOLZ H.C., REVILLA-FERNÁNDEZ S., DAHOUK S.A., HAMMERL J.A., ZYGMUNT M.S., CLOECKAERT A., KOYLASS M., WHATMORE A.M., BLOM J., VERGNAUD G., WITTE A., AISTLEITNER K. & HOFER E. (2016). *Brucella vulpis* sp. nov., isolated from mandibular lymph nodes of red foxes (*Vulpes vulpes*). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 66, 2090–2098.

SCHOLZ H.C. & VERGNAUD G. (2013). Molecular characterisation of *Brucella* species. *Rev. Sci. Tech.*, 32, 149–162. STACK J.A., HARRISON M. & PERRETT L.L. (2002). Evaluation of a selective medium for *Brucella* isolation using natamycin. *J. Appl. Microbiol.*, 92, 724–728.

STACK J.A., PERRETT L.L., BREW S.D. & MACMILLAN A.P. (1999). C–ELISA for bovine brucellosis suitable for testing poor quality samples. *Vet. Rec.*, 145, 735–736.

STOFFREGEN W.C., OLSEN S.C., BRICKER B.J. (2006). Parenteral vaccination of domestic pigs with *Brucella abortus* strain RB51. *Am. J. Vet. Res.*, 67, 1802–1808.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA), ANIMAL AND PLANT HEALTH INSPECTION SERVICES (APHIS) (2003). Availability of an Environmental Assessment for Licensing of *Brucella abortus* Vaccine, Strain RB–51, Live Culture. Federal Register, 18 Feb 2003, 68, 7761.

VERGER J.M. (1985). *B. melitensis* infection in cattle. In: *Brucella melitensis*, Plommet M. & Verger J.M., eds. Martinus Nijhoff Publ., Dordrecht, Netherlands, 197–203.

WHATMORE A.M. (2009). Current understanding of the genetic diversity of *Brucella*, an expanding genus of zoonotic pathogens. *Infect. Genet. Evol.*, 9, 1168–1184.

WHATMORE A.M. & FOSTER J.T. (2021). Emerging diversity and ongoing expansion of the genus *Brucella*. *Infect. Genet. Evol.*, 16,

WHATMORE A.M. & GOPAUL K.K. (2011). Recent advances in molecular approaches to *Brucella* diagnostics and epidemiology. In: *Brucella: Molecular Microbiology and Genomics*, López-Gofí I. & O’Callaghan D., eds, Caister Academic Press, Norfolk, UK, 57–88.

WHATMORE A.M., DAVISON N., CLOECKAERT A., AL DAHOUK S., ZYGMUNT M.S., BREW S.D., PERRETT L.L., KOYLASS M.S., VERGNAUD G., QUANCE C., SCHOLZ H.C., DICK E.J. Jr, HUBBARD G. & SCHLABRITZ-LOUTSEVITCH N.E. (2014). *Brucella papionis* sp. nov. isolated from baboons (*Papio* spp.). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 64, 4120–4128.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (1953). WHO Technical Report Series No. 68. Sixth report of the WHO Expert Committee on Biological Standardization. WHO, Geneva, Switzerland.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (2004). WHO Laboratory Biosafety Manual, Third Edition. WHO, Geneva, Switzerland. XIE X. (1986). Orally administrable brucellosis vaccine: *Brucella suis* strain 2 vaccine. *Vaccine*, 4, 212–216.

ZHU L., FENG Y., ZHANG G., JIANG H., ZHANG Z., WANG N., DING J. & SUO X. (2016). *Brucella suis* strain 2 vaccine is safe and protective against heterologous *Brucella* spp. infections. *Vaccine*, 34, 395–400. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.09.116. Epub 2015 Nov 25. PMID: 26626213.

ЖИЧ: Боом 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>).

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

ЖИЧ: 1989 ОНД АНХ, 2023 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

БРУЦЕЛЛЭЗ ӨВЧИН (*BRUCELLA ABORTUS*, *B. MELITENSIS*, *B. SUIIS*-ИЙН ХАЛДВАР)

А. УДИРТГАЛ

Бруцеллэз нь *Brucella* төрлийн хэд хэдэн, ихэвчлэн *Brucella abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. canis* зүйлээр мал, амьтан, хүнд үүсдэг халдварын ерөнхий нэршил юм. Хонины *B. ovis*-ын халдварыг тусад нь 3.8.7 Хуцын төмсгийн хэтний үрэвсэлт өвчин (*Brucella ovis*) бүлэгт тодорхойлов.

Эмгэг төрүүлэгч: Бруцелийн төрөлд хамаарах бүх зүйл ойр хамааралтай болохыг генетикийн болон дархлаа судлалаар нотлон харуулсан хэдий ч бруцелийн гол хувилбаруудын эзэн амьтан болон эпидемиологийн ялгаатай байдал, түүнчлэн геномын хувилбарын молекулын нотолгоонд суурилан Прокариотын ангиллын олон улсын хорооны Бруцелийн ангилал зүйн дэд хороо 2005 онд 1986 оноос өмнөх бруцелийн ангиллыг буцаан хэрэглэх талаар тодорхой байр суурь баримтлах болов. Хэдийгээр аль ч баримтлал хүчинтэй хэвээр байгаа ч дээрх байр суурь нь бруцелийн сонгодог зургаан зүйлийг тэдгээрт холбогдох биохэвшлийн хамт дахин зөвшөөрөх тухай байв. Бруцелийн зургаан зүйлд хамаарах сонгодог нэршлийг 1980 оны Бактерийн нэршлийн батлагдсан жагсаалтад албан ёсоор нийтэлсэн бөгөөд тэдгээр нэршилд *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ovis*, *B. canis* гэсэн омгийн оноосон нэрийг оруулжээ. Эдгээрийн эхний гурав нь өсгөвөрлөгдөх болон ийлдэс судлалын шинж чанараасаа хамаарч дотроо био хэвшилд хуваагдана (хүснэгт 2 ба 3). Далайн хөхтнөөс бруцелийн омог ялган авсан ба тэдгээрийг *B. ceti* ба *B. pinnipedialis* гэсэн шинэ хоёр зүйлд ангилжээ (Foster нар, 2007). *B. microti* гэж нэрлэсэн шинэ зүйлийг жирийн үлийн цагаан оготно (*Microtus arvalis*), түүнчлэн үнэг, хярс, Европт хүний хэрэгцээнд зориулан үржүүлдэг мэлхийнээс ялган авсан байна (Scholz нар, 2008). Хүний хөхний суулгац, амьгүй төл гаргасан павиан сармагчин, түүнчлэн үнэгнээс шинээр өсгөвөр ялган авч тодорхойлсон боловч тэдний байгаль дээрх эх үүсвэр тодорхойгүй байна. Шинэ төрлийн өсгөвөр тус бүрийг хэдийгээр хязгаарлагдмал хүрээнд ялган тодорхойлсон ч тэдгээрийг бруцелийн арав дахь зүйл - *B. inopinata*, арван нэг дэх зүйл - *B. papionis*, арван хоёр дахь зүйл - *B. vulpis* гэж албан ёсоор зарлажээ. (Scholz нар, 2010; 2016; Whatmore нар, 2014). Мэрэгч, үнэг, мөлхөгч, загас, мэлхийнээс ялган авсан төрөл бүрийн өсгөвөр шинж чанараараа одоогоор тодорхойлогдсон бруцелийн зүйлээс ялгаатай, бруцелийн өвөрмөц хэв шинжит бус омог бөгөөд тэдгээрийг бруцелийн шинэ омог гэж хараахан хүлээн зөвшөөрөөгүй байна.

Бруцел нь *Alphaproteobacteria* ангийн *Rhizobiales* багийн *Brucellaceae* овогт хамаарах бөгөөд *Agrobacterium* болон *Rhizobium* төрлийн ургамлын зарим эмгэг төрүүлэгч, симбиоз бичил биетэн, түүнчлэн амьтанд өвчин үүсгэгч (*Bartonella*), болзолт эмгэг төрүүлэгч эсхүл хөрсний бактеритай (*Ochrobactrum*) генетикийн хувьд ойр хамааралтай.

1. Өвчний тодорхойлолт

1.1. Үхрийн бруцелийн халдвар

Үхэрт бруцелийн халдвар ихэвчлэн *Brucella abortus*-ын биохэвшил (бх.)-ээр үүснэ. Зарим улсад, ялангуяа үхрийг хонь, ямаатай хамт ойр малладаг өмнөд Европ, Африк, баруун Азид *B. melitensis*-ээр халдвар үүсэж болно (Verger, 1985). *B. suis* үхэрт хаа нэг халдварлана. Өвчин дэлхий даяар тархалттай ч олон улс *B. abortus*, *B. melitensis*-ийн халдваргүйд тооцогддог. Хамгийн сүүлийн үеийн мэдээг ДМАЭМБ-ын Дэлхийн мал, амьтны эрүүл мэндийн мэдээллийн системээс (WAHO WAHIS) авна уу¹.

Өсвөр үхэр, сувай үнээ энэ өвчний шинж тэмдэг ихэнхдээ үзүүлдэггүй. *B. abortus* эсхүл *B. melitensis*-ийн халдвар авсан хээлтэй, нас гүйцсэн үнээний ихэс үрэвссэнээс голдуу хээл тээлтийн таваас есөн сарын хооронд хээл хаяна. Хээл хаяхгүй байсан ч үүсгэгч ихэс, хээлийн шингэн, үтрээний гоождосд их хэмжээгээр илэрнэ. Дэлэн, түүнтэй холбоотой тунгалгийн зангилаа халдварласнаас бичил биетэн сүүгээр ялгарна. Халдвартай эхээс гаралтай уураг сүү нялх төлийн популяцийн халдварын эх үүсвэр болно. Эх мал хээлээ ихэвчлэн бүрэн тээх боловч сав, дэлэнд халдвар дахих ба энэ үед ихэс, сүүнд агуулагдах бичил биетний тоо буурна. Цочмог халдварын үед үүсгэгч биеийн тунгалгийн ихэнх томоохон зангилаанд хүрнэ. Нас гүйцсэн эр үхэрт төмсгийн үрэвсэл/төмсгийн хэтэвчийн үрэвсэл тохиолдох ба бруцеллэз өвчин аль ч хүйсийн амьтныг үргүйдэлд хүргэнэ. *Brucella abortus* нь үр, үрийн шингэн, шээсээр гадагшилна. Халуун бүсийн зарим оронд бруцеллэз өвчин ихэвчлэн амьтны мөчдийн үе тойрсон усан хавангаар илрэх нь элбэг бөгөөд энэ нь бруцелийн халдварыг илтгэх өвөрмөц шинж тэмдэг байх боломжтой. Усан хавангийн шингэнд ихэвчлэн бруцел агуулагдана.

¹ <https://www.woah.org/en/what-we-do/animal-health-and-welfare/disease-data-collection/>

1.2. Хонь, ямааны бруцелийн халдвар

Хонь, ямааны бруцелийн халдвар үндсэндээ *B. melitensis*-ээр үүснэ. Маш ховор тохиолддог ч хонь, ямаа *B. abortus* эсхүл *B. suis*-ээр халдварладаг нь хааяа нэг ажиглагдсан байна. Хэдийгээр олон улс бруцелийн халдваргүйд тооцогддог ч хонь, ямааны бруцелийн халдвар өргөн тархжээ. Хамгийн сүүлийн үеийн мэдээг ДМАЭМБ-ын Дэлхийн мал, амьтны эрүүл мэндийн мэдээллийн системээс (WAOH WAHIS) авна уу. Эмгэг судлал, эпидемиологийн хувьд хонь, ямааны *B. melitensis* халдвар үхрийн *B. abortus* халдвартай маш төстэй. Ихэнх нөхцөл байдалд бруцел дамжин халдварлах анхдагч эх үүсвэр нь халдвартай бог эх мал хээл хаях эсхүл төллөх үед (түүнээс хойш хэдэн сар) гадагшлах ихэс, ургийн ус, үтрээний гоождос юм. Бруцел нь дэлэнгийн шүүрэл, үрээр гадагшлах нь элбэг бөгөөд үүсгэгчийг толгойн тунгалгийн зангилаа, дэлүү, үржлийн эрхтэн (сав, төмсгийн хэт, төмсөг), 5 бүений гэмтэл зэрэг төрөл бүрийн эдээс ялган авч болно (Alton нар, 1988).

1.3. Гахайн бруцелийн халдвар

Гахайн бруцелийн халдвар голдуу *B. suis*-ийн 1, 2, 3-р биохэвслээр үүснэ. Гахайд *B. abortus* эсхүл *B. melitensis*-ийн халдвар хаа нэгтээ тохиолддог ч энэ нь ховор юм. Энэ өвчин гахай үржүүлдэг олон улсад тохиолдоно. Ерөнхийдөө тархалт бага, гэхдээ Өмнөд Америк, зүүн өмнөд Ази зэрэг зарим бус нутагт илүү өндөр тархалттай. Гахайн бруцеллээс ноцтой өвчин боловч түүнийг зарим улсад тийм ч ноцтой гэж ойлгоогүй байгаа асуудал юм. *Brucella suis* бх. 1-р халдвар Америкийн Нэгдсэн улс (АНУ)-ын өмнөд хэсгийн зарим муж улс, Австралийн зарим хэсэг, Далайн бусад хэд хэдэн орны зэрлэгшсэн гахайд бүртгэгджээ. Эдгээр улсад зэрлэгшсэн гахай агнасан, ангийн олзтой харьцсан хүмүүст хүний халдвар бүртгэгдсэн байна. Өвчин ерөнхийдөө төллөх, хээл хаях үед гарах зүйл, савны гоождосоор бохирлогдсон тэжээл идсэнээр дамжин халдварлана. Гахай бол зулбадас, ихэс, хаг хальсаа идчихдэг амьтан. Эвцэлдүүлгийн явцад халдвар дамжих нь олонтоо тохиолдох ба үрээр *B. suis* ялгардаг учраас зохиомол хээлтүүлэг хийх үедээ анхаарах хэрэгтэй. Бактери цусанд эхэлж тархсаны дараа аль ч хүйсийн гахайд хивэгч малын адилаар *B. suis* үржлийн эрхтний замд байршин үржинэ. Эм гахайн ихэс, хээл нэрвэгдэж харин эр гахайд төмсөг, түрүү булчирхай, төмсгийн хэтэвч, үрийн булцуу эсхүл шээсний сүвний булцуут булчирхайн аль нэг эсхүл хэд хэд нь өртөнө. Бодонд гэмтэл ихэвчлэн хоёр талдаа, хэт ургалтаар эхэлж лавширсаар буглаа үүсэх ба эцэстээ хатуурч, хатанхайрна. Мэгжийн хээл тээлтийн аль ч үед тохиолдох хээл хаялт нь бруцеллээс өвчний хамгийн нийтлэг илрэл ба энэ нь хээлийн 50-110 хоногийн хооронд хамгийн элбэг тохиолдоно. Үтрээний гоождос тэр бүр ажиглагдахгүй ба архаг халдвартай сүрэгт илрэх өвчний эмнэл зүйн хамгийн хамааралтай шинж нь хээл хаялтаас илүү үргүйдэл байдаг. Эр гахайд бруцеллээс орогнол байдлаар, голдуу үржлийн эрхтний замын гэмтлээр илрэх ба энэ нь үржлийн үйл ажиллагаанд түр зуур эсхүл байнга нөлөөлнө. Бодонгийн үржлийн эрхтэнд аливаа хэвийн бүс байдал анзаарагдахгүй эсхүл үржлийн үйл ажиллагаа алдагдахгүй ч үрээр нь бруцел ялгарч болно. Аль ч хүйсийн гахайн янз бүрийн үе үрэвсэж үеийн ба шөрмөсний уут хавдах, доголох, хойд мөчид саажих эсхүл үрэвсэж болно. Эр, эм гахайн нэлээд хэсэг голдуу 6 сарын дотор бүрэн эдгэрэх боловч олон гахай байнгын халдвартай үлдэнэ (Olsen нар, 2012).

B. suis бх. 2-оор үүсэх халдвар *B. suis* бх. 1 ба 3-аар үүсэх халдвараас эзэн амьтан, тархалт, эмгэг төрүүлэх шинж чанараараа ялгагдана. Түүхээс үзвэл *B. suis* бх. 2-ийн халдвар Скандинаваас Балкан хүртэл газар зүйн хувьд өргөн тархалтай байжээ. Европын эх газар даяар зэрлэг гахайд энэ өвчний тархалт өндөр байх боломжтой (EFSA, 2009). Европт гарсан дэгдэлтээр зэрлэг бодон *B. suis* бх. 2-ийн халдварыг задгай үржүүлдэг гахайд дамжуулсан эх үүсвэр болсон ба энэ халдварын зэрлэг амьтан дахь гол эх үүсвэрт тооцогдож байна (EFSA, 2009). *B. suis* бх. 2 нь ялангуяа үржлийн эрхтний замд тархмал тууралт бүхий гэмтэл үүсгэх энэ нь эцэстээ идээлнэ. *B. suis* бх. 2 нь хүний бруцеллээс өвчин үүсгэсэн тухай мэдээлэл өдий хүртэл ховор байна. Гэвч бодон гахай, молтогчин туулайн дотор гэдэс янзлах, арьс өвчих явцад дархлаа суларсан анчид бичил биетэнд өртөж *B. suis* бх. 2-оор өвчилсөн тохиолдол бүртгэгджээ. Үүнээс гадна Европт халдвартай зэрлэг бодонд өртсөн үхэр, хонинд эмнэл зүйн шинж тэмдэггүй *B. suis* бх. 2-ийн халдварын ховор тохиолдол бүртгэгдсэн байна.

1.4. Бусад тэжээвэр болон ан олзворын зэрлэг эсхүл зэрлэг амьтны бруцелийн халдвар

B. abortus эсхүл *B. melitensis*-ийн халдвар нэг бөхтэй тэмээ (*Camelus dromedarius*) болон хоёр бөхтэй тэмээ (*C. bactrianus*), түүнчлэн Өмнөд Америкийн тэмээний овгийн амьтан: лама гөрөөс (*Lama glama*), альпака (*Vicugna pacos*), гуанако (*Lama guanicoe*), викуна (*Vicugna vicugna*)-д бүртгэгдсэн бөгөөд халдвар *B. abortus* эсхүл *B. melitensis*-ээр халдварласан хивэгч бод, бог малтай хавьталд байсантай холбоотой.

Үүнээс гадна тэжээвэр одос үхэр (*Bubalus bubalis*), Америкийн бизон (*Bison bison*), Европ бизон (*B. bonasus*), сарлаг үхэр (*Bos grunniens*), хандгай (*Cervus canadensis*), япон буга (*C. nippon*), Африкийн одос үхэр (*Syncerus caffer*), төрөл бүрийн зүйлийн гөрөөс бруцеллээсөөр өвчилсөн тохиолдол ажиглагдсан байна. Эдгээр амьтанд илрэх бруцеллээс өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдэг үхэр, хонь, ямаанд илэрдэгтэй төстэй.

Өвчин энзоот нутагт хонь, ямаатай ойр хавьталд байсан зэрлэг хивэгч амьтанд *Brucella melitensis* халдвар тохиолдож болно. Эдгээр амьтанд илрэх бруцеллээс өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдэг үхэр, хонь, ямаанд илэрдэгтэй төстэй. Гэвч хэд хэдэн зэрлэг хивэгч амьтанд (жишээ нь чамоис янгир ямаа [*Rupicapra rupicapra*], Альпийн янгир ямаа [*Capra ibex*], янгир ямаа [*Capra pyrenaica*]) үений идээт эсхүл

кальцижсан үрэвсэл, төмсгийн үрэвсэл, түүнчлэн нүдний солонгон бүрхүүлийн үрэвсэл, мэдрэлийн үйл ажиллагааны хямралын шинж тэмдэг илэрсэн байна. Эдгээр зүйлийн амьтныг халдвар тээсээр үхдэг гэж үздэг ба тэжээвэр амьтны бруцелийн халдварыг устгаснаас хойш хэрэв хүний нөлөөгөөр өвчин шинээр дэгдэхээс бусад тохиолдолд зэрлэг амьтны энэ өвчин удалгүй өөрөө аяндаа алга болдог байна. Гэсэн хэдий ч зэрлэг амьтны дунд дараах гурван голомт байсаар байна: хойд Америкийн Иеллоустоун бүсэд бизонд: *B. abortus*; Альпийн янгир ямаанд: *B. melitensis*; Канадын Вүүд Бафоло Үндэсний паркард ойн бизонд: *B. abortus*. Нохойноос, ялангуяа халдвартай хонь эсхүл ямаатай хавьталд байсан эсхүл ихэс, зулбадас идсэн тохиолдолд *B. melitensis* ялган авсан тохиолдол хаа нэгтээ бүртгэгддэг байна.

Гахайнаас бусад зүйлийн амьтны дунд *B. suis* халдварын эпидемиологийн ялгаатай хоёр хэлбэр байдаг. Эхний тохиолдол нь *B. suis*-ийн халдвар тухайн халдварын байгалийн эзэн биш амьтанд бохирлогдсон зүйл залгих, халдвар авсан жинхэнэ эзэн амьтантай хам амьдралтай байснаас тохиолдоно. Жишээ нь Арктикийн үнэг, чоно *B. suis* бх. 4-өөр халдварласан цаа бугаас, нохой болон харх, хулгана зэрэг мэрэгч амьтан *B. suis*-ийн бусад биохэвшлийн халдвартай эзэн амьтантай хам амьдарснаас, үхэр, адуу халдвартай гахайтай хам амьдарснаас тус тус халдвар авч болно. Халдвар тараагч бактери нь жинхэнэ эзэн амьтанд эргэлдэж байгаа, сайтар тодорхойлогдсон биохэвшлүүд байдаг. Хоёр дахь тохиолдол нь *B. suis* эсхүл *B. suis* төстэй халдварын жинхэнэ эзэн болсон зэрлэг амьтан байна. Нэг жишээ нь *B. suis* бх. 5-аар халдварласан жижиг мэрэгч оршин амьдардаг Хамтын нөхөрлөлийн тусгаар тогтносон улсууд болон Балтын тэнгис хавийн улсуудад байдаг хулганын бруцеллээс гэж нэрлэгдэх өвчин юм.

Зэрлэг бодонгоос гадна Европ туулайг (*Lepus europaeus*) *B. suis*. 2 биохэвшлийн голомт гэж үздэг ба тэжээвэр амьтдад халдвар дамжих бодит эх үүсвэрт тооцогдоно. Европ туулайд шар будаанаас интоорын үр шиг эсхүл түүнээс ч том хэмжээний зангилаа үүсэх ба ихэвчлэн идээлнэ. Ийм зангилаа биеийн аль ч хэсгээр, заримдаа арьсан дор, булчинд, дэлүү, элэг, уушги, аль ч хүйсийн туулайн үржлийн эрхтэнд тохиолдоно. Туулайн биеийн гадаад байдал эрүүл мэт харагдана. *B. suis*. 2 биохэвшлээр халдварласан гахай, зэрлэг гахай, туулайн хам амьдралын явцад бусад зүйлийн амьтан халдвар авна. Үхрийн байранд зэрлэг бодонг төхөөрөх, өвчих нь халдвар үхэрт дамжих зам болно.

Арктикийн бүс, үүний дотор Сибирь, Канад, Аляскад зэрлэг эсхүл тэжээвэр цаа буга эсхүл карибууд (*Rangifertarandus* ба түүний дэд зүйл) *Brucella suis* 4 биохэвшил ноцтой зооноз өвчин үүсгэнэ. Цаа буга гахайн бруцеллээс маш их мэдрэмтгий ба халуурах, номойрох болон хээл хаях, хаг саатах, сав үрэвсэх, заримдаа цустай шүүрэл гарах, дэлэн, үе, төмсөг үрэвсэх зэрэг янз бүрийн байршмал эмгэгийн шинж илэрнэ. Халдвар шууд хавьтал эсхүл цаа бугын түүхий сүү, дутуу халаасан бусад бүтээгдэхүүн, ялангуяа ясны чөмөг хэрэглэснээс шалтгаалан хүнд дамжиж болно.

1.5. Хүнд халдварлах эрсдэл, биоаюулгүй байдлын шаардлага

Бруцелийн зарим зүйл, ялангуяа *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* илт мэдэгдэм, магадгүй *B. canis* арай багаар хүнд амархан халдварлаж цочмог халуурал, сэлгэх халуурал үүсгэх ба улмаар илүү архаг хэлбэрт шилжихийн зэрэгцээ булчин араг ясны, зүрх судасны, төв мэдрэлийн тогтолцоог хамарсан ноцтой хүндрэлд хүргэнэ. Хүнийг халдвараас хамгаалахын тулд урьдчилан сэргийлэх арга хэмжээ авах шаардлагатай. Хүнд халдвар ам, амьсгал, эсхүл нүдний салст бүрхэвчээр дамжина. Өвчний эндемик тархалттай нутагт сүүн бүтээгдэхүүнийг түүхийгээр хэрэглэх нь нийт хүн амд учрах гол эрсдэл гэж үздэг. Халдвартай мал, амьтан, тэдгээрийн гулууз болон зулбадас эсхүл хаг судастай харьцаж ажилладаг малын эмч, мал төхөөрөх газрын ажилтан, малчин, фермерт ажил мэргэжлээс шалтгаалах эрсдэл бий. Лабораторийн нөхцөлд хамгийн амархан авдаг халдвар бол бруцеллээс учраас амьд өсгөвөр эсхүл халдвар/бохирдолтой байж болох аливаа материал ашиглан хийх лабораторийн аливаа ажлыг биологийн эрсдэлийн шинжилгээгээр тогтоосон биоаюулгүй байдал, тусгаарлалтын зохих түвшинд гүйцэтгэнэ (1.1.4 Биоаюулгүй байдал ба биоаюулгалал: Мал эмнэлгийн лаборатори, амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандарт бүлгийг үз). Бруцелээр халдварласан материалтай ажиллахад мөрдөх биоаюулгүй байдлын талаарх тусгай зөвлөмж гаргасан байна (Дэлгэрэнгүй мэдээллийг Альтон нар, 1988; Бруцеллээсн талаарх ХХААБ/ДЭМБ-ын хамтарсан экспертийн хороо, 1986; ДЭМБ, 1953; ДЭМБ, 2004; 1.1.3 Биологийн материалын тээвэрлэлт бүлгээс авна уу).

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. *Brucella abortus, melitensis, suis*-ийн халдварыг оношлох шинжилгээний арга

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүйг тогтоох	Бодгаль халдваргүйг тогтоох ^(a)	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх ^(b)	Сэжигтэй эсхүл эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах ^(c)	Сүргийн халдварын тархалт тогтоох - тандалт	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгч илрүүлэх						
Будах арга	—	—	—	+	—	—
Өсгөвөрлөх	—	—	—	+++	—	—
ПГУ ^(d)	—	—	—	+/++	—	—
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ББНУ (РБУ, БХНУ)	+++	++	+++	+	+++	—
ФТА	++	++	+	++	++	—
ХХУ	++	++	+++	++	+++	—
ШБ-ЕЛИЗА	+++	++	+++	++	+++	—
Ө-ЕЛИЗА	++	+	+	+	++	—
АБС	++	—	+	+++	++	—
ИНУ	++	+	+	—	+	—
Гаптен, цитозолын сорил ^(e)	—	—	+	++	—	—
Сүүний сорил ^(f) , Сүүний ШБ-ЕЛИЗА эсхүл СЦУ	+++	—	+++	+	+++	—

Түлхүүр үг:

- +++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
 ++ = энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
 + = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
 — = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй;

ПГУ = полимеразагийн гинжин урвал; ББНУ = буфержүүлсэн бруцелийн наалдуулах урвал (РБУ = роз бенгал урвал, БХНУ = буфержүүлсэн хавтанд наалдуулах урвал); ФТА = флюоресценц туйлшралын арга; ХХУ = хавсарга холбох урвал; ШБ-ЕЛИЗА = энзим холбоост дархлааны шууд бус урвал; Ө-ЕЛИЗА = энзим холбоост дархлааны өрсөлдөөнт урвал; АБС = арьсны бруцелиний сорил; ИНУ = ийлдэсний наалдуулах урвал; СЦУ = сүүний цагариган урвал.

^(a) Зөвхөн бруцелийн халдваргүй сүрэг, улс, бүсэд хэрэглэнэ.

^(b) Халдвартай сүрэгт өвчнийг устгах бодлогын үр дүнг сайжруулах зорилгоор оношилгооны мэдрэмтгий чанарыг нэмэхийн тулд шинжилгээг зэрэгцүүлэн хийж, өөрөөр хэлбэл ийлдэс судлалын наад зах нь хоёр аргыг, жишээ нь ББНУ эсхүл ФТА ба ХХУ эсхүл ШБ-ЕЛИЗА аргыг зэрэгцүүлэн хэрэглэхийг зөвлөдөг. Ийлдэс судлал болон АБС аль аль аргаар зэрэгцүүлж шинжилбэл мэдрэх чанар улам дээшилнэ.

^(c) 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 таних шаардлага гарна. Халдвартай сүрэгт ийлдэс судлалын аливаа шинжилгээ эерэг дүн үзүүлбэл эмнэл зүйн тохиолдол батлагдсан гэж үзэх боломжтой. Ийлдэс судлалын аливаа шинжилгээний ямар ч эерэг дүнг эмнэл зүйн шинж тэмдэг байхгүй байсан ч халдвартай гэж үзнэ. Өвчний тархалт бага эсхүл бараг өвчингүй болсон бүсэд ийлдэсний шинжилгээгээр эерэг урвал үзүүлсэн бодгаль амьтанд өсгөвөрлөх арга (эсхүл ПГУ) эсхүл АБС-оор баталгаажуулна. Өвчнөөр тайван улс, бүсэд ийлдэс судлалын илрүүлэх болон баталгаажуулах аль аль аргаар эерэг дүн үзүүлсэн бол сэжигтэй гэж үзэх ба өсгөвөрлөх арга (эсхүл ПГУ) болон/эсхүл АБС-оор оношийг баталгаажуулна.

^(d) ^{vv}Хуурамч эерэг урвал илэрч болно.

^(e) S19 эсхүл Rev.1 вакцин арьсан дор тарьж хэрэглэдэг бүс нутагт энэ шинжилгээгээр вакцинаас үүссэн эсрэг биеийг халдварын улмаас үүссэн эсрэг биеэс ялгаварлах боломж олгоно.

^(f) Зөвхөн саалийн үнээнд.

Үхэр, хонь, ямаа, тэмээ, гахайд хээл хаях бүх тохиолдол, төмсгийн үрэвслийг бруцеллөз өвчинд сэжиглэж сүргийн түвшинд мөшгөн сурвалжлах судалгаа хийгээд лабораторийн шинжилгээнд сорьц илгээнэ. Эмнэл зүйн шинж тодорхой бус, бруцелийг ялган авч дүйн тогтоох замаар бруцелийн халдварыг мадаггүй оношлох бактери судлалын шинжилгээ хийх нөхцөл байхгүй тухайн тохиолдолд молекулын эсхүл дархлаа судлалын аргад тулгуурлан оношилно.

1. Үүсгэгч илрүүлэх

Өдгөө хэдийгээр төрөл бүрийн молекулын шинжилгээгээр бруцелийг мадаггүй ялган таних боломжтой ч бактери өсгөвөрлөх арга нь бруцелийг өсгөвөрлөгдөх шинж чанараар нь ялган таних сонгодог арга юм.

Сэжиг бүхий тохиолдлоос сорьц авсныхаа дараа яаралтай хөргөөд (4°C) хамгийн шуурхай аргаар лабораторид тээвэрлэн хүргэнэ. Тээвэрлэх хугацаа 12 цагаас хэтрэхээр бол үтрээний арчдаснаас бусад сорьцыг хөлдөөнө (-20°C). Лабораторид ирсэн сорьцыг хэрэв тэр даруй өсгөвөрлөхгүй бол хөлдүү хэвээр хадгална (Alton нар, 1988). Ямар ч үед сорьцыг богино хугацаанд тээвэрлэж, хадгалсан бол ялангуяа сорьцод бруцелийн анхны тоо доогуур байсан ч бруцелийг ялган авах магадлал өндөр байна. Амьтны сорьцод бруцелийг удаан амьд байлгах зөөвөрлөх тусгай орчин байхгүй.

1.1. Будах арга

Бруцел нь 0.6-1.5 мкм урт, 0.5-0.7 мкм өргөн хэмжээтэй коккбацил эсхүл богино савханцар бактери юм. Бруцел ихэвчлэн дангаараа байх ба хосоор эсхүл жижиг бүлгээр байх нь ховор. Бруцел хэлбэр дүрсийн хувьд хуучирсан өсгөвөрт л өөрчлөгдөж болохоос бусад тохиолдолд хэлбэр зүй нь маш тогтвортой юм. Бруцел хөдөлгөөнгүй, үрэнцэр хэлбэрт шилжихгүй, шилбүүр эсхүл жинхэнэ бүрээс (капсул) үүсгэхгүй. Бруцел Грам сөрөг бөгөөд хоёр туйл нь ихэвчлэн будагдахгүй. Бруцел сул хүчлийн үйлчлэлийг тэсвэрлэж өнгөө алддаггүй учир Штампын өөрчилсөн Цель-Нийлсоны аргаар будахад улаанаар будагдана (Alton нар, 1988). Өмнө нь халааж эсхүл этанолоор бэхжүүлсэн эрхтэн эсхүл биологийн шингэний түрхцийг энэ аргаар будахад бруцел үүсгэгч хөх дэвсгэр дээр улаанаар будагдаж харагдана. Флюорохром эсхүл пероксидазагаар тэмдэглэсэн эсрэг биеийн коньюгатад суурилсан аргыг хэрэглэж болно. Бруцелтэй төстэй хэлбэр бүхий хүчил тэсвэрлэх чанар сул эсхүл дархлаа-өвөрмөц будагдах үүсгэгч эс дотор орших нь бруцеллөз гэдгийг харуулах урьдчилсан нотолгоо болно. Гэвч эдгээр аргыг бруцелийн тоо ихэвчлэн цөөн байдаг сүү, сүүн бүтээгдэхүүнд хэрэглэх боломжгүй эсхүл мэдрэх чанар нь сул байх бөгөөд үр дүнг үнэлэхэд тосны бөмбөлөг байнга саад учруулна. Түүнчлэн хээл хаяулдаг *Chlamydia abortus* эсхүл *Coxiella burnetii* гэх мэт үүсгэгчийг эдгээр бэлдмэлд бруцелийн үүсгэгчээс ялгаварлахад хэцүү учраас Штампын аргаар шинжлэхэд гарсан эерэг дүнг үнэлэхдээ анхааралтай хандах хэрэгтэй. Шинжилгээний эерэг эсхүл сөрөг аль ч үр дүнг өсгөвөрлөх аргаар баталгаажуулна.

Мөн полимеразгийн гинжин урвал (ПГУ)-ыг төрөл бүрийн биологийн сорьцод үүсгэгч илрүүлэхэд ашиглаж болох боловч (Bricker, 2002; Whatmore & Gopaul, 2011) шинжлэх дээжийн эзлэхүүн хязгаартай байдаг учраас мэдрэх чанарын хувьд бактер судлалын сонгодог аргаас доогуур байж болох юм. Амьд бактери үлдээгүй гэж үзсэн, муу хадгалсан сорьцод халдварыг молекул шинжилгээний аргаар илрүүлж болно.

1.2. Сорьц цуглуулах, өсгөвөрлөх

Үүсгэгчийг бактери судлалын аргаар ялгах нь удаан, зардал их, төвөгтэй боловч энэ аргыг өвчнийг баталгаажуулах, бруцелийн холбогдох зүйлийг тодорхойлох бүрд боломжтой бол ашиглах хэрэгтэй. Мөн түүнчлэн энэ нь нуклеотидийн дарааллыг өндөр чадамжтай аргаар тогтоох зэрэг эпидемиологийн шинэ арга ашиглах боломж олгоно. Хэдийгээр ихэнхдээ энэ аргыг төдийлөн мэдрэмтгий биш гэж үздэг ч сорьцын төрөл, тоо, тэдгээрийн хадгалалт, өсгөврийн хэмжээ, тэжээлт орчныг оновчтой болгосон нөхцөлд ихээхэн үр дүнтэй арга юм.

1.2.1. Үндсэн тэжээлт орчин

Бруцелийг голдуу хатуу тэжээлт орчинд шууд ялган өсгөвөрлөнө. Ерөнхийдөө энэ арга нь ургаж байгаа колонийг ялган авах, нарийн таньж тогтоох боломж олгодог хамгийн зохистой арга юм. Түүнчлэн ийм тэжээлт орчин гөлгөр бус мутант үүсэх болон хэт их бохирдохыг хязгаарлана. Харин шингэн тэжээлт орчныг эзлэхүүн ихтэй сорьцод эсхүл тэжээлт орчныг баяжуулах зорилгоор хэрэглэнэ. Бруцелийн тэжээлт орчны суурь, триптоз (эсхүл триптиказ) шар буурцгийн агар (ТШБА) гэх мэт төрөл бүрийн хуурай тэжээлт орчин худалдаанд гарсан байна. *B. abortus* бх. 2 зэрэг омгийг өсгөвөрлөх тэжээлт орчинд үхрийн эсхүл адууны 2-5%-ийн ийлдэс нэмэх шаардлагатай ба олон лабораторид цустай агарын суурь, Колумбийн агар зэрэг тэжээлт орчны суурьт төлөвлөсөн арга зүйн дагуу ийлдэс нэмдэг нь маш сайн үр дүн өгч байна. Ийлдэс-дектроз агар (ИДА) эсхүл глицерин-дектроз агар зэрэг бусад тохиромжтой тэжээлт орчныг хэрэглэж болно (Alton нар, 1988). ИДА-г ихэвчлэн колонийн хэлбэр зүйг судлахад хэрэглэхийг эрхэмлэдэг. Баяжуулсан тэжээлт орчин шаарддаг цус болон биеийн бусад шингэн эсхүл сүүнээс бруцел ялгахад Кастаниедагийн гэж нэрлэгддэг сонгомол бус, савандаа хатуу, шингэн аль алийг агуулсан тэжээлт орчныг хэрэглэхийг зөвлөдөг.

Бруцелүүд шөлөн орчинд задрах хандлагатай болж бактери судлалын ердийн аргаар биохэвшил тодорхойлоход төвөг учруулдаг учраас Кастаниедагийн орчин хэрэглэнэ.

1.2.2. Сонгомол тэжээлт орчин

Дээр дурдсан бүх тэжээлт орчны суурийг сонгомол (селектив) орчин бэлтгэхэд ашиглана. Бруцелээс өөр бичил биетний ургалтыг дарангуйлахын тулд тохирох антибиотик хэрэглэнэ.

Хамгийн өргөн хэрэглэдэг сонгомол тэжээлт орчин нь Фарреллийн өөрчилсөн орчин (Stack нар, 2002) юм. 1 литр агарт: полимиксин В сульфат (5000 нэгж = 5 мг); бацитрацин (25,000 нэгж = 25 мг); натамицин (50 мг); налидиксийн хүчил (5 мг); нистатин (100,000 нэгж); ванкомицин (20 мг) нэмнэ. Тохирох антибиотикийн нэмэлтийг хөлдөөн хатаагаад худалдаанд гаргасан байдаг. Гэвч налидиксийн хүчил, бацитрацин Фарреллийн орчинд ордог төвшрүүлэгтэй байхдаа *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* омгийг идэвхгүйжүүлэх нөлөө үзүүлнэ. Ийм учраас Фарреллийн орчин, түүнээс сонгомол чанараар бага Тайер-Мартинсийн өөрчилсөн тэжээлт (ТМө) орчныг зэрэгцүүлэн хэрэглэх нь мал эмнэлгийн хээрийн сорьцоос бруцел анхлан ялгахад сонгон хэрэглэх зөв арга гэж үзнэ. Гэвч ТМө орчны суурь нь гемоглобин агуулдаг тунгалаг биш байх ба энэ нь бруцелийг урьдчилан ялган таних хамгийн практик арга болсон колонийн хэлбэр зүйг шууд харах боломжгүй болгоно (Alton нар, 1988).

Мигуэль нар (2011) сонгомол, тунгалаг тэжээлт орчны (CITA гэж нэрлэсэн) найрлагыг зохиожээ. Үүнийг бэлтгэхдээ цустай агарын суурийг үндсэн бүрэлдэхүүн хэсэг болгон аваад тугалын 5%-ийн ариун ийлдэс болон ванкомицин (20 мг/литр), колистин метансульфонат (7.5 мг/литр), нитрофурантоин (10 мг/литр), нистатин (100,000 олон улсын нэгж [ОУН]/литр), амфотерицин В (4 мг/литр) нэмнэ. Антибиотикийн энэ холимгийг бэлтгэхдээ ванкомицин, колистин, нистатинийг жинлэн 50 мл эзлэхүүнтэй ариун саванд хийж холимгийг ариун нэрмэл устай 1:1 харьцаагаар хольсон метилийн абсолют спиртийн уусмалаар чийглэнэ. Ариун цодонд нитрофурантоиныг жинлэж 0.1 M NaOH-ийн 1 мл уусмалд (0.22 мкм-ийн шүүлтүүрээр урьдчилан шүүж ариутгана) уусгана. Төгсгөлд нь 20 мл-ийн ариун саванд 10 мг ампотерицин В-г жинлэн авч 1 мл диметил сульфоксидод уусгана. Бүрэн ууссаны дараа ариун фосфатын буфер уусмалын (ФБУ) (pH=7.2 ± 0.2) 10 mM уусмалаас 9 мл нэмнэ. Ампотерицин В-ийн эцсийн төвшрүүлэг 1 мг/мл болох ба 4 мл-ийм уусмал 1 литр тэжээлт орчинд шаардагдана. Үлдсэн ампотерицин В-ийн уусмалыг 5°C ± 3°C-д хэдэн хоног хадгалж байгаад дараагийн шинжилгээнд хэрэглэнэ. Хэдийгээр Фарреллийн болон CITA орчин хоёуланг нэгэн зэрэг хэрэглэхэд оношилгооны мэдрэх чанар дээд зэрэгт хүрч байсан ч энэхүү CITA орчин нь бохирдуулагч ихэнх бичил биетний ургалтыг саатуулж харин бруцелийн бүх зүйлийг өсгөвөрлөх боломж олгохын зэрэгцээ хээрийн сорьцоос бруцелийн бүх гөлгөр зүйлийг ялгахад Фарреллийн болон ТМө орчноос илүү мэдрэмтгий байснаас аливаа бруцелийг ялган авахад сонгон хэрэглэх сонгомол тэжээлт орчин гэгдэх болжээ (De Miguel нар, 2011).

B. abortus омог, түүний дотор вакцины RB51 омгийг өмнө хэрэглэж байсан орчноос илүү үр дүнтэй сонгон өсгөвөрлөх боломжтой бруцелийн өөрчилсөн сонгомол тэжээлт орчныг (MBS гэж нэрлэсэн) боловсруулаад байгаа боловч цаашид түүний үйлчлэлийг нотлон баталгаажуулах талаар судалгаа хийх хэрэгтэй байна (Her нар, 2010).

B. abortus, түүнчлэн *B. ovis*-ын хэд хэдэн биохэвшлийг өсгөвөрлөгдөх нөхцөлөөс ялгаатай нь *B. melitensis* эсхүл *B. suis*-ийн өсгөвөржилт инкубацалж байгаа 5–10% CO₂ бүхий (хүснэгт 2) агаараас хамаардаггүй, гэхдээ CO₂-оор ийнхүү баяжуулсан агаар бүх бруцелийг өсгөвөрлөхөд тохиромжтой байдаг.

Сүү, уураг сүү болон хээл хаялттай холбоотой бус эдийн сорьц дахь бруцелийн тоо цөөн байх магадлалтай тул баяжуулалт хийнэ. Сүү хурилдуурдахад гарсан цэцгий болон тунашаас өсгөвөр хийвэл үр дүнд хүрэх ба харин энэ тохиолдолд мананцар үүсгэхээс сэргийлэх хэрэгтэй. Хурилдуурдахтай холбоотой эрсдэл үүсгэлгүйгээр сүүнээс үүсгэгч өсгөвөрлөх илүү практик арга бол сүүний сорьц тус бүрээс Фарреллийн болон CITA орчинд хоёуланд нь өсгөвөрлөх аяганы тоог олшруулж (наад зах нь дэлэнгийн хэлтэр бүрээс хоёр аяганд) аяга бүрд 0.5 мл сүүгээр тарилт хийх арга юм.

Ийлдэс-дектозын шөл, триптозын шөл эсхүл триптиказ-шар буурцгийн шөл эсхүл бруцелийн шөлөөс бүрдэх, ампотерицин В (1 мг/мл), ванкомицин (20 мг/мл) антибиотикийн хольц (бүгд эцсийн төвшрүүлэг) нэмсэн шингэн тэжээлт орчинд баяжуулалт хийнэ. Баяжуулах орчинг 37°C ± 2°C-д 5–10% (э/э) CO₂ бүхий агаарт 6 долоо хоног хүртэл инкубацлах ба ингэхдээ долоо хоног тутамд Фаррелийн болон CITA хатуу, сонгомол орчинд сэлгэн өсгөвөрлөнө. Сэлгэн өсгөвөрлөлтийг цөөлөхийн тулд боломжтой бол хатуу, шингэн сонгомол тэжээлт орчны аль алийг нэг саванд агуулдаг давхар орчныг ашиглана. Дор дурдсан антибиотикийг шингэн хэсэгтээ агуулдаг Кастаниедагийн орчны сууриас бүрдэх сонгомол, давхар орчныг зарим үед сүүнээс бруцелийг ялгахад ашиглахыг зөвлөдөг (нэг литр тэжээлт орчинд агуулагдах хэмжээ): полимиксин В (сульфат) (6000 нэгж = 6 мг); бацитрацин (25,000 нэгж = 25 мг); натамицин (50 мг); налидиксийн хүчил (5 мг); ампотерицин В (1 мг); ванкомицийн (20 мг); D-циклосерин (100 мг).

Хүснэгт 2. Бруцелийн зүйл хоорондын ялгагдах шинжүүд

Зүйлийн нэр	Колонийн хэлбэрзүй ^b	Ийлдэс шаардлагатай эсэх	Фагаар задрах ^a					Оксиказа	Угсаагийн идэвх	Эзэн амьтан
			Tb		Wb	Iz1	R/C			
			RTD ^c	10 ⁴ RTD	RTD	RTD	RTD			
<i>B. abortus</i>	S	– ^d	+	+	+	+	–	(+) ^e	(+) ^f	Үхэр, бусад <i>Bovidae</i>
<i>B. melitensis</i>	S	–	–	–	(–) ^g	+	–	(+)	+ ^h	Хонь, ямаа
<i>B. suis</i>	S	–	–	+	(+) ⁱ	(+) ⁱ	–	+	+ ^j	Бх. 1: гахай Бх. 2: гахай, туулай Бх. 3: гахай Бх. 4: цаа буга Бх. 5: мэрэгч
<i>B. neotomae</i>	S	–	– ^k	+	+	+	–	–	+ ^j	Цөлийн харх ^l
<i>B. ovis</i>	R	+	–	–	–	–	+	–	–	Хонь
<i>B. canis</i>	R	–	–	–	–	–	+	+	+ ^j	Нохой
<i>B. ceti</i>	S	ND	(–)		(+)	(+)	–	(+)	+	Халим хэлбэртэн (Cetaceans)
<i>B. pinnipedialis</i>	S	ND	(–)		(+)	(+)	–	(+)	+ ^h	Сэлүүр хөлтөн (Pinnipeds)
<i>B. microti</i>	S	–	–	+	+	+	ND	+	+ ^h	тодорхойгүй ⁿ
<i>B. inopinata</i>	S	ND	–	ND	ND	ND	ND	ND	+ ^j	тодорхойгүй
<i>B. papionis</i>	S		PL ^m	PL ^m	+	ND	–	–	+ ^j	тодорхойгүй
<i>B. vulpis</i>	S		+		+	+	–	–	+	тодорхойгүй

Эх сурвалж: Альтон нар 1988, Бруцеллэзын талаарх ХХААБ/ДЭМБ-ын хамтарсан экспертийн хороо, Ватмор (2009), Ватмор нар (2014), Шолц нар (2016).

Түлхүүр:

(+)/(–)	ихэнх өсгөвөр зэрэг/сөрөг
a	Фаг: Тбилис (Tb), Вейбриж (Wb), Изатнагар 1 (Iz1), R/C ердийн тохиолдох фаг
b	S: гөлгөр, R: барзгар
c	RTD: шинжилгээний ердийн шингэлэлт
d	<i>B. abortus</i> бх. 2-ыг анхлан ялган авах өсгөвөрлөлтөд ихэнхдээ ийлдэс шаардлагатай
e	Африкийн зарим <i>B. abortus</i> бх. 3-ын өсгөвөр сөрөг байна
f	544 омог, зарим хээрийн сөрөг омгоос бусад нь дунд зэргийн хэмжээнд
g	Зарим өсгөвөр Wb-ээр задарна
h	Зарим түргэн өсгөврөөс бусад нь удаан
i	<i>B. suis</i> бх. 2-ын зарим өсгөвөр Wb эсхүл Iz1 фагаар задрахгүй эсхүл хэсэгчлэн задарна
j	Түргэн задарна
k	минутын товгор
l	<i>Neotoma lepida</i>
m	Хэсэгчлэн задарна
n	Зэрлэг олон хөхтөн (мэрэгч, үнэг, зэрлэг гахай), хоёр нутагтан, орчноос ялгасан омог
ND	Тодорхойлоогүй

Хэрэглэх бүх тэжээлт орчны чанарыг лавлагааны омог ашиглан шалгаж шаардлага хангаж байгаа эсэхийг харуулна. *B. abortus* бх. 2, *B. ovis*, *B. suis* бх. 2 зэрэг амархан өсгөвөрлөгддөггүй омгоос хийх тарилт жижигхэн байх нь зохистой.

Тохирсон хатуу тэжээлт орчин дээр *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*-ийн колони инкубацийн 3-4 хоногт илэрхий харагдана. Инкубацийн 4 дэх хоногоос бруцелийн колони дугуйрч голч нь 1-2 мм, гөлгөр захтай болно. Тунгалаг тэжээлт орчныг нэвт харахад эдгээр колони бараг тунгалаг, цайвар шаргал өнгөтэй байна. Дээрээс харахад колони гүдгэр, сувдан цагаан өнгөтэй харагдана. Дараа нь колони томорч бага зэрэг бараан өнгөтэй болно. Бруцелийн гөлгөр (S) өсгөвөр ургалтын явцад, ялангуяа сэлгэн өсгөвөрлөхөд өөрчлөгдөж барзгар (R) хэлбэрт шилжих хандлагатай байдаг. Дараа нь өсгөвөр улам бүүдийж илүү мөхлөгжин, гадаргуу нь бүрсийж ойсон болон нэвт гэрлээр харахад сарнимал цагаанаас хүрэн өнгөтэй харагдана. Кристал виолет будгаар будаж шилжилтийг дараах байдлаар хялбархан шалгана: барзгар колони улаан/нил ягаанаар, гөлгөр колони будагдахгүй эсхүл цагаан шаргал өнгөөр будагдана. Хэрэв колони гөлгөр байвал гөлгөр бруцелийн эсрэг ийлдсээр шалгах эсхүл хэрэв байгаа бол дан өвөрмөц А болон М эсрэг ийлдсээр шалгана.

Гөлгөр бус колони илэрсэн бол өсгөврийг бруцелийн R эсрэгтөрөгчийн эсрэг ийлдсээр шалгана. Колонийн хэлбэр зүйд өөрчлөлт орох нь үндсэндээ хоруу чанар, ийлдэс судлалын шинж чанар, эсхүл фагийн мэдрэх чанарт өөрчлөлт орсонтой холбоотой байна. Колонийн

өвөрмөц хэв шинжит хэлбэр, бруцел өвөрмөц эсрэг ийлдэстэй наалдуулах урвал болон дараачийн оксидаза, уреаза сорилоор эерэг гарсан нөхцөлд өсгөврийг урьдчилсан байдлаар бруцел гэж ялган таньж болно (хүснэгт 2 ба 3-ыг үз). Гэвч тэдгээрийг лавлах лабораторид үргэлжлүүлэн баталгаажуулах, хэвшлийг тогтоохыг зөвлөдөг.

1.2.3. Сорьц цуглуулах, өсгөвөрлөх

Өсгөвөрлөх аргаар амьтны бруцеллэз өвчнийг оношлоход хэрэглэх сорьцыг эмнэл зүйн шинж тэмдгийн илрэлээс хамааруулан сонгоно. Хамгийн тохиромжтой сорьц нь үтрээний шүүрэл (арчдас), зулбадас (ходоодны агуулагдахуун, дэлүү, уушги), хаг судас, сүү, үр, үений эсхүл түүнийг тойрсон усан хавангийн шингэн юм. Амьтны хүүрээс торлог хөхөлжийн системийн эд (толгой, дэлэн, үржлийн эрхтний тунгалгийн зангилаа, дэлүү), хээлтэй үеийн эсхүл төллөсний дараах үеийн сав, дэлэнгээс сорьц авна. Хэвийн нөхцөлд 3-4 хоногт өсгөвөрлөгдөх ба 7-10 хоноогүй байхад сөрөг гэж үзээд хаяж болохгүй. Бруцелийн тоо цөөхөн нөхцөлд дээжээс өсгөвөр гарах магадлал маш бага тул баяжуулах тэжээлт орчин хэрэглэх, мэдрэх чанарыг сайжруулахын тулд зэрэгцүүлээд молекул түвшний илрүүлэх аргыг хэрэглэх талаар авч үзэх хэрэгтэй.

1.2.3.1 Эд

Сорьцыг ариун хэрэгслээр үжилгүйжүүлэх арга ажиллагааг баримтлан авна. Авсан эдийн сорьцоос илүүдэл хэсгийг (өөх зэрэг) зайлуулаад дараа нь хэрчиж жижиглэн, хатуу тэжээлт орчин эсхүл баяжуулах шөлөнд тарихын өмнө түүнийг ариун, бага зэргийн ФБУ-ын хамт багажаар няцалж бэлтгэнэ.

1.2.3.2 Үтрээний шүүрэл

Хээл хаях эсхүл төллөсний дараа үтрээнээс арчдас авах нь бруцел өсгөвөрлөх маш сайн эх үүсвэр бөгөөд зулбадасны материалыг бодвол ажиллагсдад учрах эрсдэл бага юм. Арчдасыг ашиглан шууд хатуу тэжээлт орчны гадаргууд татаж тарина.

1.2.3.3 Сүү

Сүүнээс өсгөвөр гаргах нь ялангуяа бодгалийн эсхүл сүргийн түвшинд бруцел илрүүлэхэд маш чухал ач холбогдолтой. Эх малын дэлэнг угааж хатаан халдваргүйжүүлсний дараа сүүний сорьцыг цэвэрхэн авна. Хувийн хамгаалах хувцсыг байнга өмсөнө. Сорьц болгон дэлэнгийн хэлтэр бүрээс 10-20 мл сүү авах ба сорьцыг солбицон бохирдуулахгүй байх үүднээс дараагийн малаас сорьц авах бүрдээ бээлийгээ солих эсхүл халдваргүйжүүлнэ. Саасан эхний сүүг асгаж сүүний сорьцыг ариун саванд шууд сааж авна. Сүү саасан гараар сүүнд хүрэхээс зайлсхийнэ. Сүүг хурилдуурдаж, тослог болон тунасан хэсгийг тус тусад нь эсхүл хольж хатуу тэжээлт орчны гадаргууд тарааж эсхүл дээр дурдсанчлан шууд татаж тарина. Нийлүүлсэн сүүний дээжид бруцел байвал тоо нь ихэвчлэн цөөн байх тул ийм дээжээс өсгөвөр гаргах магадлал маш бага байдаг.

Хүснэгт 3. Бруцелийн зүйлүүдийн биохэвшил хоорондын ялгагдах шинжүүд

Зүйл	Биохэвшил	CO ₂ шаардагдах байдал	H ₂ S үүсгэлт	Будагтай орчинд ургах байдал ^a		Дан өвөрмөц ийлдсээр наалдуулах урвал			Лавлагаа омог		
				Тионин	Суурилаг фуксин	A	M	R	Омог	ATCC	NCTC
<i>B. abortus</i>	1	(+) ^b	+	–	+	+	–	–	544	23448	10093
	2	(+) ^b	+	–	–	+	–	–	86/8/59	23449	10501
	3 ^c	(+) ^b	+	+	+	+	–	–	Tulya	23450	10502
	4	(+) ^b	+	–	(+)	–	+	–	292	23451	10503
	5	–	–	+	+	–	+	–	B3196	23452	10504
	6 ^c	–	(–)	+	+	+	–	–	870	23453	10505
	9	+/-	+	+	+	–	+	–	C68	23455	10507
<i>B. melitensis</i>	1	–	–	+	+	–	+	–	16M	23456	10094

	2	–	–	+	+	+	–	–	63/9	23457	10508
	3	–	–	+	+	+	+	–	Ether	23458	10509
<i>B. suis</i>	1	–	+	+	(–)	+	–	–	1330	23444	10316
	2	–	–	+	–	+	–	–	Thomsen	23445	10510
	3	–	–	+	+	+	–	–	686	23446	10511
	4	–	–	+	(–)	+	+	–	40	23447	11364
	5	–	–	+	–	–	+	–	513	ND	11996
<i>B. neotomae</i>		–	+	– ^d	–	+	–	–	5K33	23459	10084
<i>B. ovis</i>		+	–	+	(–)	–	–	+	63/290	25840	10512
<i>B. canis</i>		–	–	+	(–)	–	–	+	RM6/66	23365	10854
<i>B. ceti</i>		(–)	–	(+)	(+)	+	(–)	–	B1/94 BCCN 94-74	ND	12891
<i>B. pinnipedialis</i>		(+)	–	+	(+)	(+)	(–)	–	B2/94 BCCN 94-73	ND	12890
<i>B. microti</i>		–	–	+	+	(–)	(+)	–	CCM4915 BCCN 07-01 CAPM 6434	ND	ND
<i>B. inopinata</i>		–	+	+	+	–	+ ^e		BO1 BCCN 09-01 CAPM 6436	ND	ND
<i>B. papionis</i>		–	–	–	–	+	–	–	F8/08-60 CIRMBP 0958	ND	13660
<i>B. vulpis</i>		–	–	+	+	+	–		F60 BCCN 09-2 DSM 101715	ND	ND

Эх сурвалж: Альтон нар 1988, Бруцеллёзын талаарх ХХААБ/ДЭМБ-ын хамтарсан экспертийн хороо, Ватмор (2009), Ватмор нар (2014), Шолц нар (2016).

Түлхүүр:

- (+)/(–) ихэнх өсгөвөр эсрэг/сөрөг
 a Ийлдэс-декстрозтой агар дахь будгийн төвшрүүлэг: 20 мкг/мл
 b Үндсэн өсгөвөрт ихэвчлэн эерэг
 c Бх. 3 ба 6-г илүү тодорхой ялгаварлахын тулд 40 мкг/мл төвшрүүлэгтэй тиониныг нэмж хэрэглэнэ: бх. 3 = +, бх. 6 = –
 d 10 мкг/мл төвшрүүлэгтэй тионинд ургана
 e Сул наалдана
 ND Тодорхойлоогүй

1.2.3.4 Сүүн бүтээгдэхүүн

Бяслаг зэрэг сүүн бүтээгдэхүүнийг дээр тодорхойлсон тэжээлт орчинд өсгөвөрлөнө. Эдгээр бүтээгдэхүүн үүсгэгчийг цөөн тоогоор агуулах магадлалтай тул баяжуулах орчин эсхүл сонгомол тэжээлт орчин хэрэглэнэ. Өсгөвөрлөхийн өмнө сорьцыг сайтар жижиглэн нэгэн жигд болгоод дээр нь тохирох хэмжээгээр ариун ФБУ нэмж (хэт шингэлэхгүй) цахилгаан нунтаглагчид хийж сайтар холино. Холимгийн өнгөний хэсэг, үндсэн хэсэг бүгдээс нь өсгөвөрлөнө. Технологийн үйл ажиллагааны онцлогтой холбоотой тухайн физик-химийн нөхцөлөөс хамаарч бруцеллүүд ургах, амьд орших эсхүл алга болох нь маш хурдан учир тэдгээрийн тархалт сүүн бүтээгдэхүүний янз бүрийн хэсэгт өөрчлөгдөнө.

1.2.3.5 Үений үрэвсэл/усан хаван – буглааны агуулагдахуун

Энэ төрлийн сорьцыг халдвар оруулалгүй цэвэрхэн цуглуулж сонгомол, хатуу тэжээлт орчны гадаргууд шууд тарааж тарина.

Дээрх бүх сорьцыг авсан даруйдаа хөргөж (4–10°C) хамгийн хурдан арга замаар лабораторид зөөвөрлөн хүргэнэ. Ингэж чадахгүй бол үүсгэгчийн амьдрах чадварыг алдагдуулахгүйн тулд сорьцыг хөлдөөн тээвэрлэнэ. Сүү, эдийн сорьц, бусад биологийн шингэнийг лабораторид хүлээж аваад хэрэв тэр даруйдаа өсгөвөрлөхөөргүй бол хөлдөөнө.

1.2.3.6 Цусны өсгөвөр

Малын цуснаас өсгөвөр гаргах боломжтой ч бактери ерөнхийдөө цусанд түр зуур эсхүл сэлгэх байдлаар тархах тул энэ аргыг өргөн хэрэглэдэггүй. Богино хугацаанд (4–7 хоног; Alton, 1988) өсгөвөр гаргах зорилгоор үл бүлэгнүүлэгчтэй (натрийн цитрат эсхүл гепарин, харин EDTA

[этилен-диамин тетра цууны хүчил] хэрэглэхгүй) авсан цусыг сонгомол эсхүл сонгомол бус орчинд шууд өсгөвөрлөж болно. Триптиказ-шар буурцгийн шөл зэрэг тохирох сонгомол бус тэжээлт орчинд цуснаас тарилт хийж долоо хоногийн зайтай Фарреллийн тэжээлт орчинд 4 долоо хоног хүртэл сэлгэн өсгөвөрлөх хувилбар бий.

1.2.3.7 Амьтанд зорчуулах

Хэдийгээр он удаан жил хэрэглэж ирсэн түүхтэй ч зайлшгүй чухал биш бол лабораторийн амьтан ашиглахаас зайлсхийх хэрэгтэй бөгөөд гагцхүү маш их бохирдсон сорьц шинжлэх эсхүл сорьцод бруцелийн тоо бага байх магадлалтай зарим нөхцөлд бруцел илрүүлэх зорилгоор түүнийг хэрэглэж болно.

Амьтанд халдвар хийхдээ хулганын хураагуур судас эсхүл хэвлийн хөндийд, усан гахайн булчин, арьсан дор, хэвлийн хөндийд хийнэ. Энэ ажлыг 1.1.4 дүгээр бүлэгт заасны дагуу биоаюулгүйн шаардлага хангасан нөхцөлд гүйцэтгэнэ. Халдвар хийсэн хулганын дэлүүг халдвар хийснээс хойш 7 дахь хоногт, усан гахайн дэлүүг 3-6 долоо хоногийн дараа авч өсгөвөрлөнө. Усан гахайд задлан шинжилгээ хийхээс өмнө зүрхэнд хатгалт хийж цус авч ийлдэс бэлтгэн бруцелийн буфержүүлсэн эсрэгтөрөгчийн шинжилгээ хийхэд эерэг дүн үзүүлбэл бруцеллээс өвчин байх өндөр магадлалтай (Alton нар, 1988).

1.3. Ялган таних, хэвшил тогтоох

Бруцелийн өвөрмөц хэв шинжит хэлбэр бүхий бүх колониос түрхэц бэлтгэн Грамаар будаж шалгана. Ийлдэс судлалын шинж чанар ёсоор гөлгөр бус төлөвт байх үедээ будаг болон фагд мэдрэмтгий байдал нь ихэвчлэн өөрчлөгддөг бөгөөд колонийн хэлбэр зүйг анхаарах нь хэвшил тогтоох дор дурдсан шинжилгээнд чухал ач холбогдолтой. Колонийн хэлбэр зүйг судлахад зөвлөдөг арга нь: ойсон ташуу гэрлийн Хэнригийн арга, Браун нарын тодорхойлсон акриплавины сорил, кристал виолетээр колонийг будах Вайт нарын арга юм (Alton нар, 1988).

Дараах шинжилгээг хамтатган хэрэглэж бруцел бичил биетнийг зүйлийн болон биохэвшлийн түвшинд ялган танина. Үүнд: Грам эсхүл Штампны аргаар будаж үүсгэгчийн хэлбэр зүйг судлах, колонийн хэлбэр зүй, өсгөвөрлөгдөх байдлыг шууд харах, уреазы, оксидазагийн сорил тавих, бруцелийн эсрэг олон гарлын ийлдэс хэрэглэн тавиур шил дээр наалдуулах урвал тавих зэрэг болно. Үүсгэгчийн зүйл болон биохэвшлийг ялган танихад нарийн шинжилгээ (фаг задрах, А-эсрэг, М-эсрэг, R-эсрэг дан өвөрмөц ийлдэсээр наалдуулах урвал тавих) шаардагдах ба тэдгээр аргыг хэрэглэх итгэмжлэл бүхий лавлах лабораторид шинжилгээ хийнэ. Тбилис (Tb), Вейбриж (Wb), Изатнагар 1 (Iz1), R/C зэрэг хэд хэдэн фагийг туршлагатай хүмүүс нэгэн зэрэг ашиглаж фагаар ялган таних систем бүрдүүлэн хэрэглэснээр бруцелийн зүйлийг бодитойгоор ялган танина.

Харин өсгөвөрлөхөд шаардагдах нэмэлт CO₂, H₂S-ын (цуу хүчлийн хар тугалганы цаасан туузаар илрүүлнэ) үүсэлт, суурилаг фуксин, тионинтэй орчинд өсгөвөрлөгдөх байдал зэрэг хэд хэдэн шинж чанарыг тусгай зориулалтын бус, дунд зэргийн тоноглолтой лабораторид (хүснэгт 2 ба 3-ыг үз) тогтмол хийдэг шинжилгээгээр тогтооно. Эдгээр шинжилгээний арга ялангуяа бруцелийн зүйл тогтоох түвшинд хэрэгтэй хэвээр байгаа ч биохэвшлийг эпидемиологийн маркер болгон авч үзэх нь улам бүр эргэлзээ төрүүлж байгаа, тэр дундаа *B. melitensis*-ийн, бас *B. abortus*-ын зарим биохэвшлийн тухайд генетикийн жинхэнэ ангилалтай нийцэхгүй байгаа нь молекул түвшинд нотлогдоод байна.

MALDI-TOF (matrix assisted laser desorption ionisation time of flight) буюу Бичил биетний эсийн уургийн задрагийг харьцуулах масс-спектрометрийн аргыг оношилгооны бичил амь судлал болон бруцелийг ялган танихад хэрэглэх нь ихсэж байна. Энэ арга бруцелийн зүйлүүд доторх генетикийн ойр хамаарлаар бруцелийг төрлийн түвшинд ялган танихад үр дүнтэй нь харагдаж байгаа ч хэрэглэхэд бэлэн мэдээлэл хязгаарлагдмал учраас бруцелийн зүйлийг найдвартай, мадаггүй ялгаварлах боломж хараахан бүрдээгүй байна.

B. abortus, *B. melitensis*, *B. suis* омгийг хадгалах, хэвшил тогтоолгохоор лавлах лабораторид илгээхдээ зөвхөн гөлгөр колонийг сонгох нь маш чухал юм. Өсгөврийг түр хугацаагаар ашиглах бол 5°C ±3°C-д, удаан хугацаагаар бол хөлдөөн хатаагаад 15% (э/э) глицеринтэй триптозын шөлөнд эргэдэг тагтай шилэнд хийж ≤ -16°C-д хадгална. Тээвэрлэхдээ өсгөврийг хөлдөөн хатаагаад цодонд хийж багцлан эргэдэг тагтай хайрцагт хийж эсхүл эргэдэг тагтай лонхонд хийсэн тохирох мах пептоны ташуу агарт сэлгэн өсгөвөрлөж явуулна. Түүнчлэн омгийг зөөвөрлөх орчинд (жишээ нь Амис) хийгээд илгээж болох ч энэ нь задрахад хүргэж болзошгүй.

Бруцелийн өсгөврийг тээвэрлэхэд лонх, хайрцгийн тагийг нягт таглаж поливинилхлоридийн туузаар битүүмжилнэ. Лонхыг уудаг цаас эсхүл хөвөнгөөр хулдаад полиэтилен уутанд хийж аюултай бараа тээвэрлэх талаар Олон улсын агаарын тээврийн холбоо (IATA)-оос гаргасан шаардлагын дагуу хатуу хайрцагт (гурван давхар савлагаа) савлана (IATA, 2021). Эдгээр журмыг 1.1.2. Оношилгооны сорьц цуглуулах, тээвэрлэх, хадгалах болон 1.1.3. Биологийн материал тээвэрлэх бүлэгт тус тус товчлон оруулсныг дагаж мөрдөнө.

1.4. Нуклеин хүчлийг илрүүлэн таних арга

ПГУ, түүний дотор бодит цагийн урвалын хувилбар нь бруцелийн зүйлийг илрүүлэн ялган таних нэмэлт арга юм (Bricker, 2002; Lopez-Goni нар, 2011; Ocampo-Sosa нар, 2005; Whatmore & Gopaul, 2011). ДНХ гомолог чанар бруцелийн төрөл дотор маш өндөр хэдий ч молекул түвшний хэд хэдэн уламжлалт арга, түүний дотор ПГУ, нуклеин хүчлийн таслагдах хэрчмийн уртын полиморфизм (RFLP), Саудерн блот арга нь бруцелийн зүйлийг болон тэдгээрийн зарим биохэвшлийг тодорхой хэмжээнд ялгаварлах боломж олгоно (Bricker, 2002; Moreno нар, 2002; Whatmore & Gopaul, 2011).

Бруцелийг ялгаварлах анхны зүйл-өвөрмөц мультифлес ПГУ-ыг Брикер нар (1994) боловсруулсан байна. AMOS-PCR гэж нэрлэгдэх энэ арга нь бруцелийн хромосом дахь IS711 жижиг оруулга хэсгийн дарааллын зүйл-өвөрмөц байршлаас үүдэлтэй полиморфизмд суурилсан ба олигонуклеотидийн таван праймер нь 1, 2, 4 биохэвшлийг хооронд нь ялгаварлахгүйгээр *B. abortus*-ыг ялган таних боловч 3, 5, 6, 9 биохэвшил бүхий *B. abortus*-ыг ялган илрүүлж чадахгүй. Өнгөрсөн хугацаанд аргын үр дүнг сайжруулах өөрчлөлт хийж *B. abortus*-ын вакцины омог, бусад биохэвшил, зүйлийг ялган таних омог-өвөрмөц праймер нэмж оруулжээ (Ocampo-Sosa нар, 2005). Бруцелийг нэг шатлалаар хялбархан ялган таних мультиплекс ПГУ-ын арга (Bruce-ladder) гарсан байна (Lopez-Goni нар, 2011). Өмнө гарсан ПГУ-аас энэ аргын гол давуу тал нь ихэнх бруцелийн зүйл болон вакцины *B. abortus* 19 дүгээр омог (S19), *B. abortus* RB51, *B. melitensis* Rev.1 омгийг ялгаварладагт оршино. Бусад ПГУ-аас ялгаатай нь Bruce-ladder цомгоор *B. neotomae*, *B. pinnipedialis*, *B. ceti*-ийн ДНХ-ийг илрүүлэх боломжтой. Bruce-ladder ПГУ-ын анхны хувилбар одоо шинэчлэгдээд байна. Хэд хэдэн лабораторид баталгаажуулаад байгаа шинэчилсэн Bruce-ladder v2.0 цомгоор *B. suis* болон *B. canis*-ийг хооронд нь ялгаварлахын зэрэгцээ Канг нарын (2011) мэдээлсэн өөрчлөлтөөр бас *B. microti*-ийг ялгаварлах боломжтой болжээ. Үүнтэй төстэй, шинэчилсэн өөр нэг мультиплекс ПГУ-ыг (Suis-ladder) *B. suis*-ийн омгийг биохэвшлийн түвшинд түргэн, мадаггүй ялган таних зорилгоор боловсруулсан байна (Lopez-Goni нар, 2011). Бруцелийн бүх зүйлийг *B. suis*-ийн биохэвшил, вакцины омгийг ялган таних боломжтой өөр нэг хувилбар болох дан нуклеотидийн полиморфизмаар (SNP) ялгаварлах аргад суурилсан праймерийн уртасгалт эсхүл бодит цагийн ПГУ эсхүл лигазагийн гинжин урвалын аль аль аргыг боловсруулжээ. Эдгээр арга нь түргэн, хялбар, мадаггүй бөгөөд популяцийн генетикийн найдвартай дүн шинжилгээнд тулгуурлан сонгон хэрэглэж байгаа маркерууд нь бруцелийн зүйл/биохэвшлийн өвөрмөц чанарыг хангахад тусална.

Эпидемиологийн чухал мэдээллээр баяжуулдаг бусад хэд хэдэн аргыг боловсруулан өргөн хэрэглэж байна. Эдгээрт мультилокуст дарааллын хэвшил тогтоох арга (Whatmore & Foster, 2021) болон MLVA (multiple locus variable number of tandem repeats analysis)-д суурилсан хэвшил тогтоох хэд хэдэн арга орно (Le Fleche нар, 2006; Scholz & Vergnaud, 2013; Whatmore & Foster, 2021). Тухайн сонгосон маркераас хамааран эдгээр арга нь өсгөврийг зүйлийн түвшинд ялган таних, дэд зүйлийн түвшний эпидемиологийн мэдээллээр хангах боломж олгоно. Эцэст нь бүтэн геномын дараалалд суурилсан шинжилгээний арга нь ердийн тандах судалгаа болон хэд хэдэн халдварт өвчин, түүний дотор бруцеллэзын дэгдэлтийг илрүүлэх хэрэгсэл болон хурдан нэвтэрч байна. Эдүгээ хөгжүүлж байгаа төрөл бүрийн шинжилгээний аргын, тэр дундаа дан нуклеотидийн полиморфизмд суурилсан арга эсхүл геномын мультилокуст дарааллаар хэвшил тогтоох (cgMLST) аргаар ген нэг бүрийг харьцуулах замаар бүтэн геномын дараалал тогтоох чиг хандлага нь эпидемиологийн судалгааны нарийвчлалыг улам сайжруулна.

1.5. Вакцины омгийг ялган таних

Вакцины *B. abortus* S19, *B. melitensis* Rev.1, *B. abortus* RB51 омгийг өвөрмөц ПГУ хэрэглэн (Kang нар, 2011; Lopez-Goni нар, 2011) эсхүл эсийн өсгөвөрт тэдний өсгөвөржих шинж чанараар ялган тогтооно.

Brucella abortus S19 нь *B. abortus* омгийн бх. 1-ийн өвөрмөц хэв шинжит шинж чанарыг хадгалдаг ба CO₂ шаардахгүй, бензил пенициллин (3 мкг/мл = 5 ОУН/мл), тионины хөх (2 мкг/мл), эсхүл и-эритритол (1 мг/мл) (бүгд эцсийн төвшрүүлэгтэй) байгаа нөхцөлд ургахгүй, L-глутамат ихээр шаардана (Alton нар, 1988).

Brucella melitensis Rev.1 омог нь *B. melitensis*-ийн бх. 1 омгийн өвөрмөц хэв шинжит шинж чанарыг хадгалдаг ч хатуу тэжээлт орчинд маш жижиг колони үүсгэн өсгөвөрлөгдөх ба суурилаг фуксин, тионин (хоёул 20 мкг/мл) эсхүл бензил пенициллин (3 мкг/мл)-тэй нөхцөлд ургахгүй, харин стрептомицин 2.5 эсхүл 5 мкг/мл (5 ОУН/мл) байхад өсгөвөрлөгдөнө (Alton нар, 1988).

Brucella abortus RB51 омгийг *B. abortus*-ын бх. 1 гөлгөр омгоос түүний барзгар байдал болон рифампицинтэй (нэг мл орчинд 250 мкг) орчинд ургах чанараар ялгаварлана.

2. Ийлдэс судлалын арга

Эпидемиологийн аливаа нөхцөл байдалд, бүх төрлийн мал, амьтанд тохирох ийлдэс судлалын шинжилгээний нэг ч арга байхгүй бөгөөд шинжилгээний аль ч аргад ялангуяа түүнийг бодгаль амьтанд хэрэглэхэд учир дутагдалтай байдаг. Тухайн оношилгооны аргын үр дүнд үнэлгээ хийх эсхүл үр дүнг ашиглах үүднээс шинжилгээний аргын хэрэгцээ, шинжилгээний үр дүнд нөлөөлөх хүчин зүйлийг харгалзан үзнэ. Бруцелийн гөлгөр омог ашиглан

вакцинжуулалт хийсэн эпидемиологийн нэгжид ямар аргаар (тун/олгосон зам) вакцинжуулснаас хамааран үүссэн эсрэг бие нь халдварын хээрийн омогтой солбицох урвалд орох тул вакцинжуулсан амьтны дунд ийлдэс судлалаар эерэг үр гарна гэж таамаглаж болно. Үүнээс гадна хэд хэдэн бактери, ялангуяа *Yersinia enterocolitica* O:9 өдөөж болох эсрэг биеийн хариу урвал нь бруцеллэзын ийлдэсний хуурамч эерэг урвал (ИХЭУ) үзүүлж ийлдэс судлалын үнэн зөв оношилгоог будилуулна. ИХЭУ бүх мал, амьтанд цаг хугацаа, бүс нутгаас хамааран янз бүрийн түвшинд гарна.

Ийлдэсний наалдуулах урвал (ИНУ)-ыг олон улсын худалдааны зорилгоор хэрэглэхэд үндсэндээ хангалтгүй гэж үздэг. Хавсарга холбох урвал (ХХУ) ИНУ-аас илүү өвөрмөц, мөн стандарт хэмжлийн нэгжтэй боловч хавсаргын эсрэг идэвх урвалын үр дүнд нөлөөлж болно. Энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА) болон флюоресценц туйлшруулалтын аргын (ФТА) оношилгооны эцсийн үр дүн нь ХХУ-тай дүйцэхүйц эсхүл түүнээс илүү сайн байдаг бөгөөд хэрэглэхэд илүү хялбар, илүү найдвартай учир эдгээр аргыг хэрэглэхийг эрхэмлэнэ. Эдгээр аргын оношилгооны гүйцэтгэлийг үхэр, бог мал, гахайд харьцуулан гаргасан байна.

Үндэсний болон орон нутгийн хэмжээнд бруцеллэз өвчинтэй тэмцэхэд Роз бенгалын урвал (РБУ) болон хавтанд наалдуулах буфержүүлсэн урвал, ЕЛИЗА, ФТА-ыг илрүүлэх шинжилгээний тохиромжтой арга гэж үздэг. Шинжилгээний зорилгоос хамаарч эерэг урвалтай дээжийг баталгаажуулалтын эсхүл орлуулах шинжилгээний аргаар дахин шинжилнэ.

Бусад амьтан, тухайлбал одос үхэр (*Bubalus bubalis*), Америк болон Европ бизон (*Bison bison*, *Bison bonasus*), сарлаг (*Bos grunniens*), хандгай (*Cervus elaphus*), тэмээ (*Camelus bactrianus*, *C. dromedarius*), Өмнөд Америкийн тэмээний овгийн амьтанд бруцелийн халдвар үхэрт тохиолддогтой нэгэн адил байна. Эдгээр амьтанд ийлдэс судлалын ижил арга хэрэглэх ба харин амьтны зүйл бүрд тохирох эсэхийг шалган баталгаажуулна.

2.1. Лавлагааны ийлдэс

ДМАЭМБ-ын лавлагааны стандарт гэж түүний эсрэг бусад аливаа стандартыг харьцуулж стандартчилсан ийлдэс юм. Эдгээр лавлагааны стандартыг үндэсний хэмжээний лавлах лабораториуд авч болох ба хоёрдогч эсхүл үндэсний стандартыг гаргаж авч, түүнд суурилан ажлын стандарт бэлтгэн оношилгооны лабораторид тогтмолжсон оношилгооны ажилд хэрэглэнэ.

Эдгээр ийлдсийг Олон улсын стандарт ийлдэс² болгон ДМАЭМБ-аас боловсруулж гаргасан. Дараах стандарт ийлдсийг хэрэглэх нь оношлох шинжилгээг уялдуулах, эсрэгтөрөгчийг стандартчилах ажлыг идэвхжүүлнэ.

- РБУ, ХХУ, ИНУ болон сүүний цагариган урвал (СЦУ)-д ДМАЭМБ-ын Олон улсын стандарт ийлдэс (ОУСИ, өмнө нь ДЭМБ-ын хоёрдох олон улсын стандарт, *Brucella abortus*-ын эсрэг ийлдэс гэж нэрлэж байв; ДЭМБ, 1953)-ийг ашиглана. Энэ ийлдэс нь үхрийн гаралтай, 1000 ОУН (ИНУ) болон 1000 ОУХХУН (олон улсын хавсарга холбох урвалын нэгж) агуулна.
- Шууд бус ЕЛИЗА (I-ELISA), өрсөлдөөнт эсхүл саатуулагч ЕЛИЗА, үхэрт ФТУ-аар шинжилгээ хийхэд хэрэглэх ДМАЭМБ-ын ЕЛИЗА-ийн гурван стандарт ийлдэс бий. Эдгээр ийлдэс мөн адил үхрийн гаралтай, илт эерэг (OIEELISASPSS), сул эерэг (OIEELISAWPSS), сөрөг (OIEELISANSS) стандартаас бүрдэнэ.
- Хонь, ямаанд I-ELISA, C-ELISA, ФТУ-аар шинжилгээ хийхэд Олон улсын стандарт *Brucella melitensis*-ийн эсрэг ийлдэс (ОУБмСИ) хэрэглэнэ (McGiven нар, 2011).
- Гахайд I-ELISA, C-ELISA, ФТУ-аар шинжилгээ хийхэд хэрэглэх ДМАЭМБ-ын олон улсын стандарт ийлдэс одоохондоо байхгүй. Гэхдээ гахайн I-ELISA, C-ELISA ба EUPigBSS-ийн Европын холбооны стандарт бий³.

2.2. Эсрэгтөрөгч бэлтгэх

РБУ, ХХУ, ИНУ, ФТУ-ын шинжилгээнд хэрэглэх эсрэгтөрөгчийг бэлтгэхэд ямагт *Brucella abortus* омог 99 (Вейбриж) (S99)³ эсхүл *B. abortus* омог 1119-3 (USDA) (S1119-3)⁴ омог ашиглана. Эдгээр *B. abortus* омгийг ЕЛИЗА, Гаптений сорилд хэрэглэх уусдаг эсрэгтөрөгчийн (гөлгөр липополисахарид [S-LPS] эсхүл О-полисахарид [OPS]) эх үүсвэр болгон хэрэглэж болох ба энэ зорилгоор *B. melitensis* омог 16М-ийг ч бас хэрэглэж болно. *B. abortus* эсхүл *B. melitensis* 16М аль ч омгоор хийсэн эсрэгтөрөгчийг гөлгөр бруцелээр үүссэн ямар ч халдварыг илрүүлэхэд хэрэглэнэ.

Омог нь бүтэн гөлгөр, давсны уусмал, акриплавины 0.1%-ийн (ж/э) уусмалд өөрөө наалддаггүй байна. Эдгээр омог цэвэр өсгөвөр байх ёстой ба *B. abortus* бх. 1 эсхүл *B. melitensis* бх. 1-ийн CO₂-оос хамааралгүй шинж чанартай нь баталгаажсан байна. Жинхэнэ эх өсгөврийг цааш өсгөвөрлөж эдгээр

² ИБУИНХУ дахь ДМАЭМБ-ын Бруцеллэз өвчний лавлах лабораториос авах боломжтой (ДМАЭМБ-ын лавлах лабораторийн цахим жагсаалт: <https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3>).

³ Франц дахь ДМАЭМБ-ын Бруцеллэз өвчний лавлах лабораториос авах боломжтой.

⁴ АНУ-ын Хөдөө аж ахуйн департамент, АНУ-ын Аиова муж, Амес хот, 1800, Дэитон гудамж, Үндэсний мал эмнэлгийн үйлчилгээний лабораториос авах боломжтой.

омгийн баталгаатай шинж чанар бүхий эх омгийн бэлдцийг бэлтгэн хөлдөөн хатаах эсхүл шингэн азотод хөлдөөх аргаар хадгалж хамгаална.

Эсрэгтөрөгч бэлтгэхийн тулд эх өсгөврийг төмсний идээшмэл хэд хэдэн ташуу агарт тариад $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ -д 48 цаг инкубацлана. Дээр зөвлөсөнчлөн тохирох эх өсгөврийг ашигласан нөхцөлд 5%-иар адууны эсхүл дөнгөж төрсөн нялх тугалын ийлдэс эсхүл 0.1%-ийн хөрөнгөний ханд нэмсэн ИДА болон ТШБА бол шаардлага хангах хатуу тэжээлт орчин болж өгнө. Өсгөврийн цэвэршилтийг шалгаад ариун pH 6.4 ФБУ-д дахин уусган сэргээж Ру колбод цутгасан төмсний идээшмэлтэй агар эсхүл глицерин декстрозтой агарт тарина. Колботой өсгөврийн тарилт хийсэн гадаргууг доош харуулаад $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ -д 72 цаг инкубацлана. Колбо тус бүрийн өсгөврөөс дээж авч Грамаар будаж цэвэршилтийг шалгана. Колбо тус бүрд 50-60 мл фенол давсны уусмал (натрийн хлоридийн 0.85% уусмалд 0.5%-иар фенол) нэмж хийгээд үүсгэгчийг зайлж авна. Колбыг аяархан зайлаад цийдмэгийг тунааж 80°C -д 90 минут халааж үүсгэгчийг идэвхгүйжүүлнэ. Үүсгэгчийн амьдрах чадварыг шалгасны дараа $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ -д хадгална.

Өөр нэг хувилбар нь эсийг ферменторт дор дурдсан шингэн тэжээлт орчин ашиглан цувралаар эсхүл дамжмал өсгөвөр байдлаар үйлдвэрлэж болно. Шингэн орчны найрлагад: (цэвэршүүлсэн усны нэг литр тутамд) D-глюкоз (30 г), өндөр зэрэглэлийн пептон (30 г), хөрөнгөний эсийн ханд (Дифко) (10 г), натрийн хоёр молекул устай фосфат (9 г), хоёр натрт нэг молекул устай фосфат (3.3 г) орох ба анхны pH 6.6 (± 0.2) байснаа өсгөвөрлөх явцад pH 7.2 (± 0.2) болж өсөх хандлага гарна. Пептон, хөрөнгөний хандны бүх цувралыг шалгаж хэвийн бус эсхүл саланги эс үүсгэхгүйгээр сайн ургалт өгөх чанартай эсэхийг тогтооно. Өсгөвөрлөх явцад орчныг эрчимтэй агааржуулах, хүчтэй хутгах, 0.1 M HCl ариутгасан уусмал нэмэх замаар pH 7.2 (± 0.2) тохируулах шаардлага гарна. Тарилт хийх эх омгийг дээр дурдсанаар бэлтгэнэ. Өсгөврийг $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ -д 48 цаг инкубацлана. Дамжмал эс өсгөвөрлөх ажилд нэлээд хугацаа зарах ба өсгөвөрлөх ажлыг хэвийн явуулахад багагүй туршлага шаардана. Өсгөвөр цэвэр байх, амьдрах чадвартай үүсгэгчийн тоо тохиромжтой байх, барзгар хэлбэрт шилжчихгүй байлгахын тулд хатуу, шингэн аль ч орчинд өсгөвөрлөх үйл ажиллагааны явцад хяналт тавина. Аливаа эсрэгтөрөгч бэлтгэхэд хэрэглэх эсийг хурааж авах шатанд түүний цэвэршилт, гөлгөр гадаргуутай эсэхийг шалгана.

Фенолтой давсны уусмалаар шингэлж авсан өсгөврийг хурилдуурдах замаар үүсгэгчийг өтгөрүүлнэ. Үүсгэгчийг 80°C -д 90 минут халааж үхүүлээд $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ -д хадгална. Энэ нь физиологийн уусмалд бүрэлдсэн тогтвортой цийдмэг бөгөөд өөрөө наалдах шинж чанаргүй байна. Цийдмэгт үүсгэгчийн амьдрах чадварыг шалгах ба $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ -д 10 хоног инкубацлахад өсгөвөржилт ажиглагдахгүй байх ёстой. Винтробын нарийхан, хэмжээстэй цодонд 1 мл цийдмэг хийж 3000 g-д 75 минут хурилдуурдан идэвхгүйжүүлсэн цийдмэг дэх тунасан эсийн эзлэхүүнийг тодорхойлно.

2.3. Бруцелийн буфержүүлсэн эсрэгтөрөгчийн шинжилгээний арга (ББЭА)

2.3.1. Роз бенгалын урвал

Энэ урвал нь бенгалын ягаан будгаар будсан эсрэгтөрөгч ашиглан pH 3.65 ± 0.05 хүргэн буфержүүлсэн энгийн наалдуулах урвал юм (Morgan нар, 1969).

2.3.1.1 Эсрэгтөрөгч бэлтгэх

РБУ-ын эсрэгтөрөгчийг бэлтгэхдээ үхүүлсэн *B. abortus* S99 эсхүл S1119-3 эсийг $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ -д 23,000 g-аар 10 минут (эсхүл 14,000 g-д 40 минут) хурилдуурдан тунааж улмаар фенол давсны ариутгасан (0.5%) уусмалд 22.5 мл-д 1 г харьцаагаар нэгэн жигд дахин цийдмэгжүүлнэ.

(Жич: хэрэв эсийн баяжмал бэлтгэх явцад тунадасжуулагчаар натрийн карбоксиметил целлюозыг авч хэрэглэсэн бол будалт хийхээс өмнө цийдмэгийг урьтал шүүлтүүр бүхий AMF-CUNO Zeta-plus [CPR 01A] шүүлтүүрээр шүүж уусдаггүй үлдцийг авна.) Шингэн тэжээлт орчинд эс өсгөвөрлөж байгаа тохиолдолд (жишээ нь ферменторт) бактерийн цийдмэгийг хурилдуурдахаас өмнө 0.1 мкм шүүлтүүртэй тангент урсгалаар шүүх систем ашиглан шүүж фенол давсны ариутгасан уусмалаар гурав дахин угааж (1:3 харьцаа) өтгөрүүлэх боломжтой. Цийдмэгийн 35 мл бүрд ариутган цэвэршүүлсэн усанд 1% (ж/э)-иар уусгасан 1 мл Роз бенгалын (CI No. 45440) уусмал нэмж холимгийг тасалгааны хэмд 2 цаг холино. Холимгийг ариутгасан хөвөн шүүлтүүрээр шүүж 10,000 g-аар хурилдуурдан будсан эсийг тунааж дараа нь 7 мл шингэлэгчид (21.1 г NaOH-ийг 353 мл ариутгасан фенол давсны уусмалд уусган 95 мл сүүний хүчил нэмээд ариутгасан фенол давсны уусмалыг 1056 мл хүртэл хийнэ) 1 г эс орох харьцаагаар нэгэн жигд уусган сэргээнэ. Цийдмэгийн өнгө тод ягаан, хурилдуурдсан сорьцын дээд шингэн хэсэг будаггүй, pH нь 3.65 ± 0.05 байна. Хөвөнгөөр шүүсний дараа цийдмэгийг Sartorius No. 13430 хийцийн шилэн хөвөн урьдал шүүлтүүрээр шүүж тунасан эсийн эзлэхүүнийг ойролцоогоор 8% байхаар тохируулаад ДМАЭМБ-ын ОУСИ-ын эсрэг стандартчилахаар хүлээлэгд оруулж харанхуй нөхцөлд $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ -д хадгална. Эсрэгтөрөгчийг үйлдвэрлэгчийн зөвлөсний дагуу хадгална. Түүнийг хөлдөөж болохгүй.

2.3.1.2 Эсрэгтөрөгчийг стандартчилах

Шинжилгээнд стандарт аргад ашиглаж байгаа нөхцөлд РБУ-ын эсрэгтөрөгч нь 0.5%-ийн фенол давсны уусмал эсхүл физиологийн уусмалд шингэлсэн ДМАЭМБ-ын ОУСИ-ын 1/55 шингэлэлтэд биш харин 1/45 шингэлэлтэд эерэг урвал тодорхой үзүүлэх ёстой.

ОУБМСИ хэрэглэн нэмж шалгаж болно. Энэ стандартын эерэг үр дүн өгөх хамгийн дээд шингэрүүлэлт (ямааны сөрөг ийлдсэнд) нь 1/16-д, сөрөг үр дүн өгөх хамгийн бага шингэрүүлэлт (ямааны сөрөг ийлдсэнд) 1/200-д байхаар тус тус тогтоогдсон байна (McGiven нар, 2011).

Эсрэгтөрөгчийн шинэ болон өмнө нь стандартчилагдсан цувралын урвалжит чанарыг маш сайн тогтоосон лавлагааны цомог ийлдэстэй харьцуулж үзэхийг зөвлөдөг.

Гэвч ОУБМСИ-ийн эсрэг дээрх стандартчилал нь *B. melitensis*-ийн халдварыг бог малд оношлоход зориулсан Роз бенгалын урвалын эсрэгтөрөгчийн зарим цувралын мэдрэх чанар буурах, ХХУ-ын дүнгээс зөрөхөд хүргэж болзошгүй юм (Blasco нар, 1994а). Шинжилгээний стандартад дурдсан шиг бүгдийг ижил эзлэхүүнээр авахын оронд ийлдсийн гурван эзлэхүүн, эсрэгтөрөгчийн нэг эзлэхүүн (жишээ нь 75 мкл ба 25 мкл) хэрэглэвэл бог малыг ХХУ-аар шинжлэхэд гарах дүнгийн зөрөөг багасгаж болно. Гэвч РБУ-ын энэ өөрчлөлтийг үхэр, гахайн ийлдэс шинжлэхэд хэрэглэж болохгүй.

2.3.1.3 Шинжлэх арга зүй

- i) Ийлдсийн сорьц, эсрэгтөрөгчийг тасалгааны хэмтэй (22°C ±4°C) болгоно. Зөвхөн тухайн өдрийн шинжилгээнд хүрэлцэх эсрэгтөрөгчийг хөргөгчөөс гаргана.
- ii) Ийлдсийн сорьцоос 25–30 мкл дээж авч цагаан хавтан, паалантай эсхүл хуванцар хавтан, эсхүл ДЭМБ-ын цус наалдуулах урвалын хавтанд хийнэ.
- iii) Эсрэгтөрөгчтэй цодонг сайтар, гэхдээ аяархан зайлж ийлдэс тус бүрийн дуслын хажууд түүнтэй ижил хэмжээгээр дусаана.
- iv) Хавтанд эсрэгтөрөгчийн сүүлийн дуслыг дусаасны дараа удаалгүй ийлдэс, эсрэгтөрөгчийг сайтар хольж (урвал бүрд цэвэр шил эсхүл хуванцар савх хэрэглэнэ) ойролцоогоор 2 см голчтой дугуй эсхүл зууван бүс үүсгэнэ.
- v) Холимгийг ердийн зайлагч (урвалын бүс зууван бол) эсхүл гурван чиглэлээр зайлагч (урвалын бүс дугуй бол) дээр тавиад тасалгааны хэмд 4 минут аяархан зайлна.
- vi) 4 минут өнгөрөнгүүт наалдуулах урвалын дүнг уншина. Аливаа өнгөтэй харагдахуйц наалдалтыг эерэг урвал гэж үзнэ. Хамгийн бага эерэг урвал өгсөн хяналтын ийлдсийг өдөр бүрийн шинжилгээ эхлэхийн өмнө шинжилж тухайн шинжилгээний нөхцөлд мэдрэх чанарыг шалгана.

РБУ нь маш их мэдрэмтгий урвал. Гэвч ийлдэс судлалын бусад аргын адилаар зарим үед үхэрт *B. abortus* S19 вакцинжуулалтын улмаас эсхүл ийлдэсний хуурамч эерэг урвал (ИХЭУ)-ийн улмаас эерэг дүн үзүүлнэ. Ийм байдал ИХЭУ-ийн улмаас бог мал, гахайд, түүнчлэн *B. melitensis* Rev.1 вакцин тарьсан бог малд тохиолдоно. Ийм учраас эерэг урвалыг баталгаажуулалтын эсхүл орлуулах тохиромжтой арга хэрэглэн баталгаажуулна (үүнд эпидемиологийн мөшгөх судалгаа орно). Эсрэгээрээ хуурамч сөрөг урвал ховор тохиолдоно. Гэсэн хэдий ч РБУ нь халдвартай сүргийг илрүүлэх, бруцеллээгүй сүрэгт халдвар байхгүйг баталгаажуулахад тохирсон арга болох нь харагдсаар байна.

2.3.2. Хавтан дээр наалдуулах буфержүүлсэн урвал (ХНБУ)**2.3.2.1 Эсрэгтөрөгч бэлтгэх**

ХНБУ-ын эсрэгтөрөгчийг *B. abortus* S1119-3 омог ашиглан Ангус нарын (1984) боловсруулсан аргыг баримтлан бэлтгэнэ.

Будалтын хоёр уусмал шаардагдана: баталгаажсан хоёр будаг болох бриллиантын ногоон (2г/100мл) болон кристал виолет (1г/100мл) будгийг цэвэршүүлсэн усанд тус тусад нь уусган найруулна. Бэлтгэсэн хоёр уусмалыг 24 цаг тусад нь байлгасны дараа ижил хэмжээгээр авч бараан шилэн лонхонд холиод хэрэглэхийн өмнө 6 сараас доошгүй хугацаагаар хөргөгчид хадгална. Хольсон уусмалыг анх бэлтгэснээс хойш 6-12 сарын хугацаанд л ашиглана.

Фенол давсны ариутгасан 3-4 литр усанд натрийн гидроксидийг (150 г) аажим уусгаж буфержүүлсэн шингэлэгчийг бэлтгэнэ. Энэ уусмалд сүүний хүчил (675 мл) нэмээд фенол давсны ариутгасан уусмал 6 литр хүртэл нэмж эцсийн эзлэхүүнийг тохируулна. Уусмалын pH 3.65 ± 0.05 байна.

Brucella abortus S1119-3 тунасан эсийг фенол давсны уусмалд 250 г/литр төвшрүүлэгтэй болтол шингэлээд эсийн цийдмэгийн литр тутамд 6 мл будаг нэмж ариутгасан шингээгч хөвөнгөөр шүүхийн өмнө холимгийг сайтар сэгсэрч холино. Эсийг 5°C ±3°C-д 10,000 *g*-аар хурилдуурдаж тунасан эсийг шингэлэгч буферээр 50 г/100 мл төвшрүүлэгтэй болтол дахин шингэлнэ. Энэ холимгийг 2 цаг сайтар сэгсэрч холиод 100 мл шингэлсэн эс тутамд 300 мл буфержүүлсэн шингэлэгч нэмэх замаар уусган сэргээнэ (эцсийн төвшрүүлэг 50г эс/400 мл буфержүүлсэн шингэлэгч). Эсийн төвшрүүлгийг буфержүүлсэн шингэлэгчид 11% (ж/э) болгож тохируулахаас өмнө холимгийг 20-24 цаг тасалгааны хэмд зайлна. Энэ цийдмэгийг шинжилгээ хийхийн өмнө хонуут зайлна. Чанарын эцсийн шалгалт хийхийг хүлээх хугацаанд эсрэгтөрөгчийг хэрэглэх шаардлага гартал 5°C ±3°C-д хадгална. Эсрэгтөрөгчийг хөлдөөж болохгүй.

Хавтан дахь буфержүүлсэн эсрэгтөрөгчийн pH 3.70 ±0.03 байх ба ийлдэс-эсрэгтөрөгчийн холимгийн pH 8:3 харьцаанд 4.02 ±0.04 байх ёстой. Будсан 11%-ийн эсийн цийдмэг хөх-ногоон харагдана. Хавтангийн буфержүүлсэн эсрэгтөрөгчийн багц тус бүрийг наад зах нь 10 долоо хоног урвал үзүүлж байсан ийлдэс шинжилж шалгах ба дүнг эсрэгтөрөгчийн өмнөх нэг ба түүнээс олон багцын үр дүнтэй харьцуулна. Боломжтой бол, эсрэгтөрөгчийн багцыг АНУ-ын ХАА департаментийн Мал эмнэлгийн үйлчилгээний үндэсний лаборатори (МЭҮҮЛ)-ийн бэлтгэсэн стандарт эсрэгтөрөгчтэй харьцуулан шалгах хэрэгтэй (хаягийг 5-р зүүлт тайлбараас үз). Гэвч ДМАЭМБ-ын ОУСИ эсхүл ОУБМСИ-ийг хэрэглэн олон улсын хэмжээнд стандартчилах аргачлал гараагүй байна.

2.3.2.2 Шинжлэх арга зүй

- i) Ийлдсийн сорьц, эсрэгтөрөгчийг тасалгааны хэмтэй (22°C ±4°C) болгоно. Зөвхөн тухайн өдрийн шинжилгээнд хүрэлцэх эсрэгтөрөгчийг хөргөгчөөс гаргана.
- ii) Сорьцыг сайн холино. 4x4 см тэмдэглэсэн талбай бүхий шилэн хавтан дээр ийлдэс тус бүрээс 80 мкл-ийг дусаана.
- iii) Эсрэгтөрөгчтэй цодонг сайтар, гэхдээ аяархан зайлж ийлдэс тус бүрийн дуслын хажууд 30 мкл хэмжээгээр дусаана.
- iv) Хавтанд эсрэгтөрөгчийн сүүлийн дуслыг дусаасны дараа удаалгүй ийлдэс, эсрэгтөрөгчийг сайтар холино.
- v) Урвал бүрд цэвэр шил эсхүл хуванцар тусдаа савх хэрэглэн хольж ойролцоогоор 3 см голчтой дугуй бүс үүсгэнэ.
- vi) Анхны холилтын дараа хавтанг хазгай байрлалаар гурван удаа эргэлдүүлж урвалжийг жигд тараагаад тасалгааны хэмд чийгээ барьдаг хайрцагт хийн 4 минут инкубацлана.
- vii) Хавтанг гаргаад дээр дурдсанаар эргүүлж хоёр дахь удаагаа 4 минутаар инкубацлана.
- viii) Найман минутын хугацаа дуусангуут наалдуулах урвалын дүнг уншина. Аливаа харагдахуйц өнгөт наалдалтыг эерэг урвал гэж үзнэ. Хамгийн бага эерэг урвал өгсөн хяналтын ийлдсийг өдөр бүрийн шинжилгээ эхлэхийн өмнө шинжилж тухайн шинжилгээний нөхцөлд мэдрэх чанарыг шалгана.

РБУ-ын адилаар энэ урвал үхэрт ялангуяа вакцины үүсгэсэн эсрэг биеийг илрүүлэхэд маш их мэдрэмтгий урвал бөгөөд эерэг дээжийг баталгаажуулалтын эсхүл орлуулах аргаар дахин шинжилнэ. Ихэвчлэн прозоны нөлөөгөөр хуурамч эерэг урвал тохиолдож болох ба түүнийг ийлдэс шингэлэх эсхүл тодорхой хугацааны дараа дахин шинжлэх замаар гаргахгүй байж болно. Шинжилгээний арга, гарах үр дүн нь тухайн оношилгоо хийх хэрэгцээ эсхүл хэрэглээнд нийцэх байдалд нөлөөлөх бүх хүчин зүйлийг харгалзан үзнэ. Зарим улсад БХНУ-ыг бог мал, гахайд өргөн хэрэглэж хангалттай сайн үр дүнд хүрсэн ч эдгээр зүйлийн амьтанд түүний оношилгооны ач холбогдлыг олон улсын хэмжээнд тогтоогоогүй байна.

2.4. Хавсарга холбох урвал

ХХУ нь өргөн ашиглагддаг боловч хэрэглэхэд ажиллагаа ихтэй, лабораторийн сайн нөхцөл болон урвалж бодисыг нарийн титрлэх, хадгалах талаар сайтар сурч дадлагажсан ажилтан шаардагдана. ХХУ-ын хэд хэдэн хувилбарыг ашиглаж байгаагаас түүнийг бичил титрийн хувилбараар ашиглах нь хамгийн тохиромжтой. Ийлдэс, эсрэгтөрөгч, хавсаргыг дулаанаар буюу 37°C ±2°C-д 30 минут эсхүл хүйтнээр буюу 5°C ±3°C-д 14–18 цагаар бэхжүүлж болно. Аль ч аргыг сонгоход цөөнгүй хүчин зүйл нөлөөлнө. Хүйтэн аргаар бэхжүүлэхэд чанар муу ийлдэсний хавсаргын эсрэг нөлөө илүү илэрдэг байхад 37°C ±2°C-д бэхжүүлэхэд прозоны давтамж, идэвх нэмэгдэнэ. Дээж бүрд шингэлэлтийн тоог шалгаж тогтооно.

Усан гахайн хавсаргын титрлэсэн уусмалын орчинд хонины цусны улаан эс (ХЦУЭ)-ийг 100% задлахад шаардагдах хамгийн бага төвшрүүлгийг хэд дахин (голдуу 2-5 дахин) агуулах ХЦУЭ-ийн эсрэг туулайн

ижил хэмжээтэй ийлдсээр мэдрэгжүүлсэн хонины цусны шинэхэн эсхүл хадгалаасласан янз бүрийн төвшрүүлэгтэй (ихэвчлэн 2%, 2.5%, 3%-ийн цийдмэгийг зөвлөдөг) улаан эсийг ашиглан ХХУ тавих хэд хэдэн арга боловсруулжээ. Мэдрэгжүүлсэн ХЦУЭ-ийг 50% эсхүл 100% хоёуланг задлахад шаардагдах хавсаргын хэмжээг тогтоохын тулд усан гахайн хавсаргыг тусад нь титрлэнэ (арга зүйд зааснаар эсрэгтөрөгчтэй эсхүл эсрэгтөрөгчгүй нөхцөлд). Ингэж тогтоохдоо стандартчилагдсан цийдмэгийн эзлэхүүний нэгжээр буюу хавсаргын/цус задлах хамгийн бага тунг (С'Н эсхүл MHD₅₀ эсхүл С'Н эсхүл MHD₁₀₀) 50% эсхүл 100% цус задлах нэгжээр илэрхийлнэ. Ерөнхийдөө бүлэг шинжилгээ бүрийн өмнө хавсаргыг титрлэхийг зөвлөдөг ба үүнд С'Н₅₀-ийг хамгийн оновчтой тогтооход макро аргыг чухалчилдаг. Шинжилгээнд ихэвчлэн 1.25–2 С'Н₁₀₀ эсхүл 5–6 С'Н₅₀-ыг ашиглаж байна.

Барбиталаар (веронал) буфержүүлсэн физиологийн уусмал нь ХХУ-ын стандарт шингэлэгч юм. Энэ шингэлэгчийг худалдаанд бэлэн байдаг шахмалаар бэлтгэхээс гадна дараах байдлаар бэлтгэж болно. Цэвэршүүлсэн 1 литр усанд натрийн хлорид (42.5 г), барбитурын хүчил (2.875 г), натрийн диэтил барбитурат (1.875 г), магнийн сульфат (1.018 г), кальцийн хлорид (0.147 г) хийж бэлтгэсэн нөөц уусмалаас авч хэрэглэхийн өмнө дөрвөн эзлэхүүн 0.04%-ийн желатины уусмал нэмж шингэлнэ. Гэвч энэ буфер барбитурын уламжлалыг агуулах учир хэд хэдэн улсад цаашид ашиглагдах боломжгүй болжээ.

Кальци, магни агуулсан натрийн хлоридийн 0.85%-ийн барбитуратгүй уусмал хэрэглэн шаардлага хангах үр дүнд хүрч болох ба үүний тулд 1 М магнийн хлорид, 0.3 М кальцийн хлоридийн (усгүй MgCl₂: 9.5 г, CaCl₂: 3.7 г; цэвэршүүлсэн ус: 100 мл хүртэл) (бага хэмжээгээр 5°C ± 3°C-д хадгална) нөөц уусмалаас 1 мл-ийг авч 1 литр физиологийн уусмалд хийж бэлтгэнэ (Alton нар, 1988). Уусмалын рН маш чухал бөгөөд түүнийг 7.35 (± 0.05)-д ягштал барина. Вероналын буферийг сольсон барбитуратгүй буферийг Франц дахь ДМАЭМБ-ын Бруцеллэзын лавлах лабораторид⁵ баталгаажуулсан байна.

2.4.1. Эсрэгтөрөгч бэлтгэх

Шинжилгээ хийх олон хувилбар байгаагаас аль ч аргыг сонгон шинжилгээ хийхдээ *B. abortus*-ын S99 эсхүл S1119-3 зэрэг гөлгөр гадаргуутай, ДМАЭМБ-ын ОУСИ-ийн эсрэг стандартчилагдаж батлагдсан омгоор бэлтгэсэн эсрэгтөрөгч хэрэглэнэ. ХХУ-д хэрэглэх эсрэгтөрөгчийг дараах тусгайлсан аргаар бэлтгэх (Alton нар, 1988) эсхүл нөөц цийдмэгийг шингэлэн ХХУ-д зориулан баяжуулсан эсрэгтөрөгчийн цийдмэг дэх PCV-ийг ДМАЭМБ-ын ОУСИ-ийн эсрэг стандартчилахын өмнө ойролцоогоор 2% болгосны дараа бүтэн эсийн эсрэгтөрөгчийг ашиглаж болно.

2.4.2. Эсрэгтөрөгчийг стандартчилах

Эсрэгтөрөгчийг ДМАЭМБ-ын ОУСИ-ийн 1/200 шингэлэлтэд 50% хавсарга холболт өгч байхаар стандартчилах хэрэгтэй ба эсрэгтөрөгчийн хэтэрхий бага (эсхүл хэт өндөр) төвшрүүлэг ийлдэсний сул шингэлэлтэд 100% хавсарга холболт өгөхгүй байж болох тул ийлдэсний бага шингэлэлтэд эсрэгтөрөгч бүрэн хавсарга холболт өгч байх ёстой. Эсрэгтөрөгчийн хоёр шингэлэлт тохиромжтой нөхцөлд прозон гарахаас зайлсхийхийн тулд төвшрүүлгээр илүү эсрэгтөрөгчийн цийдмэгийг сонгоно. Эсрэгтөрөгчийг 1/10 харьцаагаар шингэлж 37°C ± 2°C-д 18 цаг инкубациласны дараа түүний харагдах байдал нэгэн жигд, нягт, ил харагдах бөөгнөрөл эсхүл туналтгүй цагаан өнгийн цийдмэг байна. Эсрэгтөрөгчийн ажлын цийдмэг нь урвал тавихад хавсаргын эсрэг нөлөө үзүүлэх ёсгүй. Эсрэгтөрөгчийг 5°C ± 3°C-д хадгалах ба түүнийг хөлдөөж болохгүй.

2.4.3. Шинжлэх арга зүй (жишээ)

Шинжлэх шингэлээгүй ийлдэс, ажлын тохирсон стандартыг усан ваннд 60°C ± 2°C-д 30 минут идэвхгүйжүүлнэ. Хэрэв өмнө нь ижил хэмжээний вероналын буфержүүлсэн давсны уусмалаар шингэлсэн бол эдгээр ийлдсийг 58°C ± 2°C-д 50 минут идэвхгүйжүүлнэ. Ердийн үед ийлдсийг ихэвчлэн зөвхөн дан шингэлэлтээр (ХХУ-ын сонгосон аргаас хамааран ерөнхийдөө 1/4 эсхүл 1/5) шинжилдэг боловч худалдааны зорилгоор болон эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрсэн тохиолдолд прозоныг илрүүлэх зорилгоор дараалан шингэлэлт хийж шинжлэхийг зөвлөдөг.

У ёроолтой 96 үүртэй бичил титрийн стандарт хавтан ашиглан дараах байдлаар шинжилгээ хийнэ:

- i) Идэвхгүйжүүлээгүй, шингэлсэн 25 мкл шинжлэх ийлдсийг нэг, хоёр, гуравдугаар мөрний үүрэнд хийнэ. Нэгдүгээр мөр нь ийлдэс тус бүрийн хавсаргын эсрэг нөлөөний хяналт болно. Нэгдүгээр мөрийн үүрнүүдэд (хавсаргын эсрэг хяналт) 25 мкл ХХУ-ын буфер нэмж эсрэгтөрөгчийг нөхнө. Хоёр дугаар мөрний үүрнээс бусад бүр үүрэнд 25 мкл ХХУ-ын буфер нэмнэ. Дараа нь гуравдугаар мөрний үүрнээс 25 мкл ийлдэс цааш шилжүүлэх

⁵ Франц дахь ДМАЭМБ-ын Бруцеллэз өвчний лавлах лабораториос авах боломжтой.

замаар дараалсан хоёр шингэлэлт хийнэ. Сүүлийн мөрнөөс гарсан 25 мкл холимгийг асгана.

- ii) Нэгдүгээр мөрнөөс бусад үүр бүрд ажлын шингэлэлт бүхий 25 мкл эсрэгтөрөгч нэмнэ.
- iii) Шаардагдах нэгжийн тоогоор шингэлсэн 25 мкл хавсаргыг үүр бүрд нэмнэ.
- iv) Дараах зүйл агуулах хяналтын үүрийг:

- a) зөвхөн шингэлэгч,
- b) хавсарга+шингэлэгч,
- c) эсрэгтөрөгч+хавсарга+шингэлэгчийг

тохиолдол бүрд нийт 75 мкл эзлэхүүнтэй болтол тохируулна.

Тухайн шинжилгээний нөхцөлд мэдрэх чанарыг баталгаажуулахын тулд хамгийн бага эерэг урвал өгсөн хяналтын ийлдсийг бүлэг шинжилгээ хийх бүрд шинжилнэ.

- v) Хавтанг $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ -д 30 минут эсхүл $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ -д хонуут инкубацлах ба мэдрэгжүүлсэн ХЦУЭ-ийн эзлэхүүнийг (аргаас хамаарч 25 эсхүл 50 мкл) үүр бүрд нэмнэ. Хавтанг $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ -д 30 минут дахин инкубацлана.
- vi) Хавтанг $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ -д 1000 *g*-аар 10 минут хурилдуурдах эсхүл задраагүй эс доош суутал $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ -д 2-3 цаг байлгасны дараа үр дүнг уншина. Цус задралын зэргийг 0, 25, 50, 75, 100%-ийн задралтай стандарттай харьцуулж гаргана. Нэгдүгээр мөрний ийлдэс тус бүрийг шалгаж хавсаргын эсрэг нөлөө байхгүйг тогтооно.
- vii) ХХУ-ын үр дүнг стандартчилах

Үр дүнг стандартчилахад зориулсан ДМАЭМБ-ын ОУСИ-д суурилсан нэгжийн систем бий. Энэ ийлдэс нэг мл тутамд 1000 ОУХХУН агуулна. Хэрэв энэ ийлдсийг тухайн заасан аргаар шинжлэхэд титр нь жишээ нь 200 байвал тэр аргаар шинжилсэн тодорхойгүй ийлдсийн үр дүнг дараах томъёогоор гаргана: $1000 \times 1/200 \times$ шинжлэх ийлдсийн титр = шинжлэх ийлдсийн нэг мл тутамд байх эсрэг биеийн ОУХХУН-ийн тоо. ДМАЭМБ-ын ОУСИ нь өвөрмөц IgG агуулах ба хавсарга холбох өвөрмөц идэвхийн тухайд үндэсний стандарт ийлдэс нь энэ IgG төрлийн эсрэг биеэс хамаарна. Янз бүрийн арга хэрэглэхэд иммунглобулины янз бүрийн изотип хавсарга холболтод сонгомлоор оролцдог тул стандартчилахад хүндрэл учруулна. ХХУ-ыг үндэсний хэмжээнд хэрэглэж байгаа аливаа улс шинжилгээний үр дүнгийн нарийвчлалыг ижил төвшинд байлгах үүднээс ийм шинжилгээ хийдэг янз бүрийн лабораторид нэг ижил арга хэрэглэхийг зөвлөдөг. Улс хооронд шинжилгээний үр дүнгийн харьцуулалт хийх ажлыг хөнгөвчлөхийн тулд ДМАЭМБ-ын ОУСИ ашиглан стандартчилсан ийлдэстэй зэрэгцүүлэн титрлэж гаргасан үр дүнтэй харьцуулан тооцоолоод, үр дүнг ямагт ОУХХУН-ээр илэрхийлэх хэрэгтэй.

- viii) Үр дүнг боловсруулах: Шинжилсэн ийлдэсний титр нь 20 ОУХХУН-тэй тэнцүү эсхүл түүнээс илүү байвал эерэг гэж тооцно.

3-6 сарын бойжилттой байхад нь *B. abortus* S19 эсхүл *B. melitensis* Rev.1 вакцинжуулсан амьтныг 18 сар эсхүл түүнээс илүү настай байхад нь шинжлэхэд ийлдсэнд хавсарга холболт 30 ба түүнээс их ОУХХУН/мл титртэй эерэг гарвал ихэвчлэн халдвартай гэж үздэг.

Энэ арга бол жишээ бөгөөд шинжилгээг дээр дурдсан ёсоор ДМАЭМБ-ын ОУСИ ашиглан стандартчилсан, үр дүнг ОУХХУН/мл-ээр илэрхийлсэн нөхцөлд урвалжийн өөр эзлэхүүн, хэмжээг сонгон хэрэглэж болно.

ХХУ ерөнхийдөө маш өвөрмөц боловч мэдрэх чанараар РБУ, ЕЛИЗА аргаас, ялангуяа гахайн ийлдэс шинжлэхэд доогуур юм. Учир нь гахайн хавсарга нь усан гахайн хавсаргатай харилцан үйлчлэлцэхдээ мэдрэх чанарыг бууруулах хавсаргын хүчтэй нөлөө үзүүлнэ. Иймд ХХУ нь *B. suis* халдварыг оношлоход мэдрэх чанар бага, ийлдэсний хуурамч эерэг урвалыг ялгаж чадахгүй бөгөөд гахайд зөвхөн орлуулах шинжилгээ болгон ашиглана. Үүнээс гадна ийлдсийн ихэнх шинжилгээний адилаар ХХУ нь *B. abortus* S19 эсхүл *B. melitensis* Rev.1 вакцин тарьсан хивэгч мал шинжлэхэд эерэг дүн үзүүлэх ба ийлдэсний хуурамч эерэг урвал илэрч байгаа бол өвөрмөц чанар нь хангалтгүй байна. Ийм учраас ХХУ-ын үр дүнг холбогдох баталгаажуулалтын эсхүл орлуулах аргаар дахин судлан шинжилнэ.

2.5. Энзим холбоост дархлааны урвал

2.5.1. Шууд бус ЕЛИЗА (ШБ-ЕЛИЗА)

Төрөл бүрийн эсрэгтөрөгчийн бэлдмэл, глобулины эсрэг энзимт конъюгат, субстрат/өнгө үүсгэгч ашиглан үхэр, бог мал, тэмээний овгийн амьтан, гахайд хэрэглэх ШБ-ЕЛИЗА аргын хэд хэдэн хувилбарыг боловсруулжээ. Эдгээр эсрэгтөрөгч үйлдвэрлэхэд *Brucella abortus* омог 99 (Weybridge) (S99)³ эсхүл *B. abortus* омог 1119-3 (АНУ ХААД) (S1119-3)⁴-ийг ашиглах ба энэ зорилгод *B. melitensis* 16М омог ч бас тохирно. Бүтэн эс, S липополисахарид эсхүл O полисахаридийг эсрэгтөрөгч болгон ашиглаж бэлтгээд үйлдвэрлэлийн өргөн хүрээний туршилтаар баталгаажуулсан хэд хэдэн ШБ-ЕЛИЗА цомог худалдаанд бэлэн байгаа бөгөөд хаяагүй хэрэглэгдэж байна. Гэсэн хэдий ч хэрэглэж байгаа арга, гарсан үр дүнг 1.1.6. *Халдварт өвчний оношлох шинжилгээг баталгаажуулах зарчим, аргад* бүлэгт заасан зарчмыг баримтлан баталгаажуулсан байх ёстой. Дээрх омгуудын O полисахаридийн эсрэг биеийн эпитопыг химийн аргаар орлуулан нийлэгжүүлээд ЕЛИЗА аргын эсрэгтөрөгч болгон амжилттай ашиглаж байгаа боловч эдгээр шинжилгээг баталгаажуулах ажил хүлээгдэж байна.

2.5.1.1 ШБ-ЕЛИЗА аргын стандартчилал (EU, 2008; McGiven нар, 2011)

2.5.1.1.1 Үхрийн бруцелийн халдвар

- i) Үхрийн сөрөг ийлдсэнд (эсхүл үхрийн нийлүүлсэн сөрөг ийлдэс) хийсэн сул эерэг (OIEELISAWPSS) стандарт ийлдсийн $\frac{1}{2}$ урьдчилан шингэлэлт эсхүл илт эерэг (OIEELISASPSS) стандарт ийлдсийн $\frac{1}{16}$ урьдчилан шингэлэлт эерэг урвал үзүүлэх ёстой; ба
- ii) Үхрийн сөрөг ийлдсэнд (эсхүл үхрийн нийлүүлсэн сөрөг ийлдэс) хийсэн сул эерэг (OIEELISAWPSS) стандарт ийлдсийн $\frac{1}{8}$ урьдчилан шингэлэлт эсхүл илт эерэг (OIEELISASPSS) стандарт ийлдсийн $\frac{1}{64}$ урьдчилан шингэлэлт сөрөг урвал үзүүлэх ёстой; ба
- iii) Сөрөг стандарт(OIEELISANSS) ийлдэс ямагт сөрөг дүн үзүүлнэ.

2.5.1.1.2 Хонь, ямааны бруцелийн халдвар

- i) Ямааны сөрөг ийлдсэнд (эсхүл ямааны нийлүүлсэн сөрөг ийлдэс) хийсэн ОУБМСИ-ийн $\frac{1}{64}$ урьдчилан шингэлэлт эерэг урвал үзүүлэх ёстой; ба
- ii) Ямааны сөрөг ийлдсэнд (эсхүл ямааны нийлүүлсэн сөрөг ийлдэс) хийсэн ОУБМСИ-ийн $\frac{1}{750}$ урьдчилан шингэлэлт сөрөг урвал үзүүлэх ёстой; ба
- iii) Дээр дурдсан ямааны сөрөг ийлдсэнд (эсхүл ямааны нийлүүлсэн сөрөг ийлдэс) ямагт сөрөг урвал үзүүлэх ёстой.

2.5.1.1.3 Гахай, тэмээний овгийн амьтны бруцелийн халдвар

- i) Олон улсын тохирох стандарт ийлдэс байхгүй нөхцөлд шинжилгээг зохих ёсоор баталгаажуулах бөгөөд урвалын босго хэмжээг шинжилгээ хийх популяцид баталгаажуулалтын тохирох аргаар тогтооно (Бүлэг 1.1.6 үз).

S липополисахарид эсхүл O полисахаридийг эсрэгтөрөгчөөр ашиглаж байгаа ШБ-ЕЛИЗА арга нь бруцелийн эсрэгбиеийг үхэр, бог мал, гахайд илрүүлэх мэдрэх чанараар өндөр боловч *B. abortus* S19 болон *B. melitensis* Rev.1 вакцинжуулалтын улмаас үүссэн эсрэг биеийг хооронд нь ялгаварлах асуудлыг бүрэн шийдэх чадамжгүй байна. *B. abortus* RB51 вакцин нь S липополисахаридад суурилсан ШБ-ЕЛИЗА шинжилгээний үр дүнд саад учруулах боломжтой.

ББЭА болон ХХУ-ын нэгэн адил эерэг урвалыг тохирох баталгаажуулалтын эсхүл орлуулах аргаар дахин шинжилнэ.

Дээр тодорхойлсон ДМАЭМБ-ын стандарт ийлдэс ашиглан стандартчилсан ШБ-ЕЛИЗА аргыг хэрэглэн халдвартай үхэр, бог мал, гахайг шинжлэхэд оношилгооны мэдрэх чанар нь ББЭА (РБУ/ХНБУ) эсхүл ХХУ-тай ижилхэн эсхүл түүнээс их байна. Гэвч өвөрмөц чанараар голдуу доогуур байж магадгүй юм (EFSA, 2006; 2009; Greiner нар, 2009; Gusi нар, 2019).

Бруцелийн барзгар гадаргуутай омгийн ханд ашиглаж бэлтгэсэн ШБ-ЕЛИЗА цомог хэрэглэн ийлдэсний хуурамч эерэг урвалын (ИХЭУ) асуудлыг багасгаж болох боловч ялангуяа гахайд бүрэн шийдэх боломжгүй байна. ИХЭУ нь S-липополисахаридийн молекул дахь O-полисахаридын хэсэгтэй солбицох урвалын үр дүн бөгөөд үүсгэгчийн үндсэн эпитопуудтай солбицох урвалд орох тохиолдол бий боловч энэ нь түгээмэл биш юм. Энэ асуудлыг захын нэг ШБ-ЕЛИЗА эсхүл өөр өөр бруцелийн цитозолын уургийг эсрэгтөрөгч болгон ашиглах аргаар тэр бүү хэл үхэрт ч шийдэж чадахгүй (Munoz нар, 2005). Үүнээс гадна ИХЭУ талаас авч үзвэл

хамгийн өвөрмөц оношилгооны арга нь бруцелиний арьсны сорил болж байна (Б.3.1 хэсгийг үз).

Глобулины ижил гарлын, олон гарлын эсрэг бие эсхүл G уураг эсхүл AG энзимийн конъюгатыг тэдгээрийн олдоц болон тухайн урвалд тавих шаардлагаас хамааруулан хэрэглэж болно. Үхрийн IgG1-ийн хүнд гинжинд өвөрмөц ижил гарлын эсрэг бие (ИГЭБ) нь тухайн урвалын мэдрэх чанарыг зарим талаар бууруулахын хамт өвөрмөц чанарыг нэмэгдүүлэх ба харин G уураг эсхүл AG энзимийн конъюгат нь төрөл бүрийн хөхтөн амьтныг шинжлэхэд хэрэглэгдэх урвалж болж өгнө.

Худалдаанд гарсан хэд хэдэн ШБ-ЕЛИЗА цомог байна. Зарим арга нь бусдаасаа мэдрэх чанараар эсхүл өвөрмөц чанараар сул байх тул янз бүрийн шинжилгээний дүнг тэр бүр харьцуулах боломжгүй. Бог мал, гахайд бруцелийн эсрэг бие илрүүлэх ШБ-ЕЛИЗА нь үхэрт зориулсан аргатай үндсэндээ адилхан боловч баталгаажуулалтын тохирох арга (Бүлэг 1.1.6 үз) хэрэглэн босго утгыг тэдгээр амьтан тус бүрд тодорхой тогтоохоос гадна хонь, ямаанд зориулсан ШБ-ЕЛИЗА-г ОУБМСИ ашиглан стандартчилна (McGiven нар, 2011).

Ашигласан ШБ-ЕЛИЗА-ийн форматаас үл хамааран:

- i) Хавтан тус бүрд эерэг болон сөрөг хяналтыг оруулна. Хавтан тус бүрийг баталгаажуулах шалгуурыг тодорхойлохын тулд хяналтын энэ хоёр бэлдмэлийн гэрлийн нягтын утгын хязгаарыг тогтооно. Шинжлэх ийлдэс тус бүрийн гэрлийн нягтыг эерэг хяналтын гэрлийн нягттай харьцуулж эцсийн дүнг (сөрөг эсхүл эерэг) гаргана.
- ii) Хавтан тус бүрд нэмж эерэг ийлдэс (дотоод хяналт) оруулан шинжилж шинжилгээний үр дүн хавтангаас хавтанд, өдрөөс өдөрт хэрхэн давтагдах байдлыг шалган баталгаажуулна.

2.5.2. Өрсөлдөөнт ЕЛИЗА (Ө-ЕЛИЗА)

Төрөл бүрийн глобулины эсрэг энзимт конъюгат, субстрат эсхүл өнгө үүсгэгч, төрөл бүрийн бруцелийн гөлгөр омгоос бэлтгэсэн эсрэгтөрөгч ашиглан үхэр, бог мал, тэмээний овгийн амьтан, гахайд хэрэглэх Ө-ЕЛИЗА аргын хэд хэдэн хувилбарыг боловсруулжээ. Гэсэн хэдий ч хэрэглэж байгаа арга, гарсан үр дүнг 1.1.6 дугаар бүлэгт заасан зарчмыг баримтлан баталгаажуулсан байх ёстой.

2.5.2.1 Ө-ЕЛИЗА аргыг стандартчилах (EU, 2008; McGiven нар, 2011)

2.5.2.1.1 Үхрийн бруцелийн халдвар:

- i) Үхрийн сөрөг ийлдсэнд (эсхүл үхрийн нийлүүлсэн сөрөг ийлдэс) хийсэн сул эерэг (OIEELISA_{WPSS}) стандарт ийлдсийн 1/2 урьдчилан шингэлэлт эсхүл илт эерэг (OIEELISA_{SPSS}) стандарт ийлдсийн 1/16 урьдчилан шингэлэлт эерэг урвал үзүүлэх ёстой; ба
- ii) Үхрийн сөрөг ийлдсэнд (эсхүл үхрийн нийлүүлсэн сөрөг ийлдэс) хийсэн сул эерэг (OIEELISA_{WPSS}) стандарт ийлдсийн 1/8 урьдчилан шингэлэлт эсхүл илт эерэг (OIEELISA_{SPSS}) стандарт ийлдсийн 1/64 урьдчилан шингэлэлт сөрөг урвал үзүүлэх ёстой; ба
- iii) Сөрөг стандарт(OIEELISA_{NSS}) ийлдэс ямагт сөрөг дүн үзүүлнэ.

2.5.2.1.2 Хонь, ямааны бруцелийн халдвар:

- i) Ямааны сөрөг ийлдсэнд (эсхүл ямааны нийлүүлсэн сөрөг ийлдэс) хийсэн ОУБМСИ-ийн 1/8 урьдчилан шингэлэлт эерэг урвал үзүүлэх ёстой; ба
- ii) Ямааны сөрөг ийлдсэнд (эсхүл ямааны нийлүүлсэн сөрөг ийлдэс) хийсэн ОУБМСИ-ийн 1/300 урьдчилан шингэлэлт сөрөг урвал үзүүлэх ёстой; ба
- iii) Дээр дурдсан ямааны сөрөг ийлдсэнд (эсхүл ямааны нийлүүлсэн сөрөг ийлдэс) ямагт сөрөг урвал үзүүлэх ёстой.

2.5.2.1.3 Гахайн бруцелийн халдвар

- i) Гахайн бруцеллэзын олон улсын стандарт ийлдэс байхгүй нөхцөлд шинжилгээг зохих ёсоор баталгаажуулах бөгөөд урвалын босго хэмжээг шинжилгээ хийх популяцид баталгаажуулалтын
- ii) зохих аргаар тогтооно (Бүлэг 1.1.6 үз).

Худалдаанд хэд хэдэн Ө-ЕЛИЗА цомог гарсан байна. Зарим арга нь мэдрэх чанараар эсхүл өвөрмөц чанараар бусдаасаа сул байх тул янз бүрийн шинжилгээний дүнг тэр бүр харьцуулах

боломжгүй. Баталгаажуулалтын тохирсон арга (Бүлэг 1.1.6 үз) хэрэглэж босго утгыг тодорхой тогтооно.

Ө-ЕЛИЗА нь бруцелийн нэг эпителин өвөрмөц ИГЭБ ашиглана. О-полисахарид нь ихэвчлэн, гэхдээ үргэлж биш ББЭУ эсхүл ШБ-ЕЛИЗА-аас өвөрмөц чанар өндөр, мэдрэх чанар сул байдаг нь үхэр, хонь, гахайд илэрсэн байна (Munoz нар, 2005; 2012; Nielsen нар, 1995; Praud нар, 2012; Stack нар, 1999).

Ө-ЕЛИЗА нь вакцинжуулалтын үр дүнд бий болсон эсрэг биеийн урвалыг багасгах боловч бүрэн арилгаж чадахгүй. ББЭУ, ШБ-ЕЛИЗА-тай харьцуулахад Ө-ЕЛИЗА-ын өвөрмөц чанарыг нэмэгдүүлэхэд мэдрэх чанар буурах өндөр магадлалтай. Ийм учраас Ө-ЕЛИЗА урвалаас гарсан үр дүнг дангаар нь бус харин РБУ, ББЭУ, ХХУ, ШБ-ЕЛИЗА урвал зэрэг баталгаажуулалтын эсхүл орлуулах бусад аргын дүнтэй хамтатган авч үзэх хэрэгтэй.

ИГЭБ-ийн сонголт болон тэдгээрийн өвөрмөц болон нэгдэн холбогдох чанар илүү өндөр эсхүл сул, онцгой өвөрмөц байх нь оношлох шинжилгээний үр дүнд ихээхэн нөлөөлнө. ИГЭБ-д суурилсан аливаа шинжилгээний нэгэн адил ИГЭБ эсхүл гибридомыг олон улсын түвшинд хүлээн зөвшөөрөгдөн өргөн хэрэглэгддэг болгох үүднээс газар сайгүй элбэг байлгахад анхаарах хэрэгтэй.

Ашигласан Ө-ЕЛИЗА-ийн форматаас үл хамааран:

- i) Хавтан тус бүрд эерэг болон сөрөг хяналт шинжилнэ. Хавтан тус бүрийн баталгаажуулалтын шалгуурыг тогтоохдоо хяналтын энэ хоёр бэлдмэлийн гэрлийн нягтын утгын хязгаарыг тодорхойлно. Шинжлэх ийлдэс тус бүрийн гэрлийн нягтыг эерэг хяналтын гэрлийн нягттай харьцуулж эцсийн дүнг (сөрөг эсхүл эерэг) гаргана.
- ii) Хавтан тус бүрд нэмж эерэг ийлдэс (дотоод хяналт) хийн шинжилж шинжилгээний үр дүн хавтангаас хавтанд, өдрөөс өдөрт хэрхэн давтагдах байдлыг шалган баталгаажуулна.

2.6. Флюоресценц туйлшралын арга (ФТА)

ФТА нь эсрэгтөрөгч/эсрэг биеийн харилцан үйлчлэлийг хэмждэг энгийн бөгөөд шинжлэгдэхүүнд ялгалт, салгалт хийлгүйгээр шууд шинжилдэг маш түргэн арга юм. Гэвч бусад шууд шинжилгээний аргаас (жишээ нь РБУ) өөр нь эсрэгтөрөгч нэмэхийн өмнө дээж тус бүрийн хоосон/дэвсгэр өнгөний нягтыг хэмжинэ. Иймд энэ арга нь хоёр шатлалтай шинжилгээ болдог.

Бруцеллэзыг оношлоход *B. abortus* омгийн *B. abortus* 1119-3 S-LPS-ын о-полисахаридийн бага молекул жинтэй хэрчмийг (дунджаар 22 kD) флюоресцеин изотиоцианит (ФИТЦ)-аар тэмдэглээд эсрэгтөрөгч болгон ашиглана. Хоосон/дэвсгэр өнгөний нягтыг хэмжсэний (2–3 минут) дараа шингэлсэн ийлдэс рүү эсрэгтөрөгчийг нэмээд түүнээс хойш 2 минут орчмын дараа эсрэг биеийн агууламжийг флюоресценц туйлшралын багажаар (ФТБ) хэмжинэ (Nielsen нар, 1996).

2.6.1. Эсрэгтөрөгч бэлтгэх (жишээ)

Хуурай жин нь 5 г (эсхүл 50 г нойтон жин) *B. abortus* S1119-3 дээр 400 мл 2%-ийн (э/э) цууны хүчил нэмж О-полисахарид бэлтгээд цийдмэгийг 121°C-д 15 минут ариутгаж 5°C ± 3°C-д 10,000 g-аар 10 минут хурилдуурдаж эсийн хаягдал үлдцийг зайлуулна. Дээрх шингэн хэсгийг 20 г гурван хлорт цууны хүчлээр үйлчилж аливаа уураг, нуклеин хүчлийг тунадасжуулна. 5°C ± 3°C-д 10,000 g-аар 10 минут хурилдуурдаж тунадсыг дахин авна. Дээд шингэн хэсгийг 10-аас доошгүй эзлэхүүнтэй цэвэршүүлсэн усны эсрэг диализд оруулаад хөлдөөн хатаана. 3 мг О-полисахаридийг 0.6 мл 0.1 М натрийн гидроксидод (4 г NaOH/литр) уусгаад 37°C ± 2°C-д 1 цаг инкубацлана. Дараа нь диметил сульфоксидод 100 мг/мл төвшрүүлэгтэй ФИТЦ-ийн изомер 1-ээс 0.3 мл-ийг нэмж 37°C ± 2°C-д 1 цаг инкубацлана. Конъюгатласан О-полисахаридийг 0.01 М фосфатын буферт тэнцвэржүүлсэн рН 7.4 ± 0.2 ДЭАЭ (диэтиламиноэтил) Сепадекс А25 дүүргэсэн 1x10 см бортгонд ачаална. Эхний хэсэг нь (10–15 мл буферийн дараа) тод ногоон, улмаар буфер нь 0.1 М фосфатад рН 7.4 ± 0.2 шилжинэ. Үүний үр дүнд 10–15 мл буфер уусан хандлагдаж дараа нь 25–40 мл ногоон гэрэлтсэн материал гарна. Гэрэлтсэн ногоон материал нь ФТА-д хэрэглэх эсрэгтөрөгч болно. Эсрэгтөрөгчийн бэлдмэлийн хэмжээг хувь тэнцүүлэн ихэсгэж болно.

Шинжилгээ бүрд хэрэглэх эсрэгтөрөгчийн хэмжээг дээр бэлтгэсэн материалыг флюоресценцийн нийт эрчим 250,000–300,000 хүртэл байхаар шингэлээд ФТБ ашиглан тодорхойлно.

Эсрэгтөрөгчийг бараан саванд шингэн байдлаар эсхүл бараан саванд хөлдөөн хатааж 5°C ± 3°C-д хэдэн жилийн турш хадгалж болно. Тэмдэглэгээт эсрэгтөрөгч худалдан авч болох цөөхөн эх үүсвэр бий.

2.6.2. ФТА шинжилгээг стандартчилах (EU, 2008; McGiven нар, 2011)**2.6.2.1 Үхрийн бруцелийн халдвар**

- i) Сул эерэг (OIEELISA_{WP}SS) стандарт ийлдэс, илт эерэг (OIEELISA_{SP}SS) стандарт ийлдэс ямагт эерэг урвал үзүүлэх ёстой; ба
- ii) Үхрийн сөрөг ийлдсэнд (эсхүл үхрийн нийлүүлсэн сөрөг ийлдэс) хийсэн сул эерэг (OIEELISA_{WP}SS) стандарт ийлдсийн 1/8 урьдчилан шингэлэлт эсхүл илт эерэг (OIEELISA_{SP}SS) стандарт ийлдсийн 1/64 урьдчилан шингэлэлт сөрөг урвал үзүүлэх ёстой; ба
- iii) Сөрөг стандарт (OIEELISA_NSS) ийлдэс ямагт сөрөг дүн үзүүлнэ.

2.6.2.2 Хонь, ямааны гөлгөр гадаргуутай бруцелийн халдвар:

- i) Ямааны сөрөг ийлдсэнд (эсхүл ямааны нийлүүлсэн сөрөг ийлдэс) хийсэн ОУБМСИ-ийн 1/16 урьдчилан шингэлэлт эерэг урвал үзүүлэх ёстой; ба
- ii) Ямааны сөрөг ийлдсэнд (эсхүл ямааны нийлүүлсэн сөрөг ийлдэс) хийсэн ОУБМСИ-ийн 1/200 урьдчилан шингэлэлт сөрөг урвал үзүүлэх ёстой; ба
- iii) Дээр дурдсан ямааны сөрөг ийлдэс (эсхүл ямааны нийлүүлсэн сөрөг ийлдэс) ямагт сөрөг урвал үзүүлнэ.

2.6.2.3 Гахайн бруцелийн халдвар

- i) Гахайн бруцеллэзын олон улсын стандарт ийлдэс байхгүй нөхцөлд шинжилгээг зохих ёсоор баталгаажуулах бөгөөд урвалын босго хэмжээг шинжилгээ хийх популяцид баталгаажуулалтын зохих аргаар тогтооно (Бүлэг 1.1.6 үз).

ФТА-ын оношилгооны мэдрэх болон өвөрмөц чанар үхрийн бруцеллэз өвчинд Ө-ЕЛИЗА аргатай бараг ижилхэн юм. Бог мал, гахайд бруцелийн эсрэг бие илрүүлэх ФТА нь үхэрт зориулсан аргатай үндсэндээ адилхан боловч баталгаажуулалтын тохирох арга (Бүлэг 1.1.6 үз) хэрэглэн босго утгыг тэдгээр амьтан тус бүрд тодорхой тогтоохоос гадна шинжилгээг олон улсын холбогдох стандарт ашиглан стандартчилна. ФТА нь вакцинжуулалтын үр дүнд бий болсон эсрэг биеийн үлдэцтэй холбоотой урвалыг багасгах боловч бүрэн арилгаж чадахгүй (Nielsen нар, 1996). Үүнээс гадна үхэр, бог малд ИХЭУ илэрсэн нөхцөлд ФТА-ын өвөрмөц чанар ямар байхыг одоогоор тогтоогоогүй ба энэ аргаар гахайд илрэх ИХЭУ-ыг ялгаварлаж чадахгүй нь тод харагджээ (Praud нар, 2012). Ийм учраас ийлдэс судлалын аливаа бусад аргын адилаар эерэг урвалыг баталгаажуулалтын эсхүл орлуулах тохирох арга хэрэглэн баталгаажуулна.

2.6.3. Шинжлэх арга зүй (Nielsen нар, 1996)

ФТА-ыг шилэн хуруу шил эсхүл 96 үүртэй хавтанд хийнэ. Хавтант арга хэрэглэх бол үхрийн ийлдсийг 1/10, хуруу шилний арга хэрэглэх бол 1/100-аар тус тус шингэлнэ.

Хавтант арга хэрэглэх бол хонь, ямааны ийлдсийг 1/10, хуруу шилний арга хэрэглэх бол ямаа, гахайн ийлдсийг 1/25, хонины ийлдсийг 1/40-өөр тус тус шингэлнэ.

Шингэлэгч нь: 0.01 М трис (1.21 г), нэг литр цэвэршүүлсэн усанд 0.15 М натрийн хлорид (8.5 г), 0.05% аигепал СА630 (500 мкл) (өмнө нь NP40), 10 mM ЭДТЦХ (3.73 г), pH 7.2 ± 0.2 (трис буфер).

Хольсны дараа гэрлийн тархцыг үнэлэх эхний хэмжилтийг ФТБ-аар хийнэ. Зохих ёсоор тэмдэглэж титрлэсэн эсрэгтөрөгч нэмж холиод 2 минут орчмын дараа ФТБ-аар хоёр дахь удаа хэмжинэ.

Багажийн заалт урьдчилж тогтоосон босго утгаас (милли туйлшралын нэгж, mP) давсан нөхцөлд эерэг урвалд тооцно.

Ердийн босго утга нь 90–100 mP нэгж байх боловч шинжилгээг ДМАЭМБ-ын лавлагааны тохирох стандарт ийлдэс ашиглан тухайн нутаг орондоо стандартчилна (дээр дурдсанаар). Дээр дурдсан ДМАЭМБ-ын лавлагааны стандарт ийлдэс ашиглан илт эерэг, сул эерэг, сөрөг ажлын стандарт ийлдэс бэлтгэн хэрэглэнэ.

2.6.3.1 Үхрийн ийлдэс шинжлэх жишээ

- i) 10 × 75 мм хэмжээтэй боросиликатын хуруу шилэнд 1 мл шингэлэгч хийгээд дээр нь 10 мкл ийлдэс эсхүл 20 мкл ЭДАТЦХ-ээр үл бүлэгнүүлсэн цус хийнэ. 96 үүртэй хавтанд 180 мкл буферт 20 мкл ийлдэс нэмнэ. Сайн холих нь маш чухал. Гэрлийн тархцыг ФТБ-аар хэмжиж гаргана.
- ii) Нийт флюоресценцийн 250–300 × 10³ эрчим бүхий эсрэгтөрөгчийн эзлэхүүнийг хуруу шилэнд хийгээд сайтар холино. Эзлэхүүн нь багц тус бүрд адилгүй байх боловч ерөнхийдөө 10 мкл орчим хязгаарт байна. Ийлдсийг тасалгааны хэмд (22°C ± 4°C) ойролцоогоор 2 минут, ЭДАТЦХ-ээр үл бүлэгнүүлсэн цусыг 15 секунд инкубацласны дараа ФТБ-аар хоёр дахь хэмжилт нийнэ.
- iii) Урьдчилан тогтоосон дээрх босго утгыг давсан үр дүн эерэг урвалыг заана.

2.7. Ийлдэсний наалдуулах урвал (зөвхөн үхэрт)

Ийлдэсний наалдуулах урвал (ИНУ)-ыг үхрийн бруцеллэз өвчнийг тандах, түүнтэй тэмцэх ажилд ялангуяа Европын хойд хэсгээр олон жил амжилттай хэрэглэж байна. Эсрэгтөрөгчид EDTA нэмснээр энэ аргын өвөрмөц чанар илт сайжирчээ (MacMillan & Cockrem, 1985).

Эсрэгтөрөгч нь *B. abortus* 99 омог эсхүл *B. abortus* 1119-3 омгийг фенол давсны уусмалд (NaCl 0.85% [ж/э] болон фенол 0.5% [э/э]) цийдмэгжүүлсэн бактери юм. Формальдгид хэрэглэж болохгүй. Эсрэгтөрөгчийг савлагааны шошго дээр нь шингэлэлтийн зэргийг заагаад өтгөн байдлаар нийлүүлж болно. Хуурамч эерэг үр дүн гарах түвшинг бууруулах зорилгоор шинжилгээний 5 mM эцсийн шингэлэлт бүхий эсрэгтөрөгчийн цийдмэгт EDTA-г нэмж болно. Дараа нь эсрэгтөрөгчийн цийдмэгийн pH-ийг 7.2 ± 0.2 болгон дахин тохируулна.

ДМАЭМБ-ын ОУСИ нь наалдуулах 1000 ОУН агуулна. Эсрэгтөрөгчийг бэлтгэхдээ эсийн төвшрүүлгийг харгалзахгүй ба ба харин түүний мэдрэх чанарыг ДМАЭМБ-ын ОУСИ ашиглан эсрэгтөрөгч нь ийлдсийн шингэлэлт 1/600 - 1/1000 байхад 50%-ийн наалдалт, 1/500 - 1/750 байхад 75%-ийн наалдалт өгч байхаар тооцож стандартчилна. Түүнчлэн шинэ болон өмнө нь стандартчилсан эсрэгтөрөгчийн урвалжит чанарыг энэ шинж чанарыг нь сайтар тогтоосон бүлэг ийлдэстэй харьцуулах нь зохистой.

Шинжилгээнд хуруу шил, бичил хавтангийн алийг ч ашиглаж болно. Эсрэгтөрөгч, шингэлсэн ийлдсийн холимгийг 37°C ± 2°C-д 16-24 цаг инкубацлана. Бичил хавтанд шинжилгээ хийж байгаа бол инкубацлах хугацаа 6 цагаар бага байж болно. Сөрөг урвалтай ийлдэсний прозоныг үгүйсгэхийн тулд ийлдэс тус бүрд гурваас доошгүй шингэлэлт хийнэ. Сэжиг бүхий ийлдсийн шингэлэлтийг хийхдээ эерэг гэж уншигдах урвалын хязгаар нь дунд талын хуруу шилэнд (бичил хавтангийн аргын тухайд үүрэнд) байхаар тохируулна.

Үр дүн боловсруулах: Ийлдсэн дэх бруцелийн наалдуулах зэргийг нэг мл дэх ОУН-ээр илэрхийлнэ. Нэг мл-дээ 30 ба түүнээс их ОУН агуулах ийлдсийг эерэг гэж тооцно.

2.8. Төрөлх гаптены, цитозолын уурагт суурилсан шинжилгээ (зөвхөн хивэгч амьтанд)

Үхэрт гаптений сорил⁶ нь *B. abortus* S19 вакцинжуулсан нөхцөлд маш өвөрмөц бөгөөд илрүүлэх шинжилгээнд РБУ-тай хамтруулан амжилттай хэрэглэж байв. Уг аргын мэдрэх чанарыг (ХХУ-ын түнтэй ойролцоо, харин РБУ, Ө-ЕЛИЗА-д суурилсан ШБ-ЕЛИЗА үр дүнгээс ихээхэн доогуур) хамгийн оновчтой тогтоохын тулд полисахарид агуулсан гипертоник гелд ийлдэс нэвчих зарчимд суурилсан тойргоор урвуу нэвчих дархлааны урвал (ТУНДУ) ашиглах ба энэ зорилгоор хэрэглэхэд давхар гелд нэвчүүлэх арга бас ач холбогдолтой (Munoz нар, 2005). 3-5 сартай тугалын арьсан дор *B. abortus* S19 вакциныг стандарт тунгаар тарихад тарьсны дараах 2 сард ихэвчлэн сөрөг урвал үзүүлэх ба *B. abortus* S19 вакциныг 4-5 сарын өмнө арьсан дор багасгасан тунгаар нас гүйцсэн үхэрт тарихад тухайн мал халдвар аваагүй, сүүгээр нь вакцины омог ялгараагүй нөхцөлд эерэг урвал үзүүлэхгүй. Нүдэнд дусааж вакцинжуулахад (өсвөр, нас гүйцсэн аль алинд) гаптений сорилоор сөрөг урвалтай гарах хугацаа ихээхэн богиносно.

Гаптений сорилоор эерэг дүн үзүүлэх нь бруцел гадагшлах үетэй шүтэлцээтэй байдаг онцлог шинж чанартай байгаа нь зориудын болон байгалийн халдвартай үхэрт хийсэн туршилт харуулжээ (Jones нар, 1980). Үхэрт ИХЭУ-ыг *Yersinia enterocolitica* O:9 үүсгэсэн болон үүсгэсэн шалтгаан тодорхойгүй нөхцөлд бруцелийн цитозолын уургийн жинхэнэ гаптенийг ашиглан гелд нэвчүүлэх аргаар шинжлэхэд ихэвчлэн сөрөг дүн үзүүлнэ (Munoz нар, 2005).

⁶ Дэлгэрэнгүй арга зүйг Испанийн Сарагоза хот дахь Бруцеллэзын лабораториос дараах хаягаар олж авч болно (Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria / Gobierno de Aragón, Avenida Montañana 930, 50059 Zaragoza, Spain).

Эдгээр төрөлх гаптений шинжилгээ нь халдвар авсан амьтанд илэрдэг ийлдсийн хариу урвалыг (ээрэг) *B. melitensis* Rev.1-ээр вакцинжуулсан амьтанд үүсдэг урвалаас (вакцинжуулсны дараа тодорхой хугацаа өнгөрөхөд ихэвчлэн сөрөг болно) ялгаварлахад маш өвөрмөц арга учраас түүнийг хонь, ямаанд хэрэглэхэд тохиромжтой. Гельд давхар нэвчүүлэх аргыг хонинд, цацруулан нэвчүүлэх аргыг ямаанд хэрэглэхэд оношилгооны мэдрэх чанар хамгийн оновчтой (90% орчим) болдог.

2.9. Сүүний шинжилгээ

Нийлүүлсэн сүүнээс авсан сорьцыг шинжлэх нь саалийн үнээний сүргийн түвшинд өвчнийг илрүүлэх үр ашигтай арга юм. Шинжилгээгээр эерэг дүн үзүүлбэл нийлүүлсэн сүүнд сүүг нь оруулсан бүх үнээнээс цус авч шинжилнэ. Сүүний ШБ-ЕЛИЗА нь өвөрмөц, мэдрэмтгий арга бөгөөд ялангуяа томоохон сүргийн түвшинд шинжилгээ хийхэд чухал ач холбогдолтой. Сүүний ШБ-ЕЛИЗА байхгүй нөхцөлд тохиромжтой өөр хувилбар нь сүүний цагариган урвал (СЦУ) юм. Гэвч СЦУ нь бог малын сүү шинжлэхэд тохиромжгүй.

2.9.1. Сүүний ШБ-ЕЛИЗА (зөвхөн үхэр, хонь, ямаанд)

ШБ-ЕЛИЗА-ийн адилаар сүүний ШБ-ЕЛИЗА бас олон хувилбартай. Үйлдвэрлэлийн өргөн туршилтаар баталгаажуулсан хэд хэдэн ШБ-ЕЛИЗА цомог худалдаанд гарсныг өдгөө өргөн хэрэглэж байна. Олон улсын хэмжээнд харилцан уялдаатай байх үүднээс үндэсний лавлах лабораториуд ЕЛИЗА-д хэрэглэх ДМАЭМБ-ын стандарт гурван ийлдсийг тухайн шинжилгээний аргаа шалгах эсхүл стандартчилах зорилгоор үхэрт хэрэглэх хэрэгтэй.

2.9.1.1 Саалийн үнээнд сүүний ШБ-ЕЛИЗА шинжилгээний аргыг стандартчилах

Үхэрт хэрэглэх сүүний ШБ-ЕЛИЗА аргыг ДМАЭМБ-ын ЕЛИЗА аргад хэрэглэх илт эерэг стандарт ийлдсийг сөрөг ийлдсэнд 1/125-аар шингэлээд улмаар сөрөг урвалтай сүүнд 1/10 шингэлэхэд тогтмол эерэг дүн үзүүлж байхаар стандартчилна (EU, 2008).

Нийлүүлсэн сүүний сорьцыг ерөнхийдөө ийлдэснийхээс маш доогуур шингэлэлтэд шинжлэх буюу өөрөөр хэлбэл шингэлэгч буферт 1/2 - 1/10 шингэлэлт хийхгүй, бусад нь ийлдэс шинжлэхтэй адил байна.

Сүүний ШБ-ЕЛИЗА хэрэглэхэд ийлдэсний хуурамч эерэг урвал (ИХЭУ) гарах боловч цусны шинжилгээг бодвол цөөн байна.

Хонь, ямаанд бруцелийн эсрэг бие илрүүлэх ШБ-ЕЛИЗА нь үхэрт зориулсан аргатай үндсэндээ адилхан боловч баталгаажуулалтын тохирох арга (Бүлэг 1.1.6 үз) хэрэглэн босго утгыг тэдгээр амьтан тус бүрд тодорхой тогтооно. Гэвч сүүний ШБ-ЕЛИЗА-г ОУБмСИ ашиглан стандартчилах олон улсын стандартчиллын зөвлөмж байхгүй.

2.9.2. Сүүний цагариган урвал (зөвхөн үхэрт)

Саалийн үнээний хувьд СЦУ-ыг сүргийн түвшинд бруцеллэзыг илрүүлэхэд ашиглана.

Олон малтай сүрэгт (> 100 саалийн үнээ), шинжилгээний өвөрмөц чанар найдвар муутай болдог. Олон малтай сүргээс авсан нийлүүлсэн сүүний сорьцод хийх шингэлэлтийн хүчин зүйлийг орлуулах тохиргоог СЦУ-д хийнэ. Дараах томьёоны дагуу сорьцын тоог тохируулна: сүргийн хэмжээ < 150 амьтан, 1 мл нийлүүлсэн сүүний сорьц; 150-450 амьтан, 2 мл сүүний сорьц; 451-700 амьтан, 3 мл сүүний сорьц.

Вакцинжуулснаас хойш 4 сар болоогүй үхэрт шинжилгээ хийхэд ердийн бус сүүний сорьц (уураг сүү зэрэг) эсхүл дэлэнгийн үрэвсэлтэй тохиолдолд хуурамч эерэг урвал тохиолдож магадгүй. Иймд энэ шинжилгээний дүнд ихээр нөлөөлж болох асуудалтай байдаг жижиг фермд түүнийг хэрэглэхийг зөвлөдөггүй.

2.9.2.1 Эсрэгтөрөгч бэлтгэх

СЦУ-ын эсрэгтөрөгчийг өмнө тодорхойлсон аргаар өсгөвөрлөж дараа нь үхүүлсэн *B. abortus* S99 эсхүл S1119-3 эсийг өтгөн цийдмэгээс бэлтгэнэ. Цийдмэгийг жишээ нь $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ -д 23,000 g -аар 10 минут хурилдуурдсаны дараа гематоксилиний будагч уусмалд дахин уусгана. Шаардлага хангах төрөл бүрийн арга хэрэглэж байгаагаас дор нэг жишээ үзүүлэв: 95% этанолд уусгасан 100 мл 4% (ж/э) гематоксилинийг (CI No. 75290) 100 мл цэвэршүүлсэн ус, 48 мл глицеринд найруулсан хөнгөн цагааны аммоны (5 г) уусмал руу нэмнэ. Энэ уусмалд 2 мл шинэхэн бэлтгэсэн 10%-ийн натрийн иодат 2 мл-ийг нэмнэ. Тасалгааны хэмд ($22^{\circ}\text{C} \pm 4^{\circ}\text{C}$) 30 минут тавьсны дараа гүн ягаан уусмалыг цэвэршүүлсэн усанд 10%-иар (ж/э) найруулсан хөнгөн цагааны аммонийн 940 мл уусмалд нэмнэ. Энэ холимгийн pH-ийг 3.1 ± 0.2 -д тохируулаад тасалгааны хэмд 45-90 хоног хадгална.

Хэрэглэхийн өмнө будагч уусмалыг зайлаад хөвөн шүүлтүүрээр шүүнэ. Тунасан эсийг 30 мл будгийн уусмалд 1 г цусны эс орохоор тооцож уусган сэргээгээд тасалгааны хэмд ($22^{\circ}\text{C} \pm 4^{\circ}\text{C}$) 48 цаг тавина (ингэхийн оронд зарим лаборатори 80°C -д 10 минут халаахыг эрхэмлэдэг). Будсан эсийг хурилдуурдаж тунаагаад 1.6 литр цэвэршүүлсэн усанд натрийн хлорид (6.4 г), 85% сүүний хүчил (1.5 мл) and 10% натрийн гидроксид (4.4 мл) хийж найруулсан, pH 3.0 ± 0.2 уусмалд 3 удаа угаана. Угаасан 1 г эсийг 27 мл дараах шингэлэгчээр дахин шингэлнэ. Шингэлэгч нь 0.5%-иар фенол давсны уусмал агуулах ба 0.1 М нимбэгийн хүчил (ойролцоогоор 2.5 мл), 0.5М хоёр натрит гидроген фосфат (ойролцоогоор 1 мл)-аар pH 4.0 ± 0.2 -д тохируулаад $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ -д 24 цаг хадгална. Холимгийг хөвөн шүүлтүүрээр шүүж pH-ыг шалгаад тунасан эсийн эзлэхүүнийг тодорхойлон 4%-д тааруулна.

2.9.2.2 Эсрэгтөрөгчийг стандартчилах

Эсрэгтөрөгчийг ДМАЭМБ-ын ОУСИ ашиглан 1/500 шингэлэлтэд эерэг, 1/1000 шингэлэлтэд сөрөг байхаар стандартчилна. Эсрэгтөрөгчийн шинэ багцын мэдрэх чанарыг өмнө нь эерэг ийлдсийг сүүгээр шингэлж бэлтгэсэн янз бүрийн урвал өгдөг бүлэг сорьц ашиглан стандартчилсан багцтай харьцуулна.

Эсрэгтөрөгчийг үйлдвэрлэгчийн зөвлөсөн нөхцөлд хадгалах ба голдуу $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ -д хадгална.

Эсрэгтөрөгчийн pH $3.5 (\pm 0.2)$ байх ба өнгө нь гүн ягаан байна. Хурилдуурдсан дээжийн дээд шингэн хэсэгт бага зэрэг сул будаг байхыг зөвшөөрнө. Бруцеллэггүй малаас авсан сүүнд шингэлэхэд эсрэгтөрөгч сүүний үе нэгэн жигд өнгөтэй болж цөцгийн үед туналтгүй, өнгөгүй байна.

2.9.2.3 Шинжлэх арга зүй

Нийлүүлсэн сүүний савнаас сорьц авч шинжилнэ. Шаардлагатай бол шинжлэхийн өмнө 2-3 хоног $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ -д хадгалааслагчаар (0.1% формалин эсхүл 0.02%-ийн бронопол) боловсруулалт хийнэ.

- i) Сүүний сорьц болон эсрэгтөрөгчийг тасалгааны хэмтэй ($22^{\circ}\text{C} \pm 4^{\circ}\text{C}$) болгоно. Зөвхөн тухайн өдрийн шинжилгээнд хүрэлцэх эсрэгтөрөгчийг хөргөгчөөс гаргаж бэлтгэнэ.
- ii) Эсрэгтөрөгчтэй савыг аярхан зайлна.
- iii) 1-2 мл эзлэхүүнтэй бүхэл сүүн дээр 30-50 мкл эсрэгтөрөгч нэмж шинжилгээ хийнэ. (их олон малтай сүргээс авч нийлүүлсэн сүүнээс авах сорьцын хэмжээг ихэсгэж болно – дээрхийг үз).
- iv) Хуруу шилэн дэх сүүний өндөр 20-25 мм байна. Сүүний сорьц хөлдөөгүй, халаагүй, ширүүн зайлаагүй, 72 цагаас илүү хугацаагаар хадгалаагүй байна.
- v) Сүү эсрэгтөрөгчийн холимгийг эерэг ба сөрөг ажлын стандарттай хамт ердийн үед $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ -д 1 цаг инкубацлана. Гэвч $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ -д хонуут инкубацлавал шинжилгээний аргын мэдрэх чанар нэмэгдэж урвалын дүнг уншихад хялбар болно.
- vi) Хуруу шилний дотор баганалах цагаан сүүн дээр гүн ягаан өнгийн цагариг тогтвол илт эерэг урвал гэж үзнэ. Сүү цөцгийн зааг дээр хөх өнгийн ямар нэг үе үүсвэл эерэг гэж үзэх ба энэ нь ялангуяа том суурийн тухайд чухал ач холбогдолтой байх болно.
- vii) Хэрэв цөцгийн үеийн өнгөнөөс доорх сүүний өнгө нь тод байвал шинжилгээний дүнг сөрөг гэж үзнэ.
- viii) СЦУ-ыг олон малтай том сүрэгт тохируулан хийж байгаа бол (2 эсхүл 3 мл сүү хэрэглээд) шинжилгээний хуруу шилэнд сөрөг урвалтай нийлүүлсэн цөцгийнөөс 0.1 мл-ийг нэмээд 30-50 мкл цагариган урвалын эсрэгтөрөгч хийнэ. Хольсны дараа дээжийг жирийн СЦУ явуулдгийн адилаар инкубацлаад дараа нь үр дүнг уншина. Сөрөг урвалтай нийлүүлсэн цөцгийг 25 ба түүнээс олон үнээтэй, бруцеллэггүй сүргээс саасан, пастеризаци хийгээгүй сүүнээс ялгаж бэлтгэнэ.

2.10. Зэрлэг амьтан шинжлэх ийлдэс судлалын арга

Зэрлэг амьтанд ихэвчлэн өвчний халдвар илрүүлэх зорилгоор ийлдэс судлалын шинжилгээ судалгаа явуулна. Энэ нөхцөлд шинжилгээний аргын өвөрмөц чанар шаардлага хангаж байх нь нэн чухал юм. РБУ-ыг аливаа зэрлэг амьтны дунд хийх оношилгооны ерөнхий зориулалтаар хэрэглэхийг зөвлөдөг. Түүнчлэн ХХУ-ыг дээрх зорилгоор зөвлөдөг ч аливаа зэрлэг амьтанд хавсарга идэвхгүйжүүлэх температур, босго утга тогтоох титрийг хараахан тодорхой тогтоож баримтжуулаагүй байна. Дээрх хоёр шинжилгээнд хэрэглэх ийлдсийн чанар маш сайн байх шаардлагатай ч түүнийг хангах чанартай ийлдэс зэрлэг амьтнаас бэлтгэх амаргүй. Чанар муу ийлдсийг РБУ, ХХУ аль ч аргаар шинжлэхэд гарсан үр дүнг ихэнхдээ боловсруулах боломжгүй байдаг. Зэрлэг амьтанд хийх эпидемиологийн ийлдэсний

тандах судалгаанд ШБ-ЕЛИЗА, Ө-ЕЛИЗА аргыг хэрэглэхэд ерөнхийдөө РБУ, ХХУ-ыг бодвол хоёул илүү найдвартайгаас гадна чанар муу, цус задралтай ийлдэс шинжилж болдгоороо чухал ач холбогдолтой (Stack нар, 1999). Ийлдэс байхгүй тохиолдолд махны шүүсний дээж шинжлэх боломжтойгоороо ЕЛИЗА арга бас давуу талтай. ШБ-ЕЛИЗА шинжилгээнд ашиглаж байгаа конъюгат нь шинжлэх гэж байгаа зэрлэг амьтны эсрэг биеийн тохирох изотипд сайтар холбогдож чадах эсэхийг магадлах хэрэгтэй. Гэвч зэрлэг амьтанд хийсэн шинжилгээний аргын баталгаажуулалт хангалтгүй байдаг учраас ЕЛИЗА шинжилгээний үр дүнг боловсруулахад амаргүй. Боломжтой бол ЕЛИЗА шинжилгээний босго утгыг баталгаажуулалтын тохирох арга хэрэглэн тухайн амьтны зүйлд оновчтой тогтоох хэрэгтэй (1.1.6 дугаар бүлгийг үз). Гэсэн хэдий ч ийлдэс судлалын шинжилгээгээр эерэг эсхүл сэжигтэй дүн гарсан тохиолдолд оношийг тодруулахын тулд боломжтой бол бактери судлалын шинжилгээ хийх шаардлагатай.

3. Эсийн дархлааны шинжилгээ

3.1. Арьсны бруцелиний сорил

Дархлаа судлалын өөр нэг арга бол арьсны бруцелиний сорил бөгөөд хэрэв цэвэршүүлсэн (S-липополисахаридгүй байх), стандартчилсан эсрэгтөрөгч хэрэглэсэн бол түүнийг вакцинжуулаагүй сүрэгт хийх илрүүлэх шинжилгээнд ашиглаж болно. Арьсны бруцелиний сорилын өвөрмөц чанар өндөр учраас вакцинжуулаагүй, ийлдэс судлалаар сөрөг гарсан үхэр энэ сорилоор эерэг урвал үзүүлбэл тухайн малыг халдвартайд тооцно (Pouillot нар, 1997). Арьсны бруцелиний сорил *B. melitensis* -ийн халдварыг бог малд оношлоход мэдрэх чанар мөн өндөр бөгөөд вакцинжуулаагүй нөхцөлд хэрэглэхэд хамгийн өвөрмөц оношилгооны аргын нэгд тооцогдоно.

Бруцелинийг хивэгч малд хэрэглэхээр бүтээсэн ч гахайн бруцеллэз өвчний оношийг сүргийн түвшинд баталгаажуулахад мөн үр дүнтэй байсан байна. Бруцелээр халдварласан гахай шинжлэхэд мэдрэх чанар нь сайн байсныг хээрийн судалгааны дүн харуулжээ (Dieste-Perez нар, 2014). Мөн түүнчлэн ИХЭУ үзүүлсэн амьтныг арьсны энэ сорилоор шинжлэхэд ямагт сөрөг гардаг учраас солбицох урвал үзүүлдэг бактерийн халдварын үед ийлдсийн шинжилгээгээр гардаг ИХЭУ-ын үр дүнг боловсруулахад энэ сорилын дүн хэрэг болно (Dieste-Perez нар, 2014; Pouillot нар, 1997). Бруцелинийг тэмээнд баталгаажуулах шинжилгээний арга болгон хэрэглэж болох нь урьдчилсан судалгаанаас харагджээ (Khalafalla нар, 2020).

B. melitensis Rev.1, *B. abortus* S19 эсхүл RB51 вакцин тарьсан амьтныг энэ сорилоор шинжлэхэд нэлээд хэдэн жил эерэг урвал үзүүлнэ (Pouillot нар, 1997; De Massis нар, 2005; 2015). Ийм учраас энэ сорилыг бруцелийн вакцин хэрэглэсэн нутагт оношилгооны болон олон улсын худалдааны зориулалтаар ашиглахыг зөвлөдөггүй. Үүнээс гадна, халдвар авсан бүх амьтан энэ сорилд хариу урвал үзүүлдэггүй учир түүнийг дангаар нь бодгаль мал, амьтанд оношилгооны болон олон улсын худалдааны зорилгоор хэрэглэхийг зөвлөдөггүй. Гэвч өвөрмөц чанар өндөр, сүргийн түвшинд хэрэглэхэд мэдрэх чанар хангалттай учраас түүнийг бруцеллэз өвчингүй нутагт сүргийн түвшний тандалтад ашиглахыг зөвлөж болно (Pouillot нар, 1997; De Massis нар, 2005; 2015).

Үрэвслийн өвөрмөц бус урвал өдөөдөг эсхүл ийлдсийн шинжилгээний үр дүнг будилуулдаг байж болзошгүй S-липополисахарид агуулаагүй болохыг нь тогтоож, стандартчлагдсан бруцелин хэрэглэх нь маш чухал.

Бруцелиний сорил хэдийгээр вакцинжуулаагүй амьтанд бруцеллэз оношлоход хамгийн өвөрмөц, шууд бус арга боловч сүргийн доторх цөөн хэдэн мал, амьтанд арьсны энэ сорилоор эерэг урвал илрүүлснээ үндэслэн эцсийн онош тогтоож болохгүй бөгөөд түүнийг оношилгооны нэмэлт арга хэрэглэн баталгаажуулна. Бруцелинийг арьсан дотор тарихад зарим амьтанд эсийн дархлааны хариу урвал болон түр зуур харшил өдөөнө (Blasco нар, 1994b). Иймд нэг амьтанд хоёр удаагийн сорил хийх бол ерөнхийдөө 6 долоо хоногийн зайтай хийнэ.

3.1.1. Шинжлэх арга зүй

3.1.1.1 Үхрийн бруцелийн халдвар

- i) 0.1 мл Бруцелинийг (2000 нэгж/мл) сүүлний хонхор, хэвлийн арьс, хүзүүний хажуу талын аль нэгний арьсан дотор тарина.
- ii) 48-72 цагийн дараа урвалыг уншина.
- iii) Бруцелин тарьсан хэсгийн арьсны зузааралтыг тарихаас өмнө болон дахин үзлэг хийх үедээ штангенциркулээр хэмжинэ.
- iv) Илт эерэг урвал өгсөн нь тарьсан хэсэг хавдсан, хатуурснаар тодорхой мэдэгдэнэ. Гэхдээ урвал өгсөн хэсгийн заагийг нарийн тогтооно. Арьс 1.5-2 мм болж зузаарсан бол эерэг урвал гэж үзнэ.

3.1.1.2 Хонь, ямааны бруцелийн халдвар

- i) Доод зовхины арьсан дотор 0.1 мл Бруцелинийг (2000 нэгж/мл) тарина.
- ii) 48 цагийн дараа урвалыг уншина.
- iii) Зовхины арьс овойж эсхүл зузаарч (≥ 2 mm) хавагнах зэрэг илт харагдах эсхүл барихад мэдрэгдэх хэт мэдрэгжилтийн урвал илэрвэл эерэг урвал гэж үзнэ.

3.1.1.3 Гахайн бруцелийн халдвар

Гахайн чихний уг эсхүл сүүлний уг хавьд арьсан дотор 0.1 мл Бруцелинийг (2000 нэгж/мл) тарина. Сүүлний уг хавьд тарих нь илүү хялбар бөгөөд аюул бага. Тарьсан хэсгийг харах, барих аргаар урвалыг 48 цагийн дараа шалгахад арьсны нөсөөгүй хэсэгт улайх, хавагнасан хавдалт үүссэн бол эерэг урвал гэж үзнэ. Зарим тохиолдолд цус харвалт/үхжил үүснэ.

3.2. Гамма интерфероны ялгаралтын шинжилгээ

Гамма интерфероны ялгаралтын шинжилгээ (ГИЯШ) нь бүтэн цусан дахь лимфоцитийг бруцелин зэрэг эсрэгтөрөгчөөр өдөөхөд үүссэн гамма интерфероныг баригч төрлийн ЕЛИЗА аргаар илрүүлэх арга юм. Энэ арга бруцеллэзыг ИХЭУ-аас ялгаварлах ач холбогдолтой боловч илүү өвөрмөц эсрэгтөрөгч олж хэрэглэх, арга зүйг стандартчилах, янз бүрийн амьтан болон эпидемиологийн нөхцөл байдалд зохих ёсоор баталгаажуулах хэрэгтэй. Эдүгээ бүрэн баталгаажуулсан арга зүй байхгүй.

В. ВАКЦИН, ОНОШИЛГООНЫ БИОЛОГИЙН БЭЛДМЭЛД ТАВИХ ШААРДЛАГА**1. Вакцин**

Өмнө дурдсанчлан лабораторийн нөхцөлд хамгийн амархан авдаг халдварын нэг бол бруцеллэз учраас түүнээс сэргийлэх аюулгүй ажиллагааг ягштал баримтална. Бруцелийн амьд өсгөвөр, түүний дотор вакцины омог аюултай учраас тэдгээртэй ажиллах лабораторийн ажиллагааг биологийн эрсдэлийн дүн шинжилгээгээр тогтоосон биохамгаалал, тусгаарлалтын зохих түвшинд гүйцэтгэнэ (1.1.4 дүгээр бүлгийг үз). S19, RB51, Rev.1 омгийн вакцин хүнд зарим талаар хортой бөгөөд тэдгээрийн эцсийн савлагаа дээрх шошгод аюулаас болгоомжлох талаар бичнэ. Вакциныг биедээ санамсаргүй тарих эсхүл түүнд хүргэвэл эмнэлгийн тусламж авна (В.1.2.3.2.3 Сэрэмжлүүлэг хэсгийг үз) (Ashford нар, 2004; Joint FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis, 1986; USDA, 2003).

1.1. Удиртгал**1.1.1. *Brucella abortus* 19 омгийн вакцин**

B. abortus S19 вакциныг үхрийг бруцеллэзоос хамгаалахад өргөн хэрэглэдэг бөгөөд бусад аливаа вакциныг харьцуулдаг лавлагааны вакцин хэвээрээ байсаар байна. Амьд вакцин хэмээн хэрэглэдэг энэ вакциныг 3-6 сарын бойжилттой охин тугалын арьсан дор $5-8 \times 10^{10}$ амьд үүсгэгч агуулах нэг тунгаар тарина. Нас гүйцсэн үхрийн арьсан дор $3 \times 10^8 - 5 \times 10^9$ үүсгэгч бүхий багасгасан тун тарьж болох боловч зарим малд эсрэг биеийн титр тодорхой хугацаанд ихсэж болох ба ийм малд хээл хаях, сүүгээр нь вакцины омог ялгарах тохиолдол гардаг. Аль ч насны үхрийг вакцины 5×10^9 амьд үүсгэгч бүхий нэг эсхүл хоёр тунгаар нүдний салст бүрхэвчээр олгох өөр нэг хувилбар бий. Вакцинжуулах энэ арга *B. abortus* (Nicoletti нар, 1978) болон *B. melitensis* (Jimenez de Bagües нар, 1991)-ийн аль алины эсрэг хамгаалалт үүсгэдэг бөгөөд урт хугацаанд үргэлжлэх эсрэг биеийн хариу урвал үүсгэхгүй ба нас гүйцсэн үхрийг вакцинжуулахад хээл хаях, сүүгээр үүсгэгч ялгарах эрсдэл буурна.

Brucella abortus S19 омгийн вакцин тарьсан амьтанд хорь чанартай *B. abortus* эсхүл *B. melitensis*-ээр дунд зэргийн тунгаар халдвар хийж шалгахад тэдгээрийн эсрэг дархлаа сайн тогтсон байжээ. Вакциныг АНУ-ын ХААД-ын (хаягийг 5-р зүүлт тайлбараас үз) гаралтай эх омгоор бэлтгэсэн байх ёстой ба цуврал тус бүрийг цэвэршилт (өөр бичил биетэн агуулаагүй байх), амьдрах чадвар (нэг тунд агуулагдах амьд бактери), гөлгөр байдал (өөрчлөлтийн төлөв тодорхойлох)-ийг шалгана. Вакцин үйлдвэрлэх эх омгийн бэлдцийн үлдэц хорь болон дархлаа төрүүлэх чанарыг хулганад тогтмол шалгана.

Энэ вакциныг шалгах аргыг В.1.2.3.3 Үйлдвэрлэлийн явцын хяналт хэсэгт дэлгэрүүлэв.

1.1.2. *Brucella abortus* RB51 омгийн вакцин

B. abortus RB51 омгийн вакцин 1996 оноос эхлэн хэд хэдэн улсад үхрийн бруцеллэзоос хамгаалахад хэрэглэх албан ёсны вакцин болоод байна. Гэвч S19 омгийн вакцинтай харьцуулахад RB51 омгийн вакцины үхэрт үүсгэх дархлааны хамгаалалтын үр дүнгийн талаар санал зөрөөтэй байдаг (Moriyon нар, 2004). Энэ вакциныг улс орон бүр хоорондоо бага зэрэг

ялгаатай арга замаар хэрэглэж байна. АНУ-д (RB51 вакцин нэвтрүүлэхээс өмнө энэ улсад үхрийн бруцеллёз бараг үгүй байв) 4-12 сарын бойжилттой тугалыг $1-3.4 \times 10^{10}$ амьд үүсгэгч бүхий тунгаар арьсан дор тарьж хэрэглэдэг. 12 сараас дээш сарын настай үхрийг зөвхөн муж улс эсхүл холбооны улсын малын эрүүл мэндийн ажилтны зөвшөөрлөөр вакцинжуулах ба $1-3 \times 10^9$ амьд үүсгэгч бүхий тунгаар тарина (USDA, 2003). Бусад улсад үхрийг тугалтай (4-12 сарын настай) адил $1-3.4 \times 10^{10}$ амьд үүсгэгч бүхий тунгаар тарих, дархлааг илүү өдөөн, хамгаалалтыг сайжруулахын тулд 12 сарын настайгаас эхлэн цаашид нэг ижил тунгаар давтан вакцинжуулахыг зөвлөдөг.

Гэвч *B. abortus* RB51 омгийн вакцины бүтэн тунг хураагуур судсаар тарьсан ихэнх үнээнд ихэсийн хүнд үрэвсэл, ихэсийн халдвар үүсгэсэн ба вакцинжуулсан зарим үнээний сүүгээр вакцины омог ялгарч байсныг мэдээлжээ. Хэрэв хээлтэй үнээнд хэрэглэвэл хээл хаяулах, хээлийн болон нялх үеийн үхэл хорогдол нэмэгдэхэд хүргэдгийг хээрийн судалгаа харуулсан байна. Эдгээр баримт *B. abortus* RB51 вакцинаар хээлтэй үнээ вакцинжуулахгүй байх зөвлөмж гаргахад хүргэжээ. Хэрэглэх тунг багасгах нь *B. abortus* RB51 вакцины гаж нөлөөг бууруулах нэг арга юм. Энэ вакциныг хээлтэй үнээнд хээл хүндрэх үеэс эхлэн багасгасан тунгаар (1×10^9 колони үүсгэх нэгж [KYH]) хэрэглэхэд хээл хаялт, ихэсийн гэмтэл гараагүй, харин вакцины омог гадагшлах нь вакцинжуулсан малын ихэнх хувьд илэрч байсныг мэдээлжээ. Гэвч багасгасан энэ тунгаар тугал вакцинжуулахад *B. abortus*-аас хамгаалаагүй ба нас гүйцсэн үхрийг вакцинжуулахад *B. abortus*-аас дунд зэрэг хамгаалж байжээ. *B. abortus* RB51-ээр үхэрт үүссэн дархлаа *B. melitensis*-ийн халдвараас хамгаалах эсэх талаар мэдээлэл байхгүй байна.

Вакцин шалгах аргын талаар В.1.2.2.3 хэсэгт дэлгэрүүлэв.

1.1.3. *Brucella melitensis* Rev.1 омгийн вакцин

Бог малд *B. melitensis* халдварын тархалт өндөр улс оронд үхрээс *B. melitensis* ялгарах нь цөөнгүй (Verges, 1985). Үхрийн *B. melitensis*-ийн халдвараас *B. abortus* S19 омгийн вакцины хамгаалах үр нөлөөний талаар зарим маргаантай асуудал байдаг ч энэ вакцинаар үхрийн *B. melitensis*-тэй тэмцэх боломжтойг нотолсон нийтлэл бий. Эдгээр нөхцөлд *B. abortus* S19-ыг бодвол *B. melitensis* Rev.1 вакцин илүү үр дүнтэй гэсэн таамаглал дэвшүүлсэн байна. Гэвч энэ асуудалтай холбоотой мэдээлэл маш бага (Бруцеллёзын талаарх ХХААБ/ДЭМБ-ын хамтарсан экспертийн хороо, 1986) бөгөөд үхрийн *B. melitensis* халдварын эсрэг Rev.1 вакцины үр нөлөөг харуулсан туршилт хийгээгүй байна. Үүнээс гадна Rev.1 вакцин үхэрт аюулгүй эсэх нь бодит байдалд мэдэгдээгүй байна. Үүнтэй холбоотойгоор физиологийн янз бүрийн статустай үхэрт Rev.1 вакциныг хэрэглэхэд аюулгүй бөгөөд *B. melitensis* халдварын эсрэг үр нөлөөтэй болохыг сайтар хяналттай нөхцөлд судлан тогтоох хүртэл энэ вакциныг үхэрт хэрэглэхийг зөвлөөгүй ажээ.

Brucella melitensis Rev.1 вакцин хонь, ямааг бруцеллёзоос хамгаалахад хамгийн өргөн хэрэглэгддэг бөгөөд хэдийгээр зарим дутагдалтай талтай ч бусад аливаа вакциныг харьцуулахад ашигладаг лавлагаа вакцин хэвээрээ байна. Нөгөөтгээгүүр барзгар *B. abortus* RB51 омгийн вакцин хонины *B. melitensis*-ийн эсрэг үр нөлөөгүй юм. *B. melitensis* Rev.1 амьд омгийг хөлдөөн хатааж улмаар цийдмэгжүүлсэн Rev.1 вакциныг хонь, ямааг дархлаажуулахад хэрэглэж байна. Энэ вакциныг 3-5 сарын бойжилттой хурга, ишгэнд нэг удаа арьсан дор эсхүл нүдэнд дусааж олгох бөгөөд ингэхдээ 5 сараас хэтрүүлэлгүй вакцинжуулбал түүний үр дүнд үүсэх эсрэг бие хожим хийгдэх ийлдэс судлалын шинжилгээнд үл нөлөөлөхүйц хамгийн бага хэмжээнд байна. Вакцин олгох замаас үл хамааран стандарт тунд $0.5 \times 10^9 - 2.0 \times 10^9$ амьд үүсгэгч агуулагдана. Багасгасан тунгаар хэрэглэхэд үүсэх хамгаалалт стандарт тунгийнхаас ихээхэн доогуур тогтдог ба энэ тунг хонь, ямааг вакцинжуулахад хэрэглэхгүй. Арьсан дор вакцин тарихад ийлдэсний удаан үргэлжлэх хариу урвал үүсгэж улмаар ийлдсийн шинжилгээнд ихээхэн нөлөөлдөг учир хавсарсан аргаар бруцеллёз өвчнийг устгахад чиглэсэн хөтөлбөрт арьсан дор вакцин тарих аргыг хэрэглэхийг зөвлөдөггүй. Гэвч вакцины стандарт тунг нүдэнд дусааж хэрэглэсэн нөхцөлд эсрэг биеийн урт хугацаанд үргэлжлэх хариу урвал үүсгэхгүйгээр ижил түвшний дархлааны хамгаалалт үүсгэнэ. Иймд вакцинжуулах ажлыг өвчин устгах хөтөлбөрт оруулж хамтруулах нь уг хөтөлбөрийн хэрэгжилтэд дэмжлэг болдог. *B. melitensis* Rev.1 вакцин хэрэглэхдээ байгаль орчин бохирдуулах эсхүл хүнд халдвар үүсгэх эрсдэл үүсгэхгүй байх арга хэмжээ авна. Хөгжиж байгаа болон өвчний эндемик тархалттай олон улс оронд өвчинтэй тэмцэх хамгийн сайн хувилбар нь популяцийг бүхэлд нь вакцинжуулах арга юм (Blasco, 1997). Гэвч Rev.1 вакцинаар хээлтэй малыг бүтэн эсхүл багасгасан аль ч тунгаар вакцинжуулахад голдуу хээл хаях, сүүгээр үүсгэгч гадагшлах нь тохиолдоно (Blasco, 1997). Нас гүйцсэн бог малыг төллөлт, саалийн үеэр эсхүл хээлтүүлгийн өмнө нүдний салст бүрхэвчид (бүтэн тун) дусааж вакцинжуулахад эдгээр гаж нөлөө ихээхэн багасна. Ийм учраас зөвхөн өргөн хүрээний вакцинжуулалт хэрэглэн өвчинтэй тэмцэж байгаа бол мал хээлтэй байх үед нь Rev.1 вакциныг хэрэглэхгүйгээр, харин төллөж дуусах болон хээлтүүлгийн өмнөх үеэр бүтэн тунг нүдэнд дусаах аргаар вакцинжуулах нь зүйтэй (Blasco, 1997).

Rev.1 вакциныг өсвөр малын арьсан дор тарих болон нас гүйцсэн малыг аль ч замаар вакцинжуулахад тэдгээрийн ихэнх хэсгийн ийлдсэнд вакцины эсрэг бие урт хугацаанд тогтон үлдэж (багасгасан тунгаар хэрэглэсэн ч мөн адил) бруцеллёз өвчнийг ийлдэс судлалын аргаар

оношлоход төвөг учруулна. Дээр дурдсаны дагуу нүдэнд дусаах аргаар вакцинжуулахад эдгээр асуудлыг (ялангуяа вакцинжуулах насны дээд хязгаар 5 сар бол) дээд зэргээр багасгах тул энэ нь уг өвчнийг хавсарсан арга хэрэглэн устгах хөтөлбөрт сонгон оруулж хэрэглэх нэг арга болно. Бруцеллэз өвчнийг ийлдэс судлалын аргаар оношлоход тухайн сүргийг вакцинжуулсан байдал, шинжилсэн бүлэг малд илэрч байгаа эсрэг биеийн тархалтын давтамжийг харгалзан үзнэ.

Вакцин шалгах аргын талаар В.1.2.2.3 хэсэгт дэлгэрүүлэв.

1.1.4. Гахайг вакцинжуулах

Гахайг *B. suis* халдварын эсрэг дархлаажуулахад тохирох вакциныг хөгжүүлэх олон оролдлого хийснээс нэг нь ч хангалттай үр дүнд хүрээгүй байна. БНХАУ-д гахайнаас ялган авсан хорую чанартай *B. suis* омгийн бх. 1-ийг олон дахин дамжуулж гаргасан *B. suis* 2 (S2) омгийн амьд вакциныг тус улсад гахай болон бусад төрлийн амьтанд өргөн хэрэглэж байгаа боловч *B. suis* халдварын эсрэг түүний үр нөлөөг нягт хяналтын дор тогтоосон баримт үхгүй байна.

Түүнчлэн *B. abortus* RB51 омгийн вакцин гахайг *B. suis* халдварт өртөхөөс хамгаалах үр дүнгүй байсныг мэдээлжээ (Stoffregen нар, 2006).

1.1.5. Бусад төрлийн амьтныг вакцинжуулах

Зэрлэг амьтанд, тэр дундаа *B. abortus*-тай холбоотойгоор вакцинжуулалт хэрэглэсэн Америк бизон (*Bison bison*), хандгай (*Cervus canadensis*) (Шинжлэх ухааны үндэсний академи, 2020) болон Rev.1-ээр вакцинжуулсан Альпийн янгир ямаанд вакцины үр нөлөө зэрлэг болон тэжээвэр амьтанд ялгаатай болох нь ажиглагдсан байна (Ponsart нар, 2019). Судалгаагаар Rev.1 вакцины омог янгир ямаанд тэжээвэр ямааг бодвол илүү урт хугацаагаар бактер судлалын өндөр түвшинд (КҮН) орогнож байгааг тогтоожээ. Энэ эрс ялгаатай байдлаас үзэхэд зэрлэг амьтанд үзүүлэх вакцины үр нөлөөг тэжээвэр амьтанд хийсэн туршилтаас жишээлэн үнэлэх нь маш төвөгтэй болох нь харагдаж байна. Вакцины хэлбэр, тарих зам, тун, түүний дотор халдвар хийх аргыг системтэйгээр үнэлэх хэрэгтэй.

1.2. Үйлдвэрлэлийн тойм, шаардлага

1.2.1. Эх омгийн шинж чанар

1.2.1.1 Үндсэн эх омгийн биологийн шинж чанар

Вакцин үйлдвэрлэхэд зориулсан *Brucella abortus* S19 жинхэнэ эх омгийг заавал АНУ-ын ХААД-аас (хаягийг 5-р зүүлт тайлбараас үз) авах ба түүнийг ашиглан эх омгийн багц бэлдцийг үйлдвэрлээд хөлдөөн хатаах эсхүл шингэн азотын температурт хөлдөөж хадгална. Энэ эх омгийн бэлдцийн шинж чанар нь CO₂-оос үл хамаардаг *B. abortus* бх. 1-ийн цэвэр өсгөвөртэй тохирч байх ёстой бөгөөд түүний бензил пенициллин (3 мкг [5 ОУН]/мл), тионин хөх (2 мкг/мл), и-эритритол (1 мкг/мл)-д мэдрэмтгий, усан гахайд эмгэг төрүүлэх чанар бага байдаг шинж чанарыг мөн хангасан байна.

Вакцин үйлдвэрлэхэд зориулсан *Brucella abortus* RB51 жинхэнэ эх омог худалдаанд гарсан байдаг. Энэ омгийг мөн АНУ-ын ХААД-аас (хаягийг 5-р зүүлт тайлбараас үз) авах боломжтой. *Brucella abortus* RB51 омог нь *B. abortus* бх. 1-ийн төрөлх шинж чанарыг агуулах боловч 100% барзгар төлөвт байж, рифампицин (250 мкг/мл)-тай орчинд ургадаг.

Вакцин үйлдвэрлэхэд зориулсан *Brucella melitensis* Rev.1 жинхэнэ эх омгийг худалдан авах боломжтой. *Brucella melitensis* Rev.1 жинхэнэ эх омгийн шинж чанарыг хадгалсан Европын Rev.1 лавлагааны омгийг Франц улс дахь ДМАЭМБ-ын бруцеллэз өвчний лавлах лабораториос авах боломжтой. Rev.1 омог нь *Brucella melitensis* бх. 1-ийн маш удаан ургадгаас бусад шинж чанарыг хадгалсан байх ёстой. Үүнээс гадна агаартай (CO₂ агуулсан атмосфер үр дүнг өөрчилнө) 37°C ±2°C-д инкубацилахад стрептомицин (2.5 мкг/мл) агуулсан агарт ургах ба ургахад тохирсон тэжээлт орчинд нь натрийн бензил пенициллин (3 мкг [5 ОУН]/мл), тионин (20 мкг/мл) эсхүл суурилаг фуксин (20 мкг/мл) нэмэхэд идэвхгүйжнэ.

S19, RB51 эсхүл Rev.1 вакцины шинж чанарыг цааш лавшруулан тогтооход ПГУ болон молекулын шинжилгээний арга хэрэглэнэ (Б.1.4 хэсгийг үз).

S19болонRev.1 омгийн вакцин үйлдвэрлэлийн тусгай шаардлагад зааснаар эх омгийн бэлдэц (вакцин үйлдвэрлэх тэжээлт орчинд тарих өсгөвөр) бүрийг жинхэнэ эх өсгөврөөс гурваас илүү зорчуулалгүй, бас вакцины цуврал үйлдвэрлэх омгийг эх омгийн бэлдцээс эсхүл жинхэнэ эх омгоос гурваас илүү зорчуулахгүйгээр бэлтгэсэн байх ёстой. Жинхэнэ эх өсгөврийг

хэрэглэхийн өмнө түүний гадаргууд өөрчлөлт гараагүй болохыг ямагт шалгаж баталгаажуулна. Эх материал бэлтгэхэд зөвлөсөн арга Альтон нарын (1988) бүтээлд бий.

1.2.1.2 Чанарын шалгуур

Brucella abortus S19, RB51, *B. melitensis* Rev.1 жинхэнэ эх омгийг цэвэршилт, ялгагдах шинж чанар, шаардлагатай бол гөлгөр эсхүл барзгар гадаргуутай байдлыг нь шалгана. S19 болон Rev.1 эх омгийн бэлдэц нь жинхэнэ эх омог ашиглан хулганад шалгасан үлдэц хоруу чанар, дархлаа төрүүлэх чанарын шаардлагыг хангаж байх ёстой.

1.2.1.2.1 Цэвэршүүлэлт

Биологийн материал цэвэр, бохирдолгүй болохыг тогтоох шалгалтыг 1.1.9. *Мал эмнэлгийн зориулалтаар хэрэглэх биологийн материалын ариун чанар, бохирдолгүйг шалгах* бүлэгт оруулав.

1.2.1.2.2 Аюулгүй чанар

S19 болон Rev.1 омгийн вакцины хоруу чанарыг бууруулсан бөгөөд вакциныг үр дүнтэй байлгахад хоруу чанарыг хамгийн бага түвшинд хадгалж байх ёстой (B.1.2.1.2.3 *Идэвх* хэсгийг үз). Гэхдээ аюулгүй чанарын шалгалтыг тогтмол хийхгүй. Шинэ үйлдвэрлэл эхлэх, S19 болон Rev.1 вакцины бэлдмэлийн аюулгүй чанар өөрчлөгдсөн үед хэрэв хүсвэл түүнийг үхэр (S19) болон хонь, ямаанд (Rev.1) хийнэ. Ийм шалгалт хийхдээ 4-6 сарын бойжилттой 12 охин тугал эсхүл хонь, ямаа авч, зөвлөсөн нэг эсхүл гурван тунг зургаан өсвөр охин тугалд тарина. Зургаан өсвөр охин тугалтай бүлэг бүрийг тусад нь маллана. Бүх тугалд 21 хоног ажиглалт хийнэ. Хэсэг газрын болон тогтолцооны мэдэгдэхүйц хариу урвал илрэх ёсгүй. Хэрэв үндсэн вакциныг төлөөлөх цувралын вакциныг тогтоосон тун, замаар олгох туршилт сайн үр дүн үзүүлбэл нэг ижил эх омог ашиглан нэг ижил үйл ажиллагаагаар үйлдвэрлэсэн эх омгийн бэлдэц эсхүл вакцины цувралд энэ шалгалтыг давтан хийхгүй. S19/Rev.1 омгийн вакцины аюулгүй чанарын шалгалтыг бас усан гахайд хийж болно. Арваас доошгүй амьтантай бүлэгт ФБУ-аар шингэлсэн (pH 7.2 ±0.2), 5×10^9 амьд үүсгэгч бүхий вакцины тунг булчинд тарина. Амьтанд илэрхий гаж нөлөө илрэхгүй, хорогдол гарахгүй байна.

Хэрэв үндсэн эх омог эсхүл вакциныг төлөөлөх цувралын аюулгүй чанарыг шалгах туршилт сайн үр дүн үзүүлбэл нэг ижил цувралын эх омог ашиглан нэг ижил үйл ажиллагаагаар үйлдвэрлэсэн бусад вакцины цувралд энэ шалгалтыг давтан хийхгүй.

RB51 омгийн вакцины аюулгүй чанарыг шалгахыг хүсвэл 8-10 долоо хоногийн настай, *Balb/c* охин хулганын хэвлийн хөндийд 1×10^8 КҮН тарьж түүнээс хойш 6 долоо хоногийн дараа дэлүүнээс өсгөвөр хийнэ. Дэлүүнд RB51 омог байхгүй, хулганад О-полисахаридийн эсрэг бие үүсэхгүй байх ёстой.

1.2.1.2.3 Идэвх

и) S19 омгийн вакцин

Хэрэв вакцин жинхэнэ S19 омгийн шинж чанарыг хадгалж байвал, өөрөөр хэлбэл омгийн ялгагдах шинж чанар, гөлгөр гадаргуутай байдлын хувьд тохирч байвал S19 омгийн вакцин үр дүнтэй байна. Үүнээс гадна вакциныг дархлаа төрүүлэх чанар, үлдэц хоруу чанараар шаардлага хангах эх омгийн бэлдэц ашиглан үйлдвэрлэсэн байх ёстой.

а) Ялгагдах шинж чанар

Вакцинд агуулагдах *Brucella abortus* омгийг хэлбэр зүй, ийлдэс судлал, биохимийн тохирох шинжилгээ болон өсгөвөрлөх аргаар ялган танина. *B. abortus* S19 омог нь *B. abortus* 1 биохэвшлийн төрөлх шинж чанарыг агуулах боловч өсгөвөрлөхөд CO₂ шаардахгүй, бензил пенициллин (3 мкг [5 ОУН]/мл), тионин хөх (2 мкг/мл), и-эритритол (1 мг/мл) (бүгд эцсийн төвшрүүлэгтэй) бүхий орчинд ургахгүй. Вакцины S19 омгийг ялган таних ПГУ болон молекул түвшний аргыг боловсруулжээ (B.1.4 хэсгийг үз).

б) Гөлгөр байдал

S19 омгийн вакциныг цэвэршүүлсэн усаар уусган сэргээгээд зургаан аяганд савласан агарын (ийлдэс 5% [э/э] эсхүл хөрөнгийн эсийн ханд 0.1%-иар [ж/э] тооцож нэмсэн ийлдэс-декстрозтой агар эсхүл триптикээ-шар буурцгийн агарын (TSA)) гадаргууд татаж тарих ба ингэхдээ зарим хэсэгт колони нягт нийлсэн, бараг нийлсэн, зарим хэсэгт илт салангид ургасан байхаар тооцно. Тархаж биш

зэрэгцэж ургасан колонийн үл ялих ялгаа илүү тодорхой харагдана. Аягыг $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ -д 5 өдөр тавьж кристал виолетээр (Вайт, Вилсоны будах арга) будахын өмнө болон хойно (гурван аяга) ойсон ташуу гэрлээр (Хэнригийн арга) шалгана.

Будахаас өмнө колонийн харагдах байдал: S колони дугуй хэлбэртэй, гялалзсан, хөхөөс хөхөвтөр ногоон өнгөтэй, R колони хуурай, мөхлөгтэй харагдах, бүүдгэр шараас цагаан өнгөтэй байна. Салслаг (M) колони тунгалаг, сааралдуу өнгөтэй, гогцоогоор хүрэхэд мэдрэгдэх салслаг байдлаар тэдгээрийг ялгаварлана. Завсрын колони (I) ангилахад хамгийн хэцүү, S болон R колонийн завсрын хэлбэртэй, бүрсгэр, S колониос илүү мөхлөгжүү байна.

Кристал виолетээр будсаны дараа колонийн харагдах байдал: S колони будагдахгүй. Салангид колони (I, M, R) улаан, чернилэн ягаан янз бүрээр сүүдэртэж будагдсан, гадаргуу нь тал тал тийшээ хагарсан байна. Салсан колонийн будагдсан гадаргуугийн хальс зарим үед гулсан хажууд нь харагдана.

Колонийн орших байдлыг акрифлавин наалдуулах урвалаар баталгаажуулна (Alton нар, 1988). S колони цийдмэг дотор нь үлдэж R колони тэр даруйдаа наалдалт үүсгэн хэрэв салслаг бол утаслаг хэлбэртэй болно. Завсрын колони цийдмэгт үлдэх эсхүл маш нарийн наалдалт үүсгэнэ.

Эх омгийн бэлдцийн эсийн 99%-иас доошгүй нь гөлгөр байдалд оршино.

- В) Үлдэц хоруу чанар (50% орогнох хугацаа эсхүл 50% сэргэх хугацаа) (Grillo нар, 2000; Pouillot нар, 2004)
- 1) Шинжлэх эх омгийн бэлдэц (шинжлэх вакцин) болон S19 омгийн жинхэнэ эх өсгөвөр (лавлагааны омгоор) аль алинаас шаардлага хангах цийдмэг бэлтгэнэ. Үүний тулд омог тус бүрийн 24-48 цаг өсгөврийг хураан авч ариутгасан буферийн давсны уусмалд (БДУ: NaCl 8.5 г; KH_2PO_4 1.0 г; K_2HPO_4 2.0 г; цэвэршүүлсэн ус 1000 мл; pH 6.8 ± 0.2) хийгээд спектрофотометр (600 нм-д уншихад гэрлийн нягт 0.170) ашиглан БДУ дахь цийдмэгийг 10^9 КҮН/мл болгон тохируулна. Дараалсан арав дахин шингэлэлтийг тохирох тэжээлт орчинд (цустай агарын суурь эсхүл TSA зөвлөдөг) тарих замаар КҮН/мл-ийн нарийн тоог шалгана.
 - 2) Шалгах вакцин бүхий цийдмэгээс 0.1 мл-ийг (10^8 КҮН/хулгана) 5-6 долоо хоногийн бойжилттой 32 охин CD1 хулгана тус бүрийн арьсан дор тарина. Зэрэгцүүлээд S19 лавлагааны омог агуулсан цийдмэгээр өөр 32 хулганад ижилхэн тарилт хийнэ. Дархлаа төрүүлэх чанар болон/эсхүл үлдэц хоруу чанарын хувьд шаардлага хангах жинхэнэ S19 эх омгийг АНУ-ын ХААД-аас авч болно (хаягийг 5-р зүүлт тайлбараас үз).
 - 3) 3, 6, 9, 12 долоо хоногийн дараа санамсаргүй сонголтоор бүрдүүлсэн найман хулгана бүхий бүлгийн хулганыг хүзүүг мушгих аргаар үхүүлнэ.
 - 4) Хулгана нэг бүрээс дэлүүг авч тус тусад нь 1 мл ариун БДУ хийсэн шилэн уур нухуурт (эсхүл сэлүүрт хутгагчтай тохирох ариун уутанд) хийж үжил эсэргүүцэх аргаар жижиглэн нэгэн жигдийн шингэн болгоно.
 - 5) Бүтэн дэлүү бүрийн цийдмэгийг тохирох тэжээлт орчин цутгасан хэд хэдэн аяганд бүрэн тараан хийж бруцелийн стандарт нөхцөлд 5-7 хоног байлгана (илрүүлэх хамгийн бага хязгаар: нэг дэлүүнд 1 бактери). Дэлүүнээс наад зах нь 1 КҮН ялгарвал тухайн амьтныг халдвартай гэж үзнэ.
 - 6) Сэргэх хугацаа (RT_{50})-г тооцоолоход тусгайлан боловсруулсан статистик аргаар 50% орогнох хугацаа эсхүл 50% RT_{50} -ыг тооцоолно⁷. Үүний тулд хулгана үхүүлэх туршилт бүхэнд (нэг удаад найман хулгана) хамгаалагдсан хулганын тоог (дэлүүнд нь колони ялгараагүй) гаргаж тодорхой нэгж хугацаанд хамгаалагдсан хулганын тоог өсөн нэмэгдэх дүнгээр Рийд, Муэнч нарын аргаар гаргана (Grillo нар, 2000). Энэ эзлэх хувийн тархалтын функцийг шугаман бус сигмоид муруйгаар тодорхойлж RT_{50} утгыг тооцоолохын тулд компьютерээр тооцоолох статистик багцын Пробит аргаар шугаман хамааралд хувиргана.
 - 7) Шалгаж байгаа болон лавлагааны омог хоёулангийн тархалтын шугамын зэрэгцлийг (огтлол ба налалт) энэ зорилгоор тусгайлан бүтээсэн компьютерын программ хангамж ашиглан статистикийн аргаар харьцуулна. Хоёр RT_{50} утга зөвхөн тархалтын зэрэгцээ шугамаас гарч ирсэн бол тэднийг

⁷ Программын дэлгэрэнгүй мэдээллийг Франц улс дахь ДМАЭМБ-ын Бруцеллэз өвчний лавлах лабораториос авах боломжтой.

статистик аргаар харьцуулна. Хэрэв зэрэгцэл байхгүй бол шалгаж байгаа омгийн үлдэц хоруу хүлээн авч үл болох хэмжээнд байна гэж үзэн түүнийг вакцин үйлдвэрлэлд хэрэглэхгүйгээр устгана.

- 8) Хэрэв зэрэгцэл байгаа нь батлагдвал шалгаж байгаа болон лавлагааны S19 омог хоёулангийн RT_{50} утгыг энэ зорилгоор тусгайлан бүтээсэн компьютерын программ ашиглан статистикийн аргаар харьцуулна. Шалгасан омгийн RT_{50} нь лавлагааны S19 омгийн RT_{50} -иас (RT_{50} ба үнэмшлийн хязгаар нь ихэвчлэн 7.0 ± 1.3 долоо хоног орчим байна) төдийлөн ялгагдахааргүй байсан нөхцөлд түүнийг вакцины үйлдвэрлэлд ашиглахыг зөвшөөрнө.

Дээрх үлдэц хоруу чанарыг тооцоолох статистик арга ажиллагааны үндэслэлийг дэлгэрэнгүй тодорхойлсон байна (Grillo нар, 2000). Өөр нэг хувилбар болгон, статистик тооцооллын 6-8 дахь шатыг алгасан тооцоолох боломжтой ашиглахад хялбар HTML-JAVA тусгай программыг Франц дахь ДМАЭМБ-ын лавлагааны лабораториос үнэгүй авах боломжтой (Pouillot нар, 2004).

Хэрэв төлөөлөл болсон эх омгийн бэлдцийг шалгах туршилт сайн үр дүн үзүүлбэл нэг ижил эх омог ашиглан нэг ижил үйл ажиллагаагаар үйлдвэрлэсэн бусад эх омгийн бэлдэц, вакцины цувралд энэ шалгалтыг давтан хийхгүй.

- г) Хулганад дархлаа төрүүлэх чанар (Grillo нар, 2000)

Энэ шалгалтад 5-7 долоо хоногийн настай, санамсаргүй аргаар сонгосон зургаан охин CD1 хулгана бүхий гурван бүлгийг хамруулна.

- 1) Дээр заасны дагуу вакцины цийдмэгийг бэлтгэж спектрофотометрийн аргаар тохируулна.
- 2) Эхний бүлгийн зургаан хулганын арьсан дор шалгах вакцины (шалгалтын вакцин) 10^5 КҮН (0.1 мл/хулгана хэмжээгээр) агуулсан цийдмэг тарина.
- 3) Хоёр дахь бүлгийн зургаан хулганын арьсан дор S19 омгийн лавлагааны вакцины 10^5 КҮН амьд бактери агуулсан цийдмэг тарина. Гурав дахь бүлэг нь вакцинжуулаагүй хяналтын бүлэг болох ба хулганад 0.1 мл БДУ арьсан дор тарина.
- 4) Тарьсан КҮН/мл-ийн нарийн тоог дараалсан арав дахин шингэлэлтийг тохирох тэжээлт орчинд (цустай агарын суурь эсхүл TSA зөвлөдөг) тарилт хийх замаар шалгана.
- 5) Вакцинжуулснаас хойш 30 хоногийн дараа бүх хулганын хэвлийн хөндийд, дээр дурдсан аргаар бэлтгэж, тохиргоо хийж, эргэн мөшгөж шалгасан *B. abortus* 544 (CO₂-хамааралт) омгийн 2×10^5 КҮН агуулсан цийдмэгээр (0.1 мл/хулгана) халдвар хийнэ (16 цаг өлсгөсний дараа удаалгүй).
- 6) 15 хоногийн дараа хулганын хүзүүг мушгих аргаар үхүүлнэ.
- 7) Дэлүү тус бүрийг үжлээс хамгаалах аргаар авч өөхнөөс салгаад жинлэн жижиглэж нэгэн жигдийн шингэн болгоно.
- 8) Өөр нэг хувилбар нь дэлүүг хөлдөөгөөд 24 цагаас 7 хоног хүртэл $\leq -16^\circ\text{C}$ -д хадгална.
- 9) Дэлүү нэг бүрийг тусад нь түүний жингээс ес дахин их БДУ, pH 6.8 ± 0.2 хийсэн шилэн уур нухуурт (эсхүл Стомачерийн тохирох ариун уутанд) хийж үжилгүй болгох аргаар жижиглэн нэгэн жигд шингэн болгоод энэ шингэн тус бүрийг дээрхтэй ижил шингэлэгчээр арав дахин (1/10, 1/100, 1/1000) дараалан шингэлнэ. Шингэлэлт тус бүрээс агартай дөрвөн аяганд тус бүр 0.2 мл-ээр тарааж хуваарилаад хоёр аягатайг 10% CO₂-той орчинд (вакцины болон халдвар хийсэн омог аль алиныг өсгөвөрлөх), нөгөө хоёр аягатайг (халдвар хийсэн, CO₂-хамааралт *B. abortus* 544 омгийн ургалтыг саатуулах) энгийн агаартай орчинд хийж, бүгдийг $37^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ -д 5 хоног өсгөвөрлөнө.
- 10) Бруцелийн (*B. abortus* 544) колонийг 300-аас цөөн КҮН үзүүлсэн аяган дахь шингэлэлтэд тоолж гаргана. 1/10 шингэлэлттэй аяганд колони харагдсан бол дэлүү таван бактериар халдварласан гэж үзнэ. Дэлүү тус бүрийн бруцелийн эдгээр тоог X гэж тэмдэглээд доорх хувиргалтын дараа Y-ээр илэрхийлнэ: $Y = \log(X/\log X)$. Зургаан хулганатай бүлэг тус бүрийн үзүүлэлтийн дундаж болон стандарт хазайлтыг тооцож гаргана.
- 11) Доорх нөхцөлд хяналтын туршилтын нөхцөл хангагдсан гэж үзнэ: i) вакцинжуулаагүй хулганын хариу урвал (дундаж Y) 4.5-аас доошгүй; ii)

лавлагааны S19 вакцин тарьсан хулганын хариу урвал 2.5-аас доош; iii) зургаан хулгана бүхий цуврал бүрд тооцсон стандарт хазайлт 0.8-аас бага байх.

- 12) Шалгаж байгаа S19 омгийн вакцинаар вакцинжуулсан хулганад тодорхойлсон дархлаа төрүүлэх идэвхийн утгыг лавлагааны вакцин хэрэглэсэн болон вакцин огт хэрэглээгүй хулганын бүлгийн үзүүлэлттэй статистик харьцуулалт (ач холбогдлоор бага ялгааны статистик арга хэрэглэхийг зөвлөдөг) хийнэ. Шалгалтын вакцин тарьсан хулганад тодорхойлсон дархлаа төрүүлэх идэвхийн утга вакцин тариагүй хяналтын хулганынхаас ихээхэн доогуур, үүнээс гадна лавлагааны вакцин тарьсан хулганад тодорхойлсноос онцын ялгаагүй тохиолдолд шалгасан вакциныг шаардлага хангасан гэж үзнэ (энэ аргын талаар дэлгэрэнгүй мэдээллийг Франц улс дахь ДМАЭМБ-ын Бруцеллэз өвчний лавлах лабораториос олж авна).

Эх омгийг төлөөлөх цувралын шалгалт сайн үр дүн үзүүлсэн бол нэг ижил эх омог ашиглан нэг ижил үйл ажиллагаагаар үйлдвэрлэсэн бусад эх омгийн бэлдэц эсхүл вакцины цувралд энэ шалгалтыг давтан хийхгүй.

ii) RB51 вакцин

RB51 вакцины эх омгийн бэлдэц нь жинхэнэ RB51 омгийн шинж чанарыг хадгалах ёстой буюу өөрөөр хэлбэл омгийн ялгагдах шинж чанар, барзгар байдал, идэвхийн хувьд тохирсон байна.

a) Ялгагдах шинж чанар

Уусгаж сэргээсэн RB51 вакцин гаднын бичил биетэнгүй байх ёстой. Вакцинд агуулагдах *Brucella abortus* омгийг хэлбэр зүй, ийлдэс судлал, биохимийн тохирох шинжилгээ болон өсгөвөрлөх аргаар ялган танина. *B. abortus* RB51 омог нь *B. abortus* бх. 1-ийн төрөлх шинж чанарыг агуулах боловч 100% барзгар төлөвтэй байж, рифампицин (250 мкг/мл) бүхий орчинд ургана. Вакцины RB51 омгийг ялган таних ПГУ болон молекул түвшний аргыг боловсруулжээ (B.1.4 хэсгийг үз).

b) Барзгар гадаргуут байдал

S19 омгийн вакцинд хэрэглэх зарим техник арга ажиллагааг (дээрх B.1.2.1.2.3.i хэсэг S19 омгийн вакцин) RB51 омгийн вакцинд хэрэглэж болно. RB51-ийн эс 100% барзгар төлөвт байх ёстой. Үүнээс гадна, RB51-ийн бүх колони О-полисахарид эсрэгтөрөгчид өвөрмөц ИГЭБ хэрэглэх дот-блот аргаар шалгахад сөрөг байх ёстой.

c) Идэвх

RB51 вакциныг АНУ-д үхэрт хэрэглэх зөвшөөрөл авахаар бүртгүүлэхэд уг вакцины үүсгэх дархлааны хамгаалалт үндсэн эх омгийн (КҮН) тунгаас хамаарна гэж заасан учраас RB51 вакцины үйлдвэрлэлийн цувралд дархлаа төрүүлэх идэвхийн *in-vivo* шалгалт ихэнхдээ хийдэггүй. АНУ-д амьд бичил биетийг Петрийн аяганд тоолох аргыг вакцины дархлаа төрүүлэх идэвхийг тогтоох арга болгон баталгаажуулаад хэрэглэж байна (энэ нь АНУ-д S19 вакциныг идэвхийг тогтоох шалгалттай ижилхэн (USDA, 2003). Бруцеллэз өвчинд зориулсан барзгар омгийн вакцины зарим асуудлыг нарийвчлан авч хэлэлцжээ (Moriyon нар, 2004).

iii) Rev.1 вакцин

Rev.1 вакцин нь жинхэнэ Rev.1 эх омгийн шинж чанарыг хадгалж байвал, өөрөөр хэлбэл ялгагдах шинж чанар, гөлгөр байдлын хувьд тохирч байвал үр дүнгээ өгдөг. Үүнээс гадна, вакциныг дархлаа төрүүлэх чанар, үлдэц хоруу чанараар тохиромжтой эх омгийн бэлдэц ашиглан үйлдвэрлэсэн байх ёстой (Grillo нар, 2000).

a) Ялгагдах шинж чанар

Вакцинд агуулагдах *Brucella melitensis* омгийг хэлбэр зүй, ийлдэс судлал, биохимийн тохирох шинжилгээ болон өсгөвөрлөх аргаар ялган танина. Агаарт 37°C ±2°C-д өсгөвөрлөхөд Rev.1 омог нь тохирсон тэжээлт орчинд нь натрийн бензил пенициллин (3 мкг [5 ОУН]/мл), тионин хөх (20 мкг/мл), суурилаг фуксин (20 мкг/мл) нэмэхэд идэвхгүйжих ба харин нэг мл тутамд 2.5 мкг стрептомицин агуулсан агарт уг омог ургана. Вакцины Rev.1 омгийг ялган таних ПГУ болон молекул түвшний аргыг боловсруулжээ (B.1.4 хэсгийг үз).

b) Гөлгөр гадаргуутай байдал

S19 омгийн вакцинд хэрэглэх зарим техник арга ажиллагааг (дээрх В. 1.2.1.2.3.i хэсэг) Rev.1 омгийн вакцинд хэрэглэж болно.

Зарим үед Rev.1 колонийн хэмжээнд ялимгүй, үл анзаарагдам ялгаа ажиглагдана. Rev.1 ийн өвөрмөц хэв шинжит колони нь жижиг (1–1.2 мм голчтой) байх боловч хэрэглэсэн тэжээлт орчин, термостат дахь агаарын үлдэгдэл чийг, CO₂ байгаа эсэхээс хамааран Rev.1-ийн илүү том колони үүсэж болно. Колонийн хэмжээний харьцаа хэвийн нөхцөлд 10³ жижиг колонид 1 том колони байна. Rev.1-ийн аль ч хувилбар гөлгөр S төлөвт байна. Дараалсан зорчуулалт хийх явцад колонийн хэмжээний ялгарлыг нэмэхгүйн тулд эх омгийн бэлдцэд ямагт жижиг колони сонгоно.

Эх омгийн бэлдцийн эсийн 99%-иас доошгүй нь гөлгөр төлөвт оршино.

c) Үлдэгдэл хоруу чанар (50% орогнох хугацаа эсхүл 50% сэргэх хугацаа) (Grillo нар, 2000)

S19 вакцинд RT₅₀-ийг тооцоолоход хэрэглэдэг (дээр байгааг үз) техник аргачлалыг Rev.1 вакцинд хэрэглэх ба харин дараах солилт хийнэ. Үүнд: *B. abortus* S19 эх омог (шалгах вакцин), жинхэнэ *B. abortus* S19 эх өсгөвөр (лавлагааны омгоор ашиглах)-ийг тухайн шалгах *B. melitensis* Rev. 1 эх омгийн бэлдэц (шалгах вакцин) болон лавлагааны омгоор ашиглах жинхэнэ *B. melitensis* Rev.1 эх өсгөврөөр тус тус солино. Лавлагааны Rev.1 эх омгийн тухайд RT₅₀ болон үнэмшлийн хязгаар нь 7.9 ± 1.2 орчим долоо хоног байна. Тухайн Rev.1 вакцины эх омгийн бэлдэц эсхүл багц нь үлдэц хоруу чанараар ижил бөгөөд хүлээн авч болохуйц байна.

Эх омгийг төлөөлөх цувралын шалгалт сайн үр дүн үзүүлсэн бол нэг ижил эх омог ашиглан нэг ижил үйл ажиллагаагаар үйлдвэрлэсэн бусад эх омгийн бэлдэц эсхүл вакцины цувралд энэ шалгалтыг давтан хийхгүй.

d) Хулганад дархлаа төрүүлэх чанар

S19 вакцинд дархлаа төрүүлэх чанарыг тооцоолоход хэрэглэдэг (дээр байгааг үз) техник аргачлалыг Rev.1 вакцинд хэрэглэх ба харин зөвхөн дараах өөрчлөлт хийнэ. Үүнд: *B. abortus* S19 эх омог (шалгах вакцин), жинхэнэ *B. abortus* S19 эх өсгөвөр (лавлагааны омгоор ашиглах)-ийг тухайн шалгах *B. melitensis* Rev. 1 эх омгийн бэлдэц (шалгах вакцин) болон лавлагааны омгоор ашиглах жинхэнэ *B. melitensis* Rev.1 эх өсгөврөөр тус тус солино.

Доорх нөхцөлд хяналтын туршилтын болзол хангагдсан гэж үзнэ: i) вакцинжуулаагүй хулганын хариу урвал (дундаж Y) 4.5-аас доошгүй; ii) лавлагааны Rev.1 вакцин тарьсан хулганын хариу урвал 2.5-аас доош; iii) зургаан хулгана бүхий цуврал бүрд тооцсон стандарт хазайлт 0.8-аас доогуур байх.

Эх омгийг төлөөлөх цувралын шалгалт сайн үр дүн үзүүлсэн бол нэг ижил эх омог ашиглан нэг ижил үйл ажиллагаагаар үйлдвэрлэсэн бусад эх омгийн бэлдэц эсхүл вакцины цувралд энэ шалгалтыг давтан хийхгүй.

1.2.1.3 Вакциныг баталгаажуулах

Бруцеллэз өвчнөөс үхэр сүргийг хамгаалах S19 омгийн вакцины ач холбогдлыг хараат бус, бие даасан цөөнгүй судалгаагаар баталгаажуулсан байдаг бөгөөд эдүгээ бруцеллэз өвчингүй ихэнх улсад үхрийн бруцеллэз өвчнийг устгахад (ийлдэс судлалаар шинжлээд эергийг заазлах аргатай хослуулан) хэрэглэсэн вакцин юм. Вакциныг үржлийн бойжилт гүйцээгүй үхэрт хэрэглэхэд бактери нь сулруулсан омог мэт болно. Вакциныг арьсан дор стандарт тунгаар тарихад ялангуяа эр малын үржлийн эрхтний замд байршмал халдвар ховор боловч тохиолдож болзошгүй. Энэ шалтгааны улмаас эр мал вакцинжуулахгүй байх заалттай. Нас гүйцсэн малын стандарт тунгаар арьсан дор тарьж вакцинжуулсан малын ихээхэн хувьд эсрэг биеийн хариу урвал 6 ба түүнээс дээш сар үргэлжлэх магадлалтай. Тугалын арьсан дор тарьсан вакцины улмаас хожим зарим үхэрт үений, ялангуяа тойгны үений эмгэг үүснэ. Тугалыг 3-6 сарын настайд нь вакцинжуулбал ихэнх малд аюулгүй. Нас гүйцсэн малд багасгасан тунгаар хэрэглэвэл оношилгоонд эсрэг бие нөлөөлөх нь багасах давуу талтай. Хоруу чанартай *B. abortus* омог ашиглан дунд зэргийн тунгаар хяналтын халдвар хийхэд урт хугацааны дархлаа үүсгэдэг боловч түүний үргэлжлэх хугацааг яг нарийн тогтоогоогүй байна. Мөн түүнчлэн үхэрт *B. melitensis* халдварын эсрэг вакцины хамгаалалтын үргэлжлэх хугацааг тогтоогоогүй байна. Вакцины омог тогтвортой бөгөөд эргэж хоруу чанартай болох нь туйлын ховор ба энэ нь вакциныг хээлтэй малд санамсаргүй хэрэглэх тохиолдолд аи-эритритол ашиглан оршдог омог шинээр үүссэнтэй холбоотойгоор тохиолддог. Бактери нь хулганад сулруулсан омог шиг үйлчлэх ба түүнийг их хэмжээгээр тарьсан ч хулганын биеэс түргэн гадагшилна

Зориудаар халдвар хийх болон үйлдвэрлэл дээр хийсэн судалгаагаар *B. abortus* RB51 омгийн вакцин үхрийг бруцеллэзоос хамгаалахад ач холбогдолтой эсэх талаар нэгдсэн дүгнэлтэд хүрч чадаагүй байна (дээрхийг үзэх). Уг бичил биетэн тугалд суларсан омгийн байдалтай байх боловч нас гүйцсэн үхэрт аюулгүй байдал талаасаа асуудал үүсгэнэ. *Brucella abortus* RB51 омог О-полисахарид хамгийн бага хэмжээгээр агуулах ба вакцинжуулсан амьтны ийлдсэнд РБУ, ХХУ аль алинаар илрэхгүй. Үүнээс гадна, RB51 омог О-полисахаридад суурилсан одоогийн шинжилгээний аргад мэдрэгдэх хэмжээний эсрэг бие үүсгэдэггүй байна (USDA, 2003). Гэвч бруцелийн гөлгөр болон барзгар аль ч омгийн үндсэн эпители нь нийтлэг байдаг учраас хэрэглэсэн ЕЛИЗА цомог S-липополисахарид эсхүл О-полисахарид агуулснаас үл хамааран бруцелийн хээрийн гөлгөр омгоор үүссэн эсрэг биеийг RB51 омгийн эсрэг биеийн хариу урвалаас ялгах боломж олгодоггүй байна (Gusi нар, 2019). Үхэрт бруцелийн халдварын эсрэг үзүүлэх RB51 омгийн үр нөлөө маргаантай байдаг (Moriyon нар, 2004) бөгөөд хэдийгээр дархлааны хамгаалалтын үргэлжлэх хугацаа тодорхойгүй боловч хоруу чанартай *B. abortus*-аар дунд зэргийн хүчтэй зориудын халдвар хийхэд энэ вакцин хамгаалж байсан мэдээлэл байна. Үхэрт *B. melitensis*-ийн халдварын эсрэг хэрэглэх энэ вакцины үр нөлөө мөн тодорхойгүй байна. Энэ вакцин маш тогтвортой бөгөөд *in vivo* эсхүл *in vitro* орчинд эргэж гөлгөр төлөвт шилжсэн талаар мэдээлэл байхгүй байгаа юм. Хонь, ямааг бруцеллэз өвчнөөс хамгаалахад *B. melitensis* омгийн вакцин ач холбогдолтой болохыг хараат бус, бие даасан олон судалгаагаар баталжээ. Түүний хоруу чанар хээлтэй хонь, ямаагаар зорчуулахад өөрчлөгдөөгүй байна. Гэвч хээлтэй эм хонь, ямаанд Rev.1 вакцин тарихад хээл хаях, мөн түүнчлэн сүүгээр омог ялгарч болохгүй. Хээлтэй амьтанд вакциныг багасгасан тунгаар эсхүл бүр бага 10^6 тунгаар арьсан дор тарих эсхүл нүдэнд дусаах, аль ч замаар олгоход вакцинаар өдөөгдөн хээл хаях нь тохиолдох ба вакцины омог хээл хаяулдаг, сүүгээр ялгардаг нь батлагджээ (Blasco, 1997).

1.2.2. Үйлдвэрлэх арга

1.2.2.1 Арга зүй

ББНУ, ХХУ-ын эсрэгтөрөгчид зориулан дээр (Б.2.2 хэсэг) тодорхойлсон эх омгийн бэлдцэд тулгуурлан бруцеллезын амьд вакциныг үйлдвэрлэнэ.

S19 омгийн вакцин үйлдвэрлэхдээ эсийг pH 6.3 ± 0.2 бүхий ФБУ-д цуглуулаад хурилдуурдаж тунаах эсхүл натрийн карбоксиметил целлюоз нэмж эцсийн төвшрүүлгийг 1.5 г/литр болгохоос бусад арга ажиллагааг дээр тодорхойлсны дагуу хийнэ. Ферментерийн ажлын нэг мөчлөгийн дараа хурааж авсан эс эсхүл нэг ижил эх эсээс ижил хугацаанд тарилт хийсэн эс бүхий Ру колбын өсгөврийн багцаас авч нийлүүлсэн эсийг нэг хураалт гэж үзнэ. Вакцины тухайн багцад орох хэд хэдэн хураалтыг нийлүүлээд жижиглэнгээр савлах вакцинд ашиглах нийлүүлсэн вакцины бөөний савлагааг бүрдүүлнэ. Нийлүүлэхийн өмнө, дан хураалт тус бүрийн цэвэршилт, эсийн төвшрүүлэг, омгийн гөлгөр байдал, ялгагдах шинж чанарыг шалгана. Үүнтэй адил шалгалтыг жижиглэнгээр савлахад бэлэн болсон эцсийн нийлүүлсэн бөөний вакцинд хийх ба энэ доторх амьд бичил биетний тоо $8 - 24 \times 10^9$ КҮН/мл хооронд байна. Шингэн хэлбэрт оруулах вакцинд ФБУ нэмэх эсхүл хөлдөөн хатаасан вакцинд зориулсан тогтворжуулагч нэмэх замаар төвшрүүлгийг тохируулна. Хэрэв тогтворжуулагч ашиглаж байгаа бол хөлдөөн хатаах явцад амьдрах чадвар алдагддагийг анхаарч тогтворжуулагчийг 50%-иас үл хэтрүүлнэ. Эцсийн хуурай бүтээгдэхүүнийг хатаалтын явцад 35°C -аас илүү температурт байлгаж болохгүй ба үлдэгдэл чийгийн агууламж 1–2% байна. Хатаалт дуусангуут агуулагдахууныг вакуумын эсхүл хуурай азоттой нөхцөлд савлаад $5^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$ -д хадгална.

B. abortus RB51 вакцин үйлдвэрлэх арга ажиллагаа S19 омгийн вакцинд хэрэглэдэг аргатай бараг ижилхэн болно.

B. melitensis Rev.1 омгийн вакцин үйлдвэрлэхдээ дээр тодорхойлсон эсрэгтөрөгч үйлдвэрлэх аргаас эсийг хөлдөөн хатаалтын тогтворжуулагчид цуглуулж аваад хурилдуулдаж тунаахаас бусдаар ижил байна. Ферментерийн ажлын нэг мөчлөгийн дараа хурааж авсан эс эсхүл Ру колбын өсгөврийн багцаас авч нийлүүлсэн эсэд ижил эх эсийн бэлдцээс ижил хугацаанд тарилт хийсэн бол нэг хураалт болно. Вакцины тухайн багцад орох хэд хэдэн хураалтыг нийлүүлээд жижиглэнгээр савлах вакцинд ашиглах нийлүүлсэн вакцины савлагааг бүрдүүлнэ. Нийлүүлэхийн өмнө, дан хураалт тус бүрийн цэвэршилт, эсийн төвшрүүлэг, омгийн шилжилтийн төлөв, ялгагдах шинж чанарыг шалгана. Вакцины тун бүрд шаардагдах тооны амьд бичил биетэн агуулагдаж байхад хүрэлцэх хэмжээгээр сүүлийн нийлүүлсэн савлагаатай вакцинд тогтворжуулагч нэмэх замаар түүний эзлэхүүнийг тохируулна. Сүүлийн савлагаатай вакцины эсийн төвшрүүлгийг тохируулсны дараа омгийн ялгагдах онцлог, омгийн гөлгөр байдал болон бохирдуулагч бичил биетэн байхгүйг шалгана (доорхыг үзэх).

1.2.2.2 Найрлагад орох хольцод тавих шаардлага

Омгийг тохирох тэжээлт орчинд өсгөвөрлөнө.

Вакцин үйлдвэрлэх *Brucella abortus* S19, *B. melitensis*, Rev.1 омгийг ийлдэс эсхүл амьтны гаралтай бусад бүтээгдэхүүн агуулаагүй тэжээлт орчинд *B. abortus* S99 эсхүл S1119-3 омогт тохирох дээр тодорхойлсон нөхцөлийг баримтлан өсгөвөрлөнө. Фенолын давсны уусмалыг хөлдөөн хатаалтын тогтворжуулагчаар сольж болно.

Brucella abortus RB51 омогт өсгөвөрлөлтийн ижил арга хэрэглэнэ.

Ийлдэс 5%-иар эсхүл хөрөнгийн эсийн ханд 0.1%-иар нэмсэн ийлдэс декстрозой агар, триптикез шар буурцгийн агар нь Rev.1 омгийг үржүүлэхэд тохиромжтой хатуу тэжээлт орчинд тооцогдоно (Alton нар, 1988). Гэвч төмстэй агарт Rev.1 омог сайн ургахгүй, ихэвчлэн 3-5 хонож байж ургаж эхэлнэ.

Бүх вакцинд бичил биетнийг үхүүлэлгүй $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ -д хадгалж байгаад дор тодорхойлсон аргаар чанарын хяналтын шинжилгээ хийнэ.

Хөлдөөн хатаасан вакциныг бэлтгэхдээ 2.5% казеиний задардас, жишээ нь триптон (Oxoid), 5% сахароз, 1% натрийн глутамат агуулсан тогтворжуулагчийг цэвэршүүлсэн усанд уусгаад шүүх аргаар ариутган ашиглахыг зөвлөдөг.

B. abortus S19 омог эсхүл RB51 болон *B. melitensis* Rev.1 омгийн амьд вакцинд бичил биетний эсрэг хадгалааслагч хэрэглэж болохгүй.

1.2.2.3 Явцын хяналт

B. abortus S19, RB51 болон *B. melitensis* Rev.1 вакцины цэвэршилт, ялгагдах шинж чанар, шаардлагатай бол гөлгөр эсхүл барзгар байдлыг эхний дан хураалтын явцад шалгана. Нийлүүлсэн хураалт дахь эсийн төвшрүүлгийг бас шалгана. Энэ шалгалтыг шинжлэгдэхүүний тунгалагшлаар шалгах ба эцсийн савлагааны цувралд амьд эсийн тоог гаргана. Ялгагдах онцлогийг *Brucella*-A, R, M аль ч эсрэгтөрөгчийн эсрэг ийлдэстэй наалдуулах урвалд оруулж шалгана.

Сүүлчийн саван дахь амьд эсийн тоо нь зөвлөсөн тунгийнхаас доогуур байх ёсгүй (дээрхийг үз).

Эх эсийн бэлдцэд S19 болон Rev.1 эсийн 99%-иас доошгүй, эцсийн цувралд эсийн 95%-иас доошгүй нь гөлгөр төлөвт, харин RB51 эс 100% барзгар төлөвт байх ёстой. Үүнээс гадна RB51-ийн бүх колонийг О-полисахарид эсрэгтөрөгчид өвөрмөц ижил гарлын эсрэг бие ашиглан дот-блот аргаар шинжлэхэд сөрөг байх ёстой.

S19 болон Rev.1 вакцины тухайд эх омгийг төлөөлөх бэлдцэд дархлаа төрүүлэх болон үлдэц хоруу чанарыг (50% орогнох хугацаа эсхүл 50% сэргэх хугацаа) хулганад загварчлах аргаар тодорхойлно. Эх омгийн төлөөлсөн бэлдцэд хийсэн эдгээр шалгалт сайн үр дүн үзүүлсэн бол нэг ижил эх омог ашиглан нэг ижил үйл ажиллагаагаар үйлдвэрлэсэн бусад эх омгийн бэлдэц болон вакцины цувралд энэ шалгалтыг давтан хийхгүй.

1.2.2.4 Эцсийн бүтээгдэхүүний цувралын шалгалт

Хөлдөөн хатаасан вакциныг уусган сэргээж (ижил шингэлэгч) вакцинжуулалтад хэрэглэх хэлбэрт оруулсны дараа хяналтын шалгалт хийнэ.

1.2.2.4.1 Цэвэршүүлэлт

Биологийн материал цэвэр, бохирдолгүй болохыг шалгах хэсгийг 1.1.9 дүгээр бүлэгт оруулав.

1.2.2.4.2 Ялгагдах шинж чанар

В.1.2.1.2.3 Идэвх хэсгийг үз

1.2.2.4.3 Аюулгүй чанар

В.1.2.1.2.2 Аюулгүй чанар хэсгийг үз.

1.2.2.4.4 Цувралын идэвх

i) Идэвх

S19 болон Rev.1 омгийн вакцины хувьд хөлдөөн хатаасан эцсийн бүтээгдэхүүнд идэвхийг тодорхойлж болно. Тодорхойлох арга ажиллагааг дээр тодорхойлов (мөн эсэхийг таних, гөлгөр байдал, үлдэц хоруу чанар, дархлаа төрүүлэх чанарыг шалгах B.1.2.1.2.3 хэсгийг үз). Хэрэв шалгах вакциныг төлөөлөх багцын цувралын үлдэц хоруу чанар, дархлаа төрүүлэх чанарын шалгалт сайн үр дүн үзүүлсэн бол нэг ижил эх омог ашиглан нэг ижил үйл ажиллагаагаар үйлдвэрлэсэн бусад эх омгийн бэлдэц эсхүл вакцины цувралд энэ шалгалтыг давтан хийхгүй.

ii) Амьд бактери тоолох

Вакцины багцад амьд бичил биетний тоог шалгана. S19, Rev.1, RB51 омгийн вакцинд нэг ижил арга ажиллагаа хэрэглэнэ. Триптоз, ийлдэс декстроз эсхүл бусад тохирох агар цутгасан таваас доошгүй аяга бүрд тохирох шингэлэлт бүхий 0.1 мл вакциныг ариун шилэн, утсан эсхүл хуванцар тараагчаар тарааж тарилт хийнэ. КҮН тоог вакцины эзлэхүүн тутамд гаргана.

Тохиромжтой КҮН тоо:

S19:

a) $0.5-1 \times 10^{11}$ КҮН (стандарт тун, арьсан дор тарих);

b) $0.5-5 \times 10^9$ КҮН (багасгасан тун, арьсан дор тарих);

c) 5×10^9 КҮН (багасгасан тун, нүдэнд дусаах).

Rev.1:

a) $0.5-2 \times 10^9$ КҮН (стандарт тун, арьсан дор тарих эсхүл нүдэнд дусаах).

RB51:

a) $1-3.4 \times 10^{10}$ КҮН (стандарт тун, арьсан дор тарих).

1.2.3. Зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага

1.2.3.1 Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаа

Вакциныг албан ёсоор бүртгүүлэхийн тулд вакцин үйлдвэрлэлийн болон чанарын хяналтын шалгалтад (дээр дурдсан) хамаарах бүх дэлгэрэнгүй баримт бичгийг эрх бүхий холбогдох байгууллагад хүргүүлнэ. Энэ нь үйлдвэрлэлийн ердийн цуврал вакцины эзлэхүүний 1/3-аас доошгүй хэмжээгээр гурав дараалан үйлдвэрлэсэн вакцины цувралын мэдээлэл байна.

1.2.3.2 Аюулгүй чанарын шаардлага

1.2.3.2.1 Вакцин хэрэглэх, үл хэрэглэх амьтанд аюулгүй байх чанар

Янз бүрийн амьтанд бруцелийн вакцины үзүүлж болзошгүй гаж нөлөөг B.1.1. *Удиртгал* хэсгээс үзнэ үү.

1.2.3.2.2 Эргэж хоруу чанартай болох

Шаардлага хангасан эх үүсвэрээс авсан эх омгийн нөөцөөс бэлтгэсэн *Brucella abortus* S19, *B. melitensis* Rev.1 вакцин үйлдвэрлэлийн явцын болон цувралын хяналтын дээр дурдсан шаардлагыг бүрэн хангасан нөхцөлд эргэж хоруу чанартай болох хандлагагүйгээр шинж чанараа тогтвортой хадгална.

Brucella abortus RB51 омог *in vitro* болон *in vivo* нөхцөлд олон удаа зорчуулахад хоруу чанартай гөлгөр бичил биетэнд хувирах хандлага гараагүй. Энэ нь энэ омогт илрүүлсэн төрөлх шинж чанар, мутаци болсон хэсэгтэй холбоотой бололтой. *Brucella abortus* RB51 омог нь бусад үл мэдэгдэх мутацийн дотроос IS711 хэсэг нь тасарсан *wboA* (гликозил-трансферазаг кодлогч ген гэж таамагладаг) агуулдгаас цитоплазмын М төстэй О-полисахаридийг бага хуримтлуулдаг байна.

1.2.3.2.3 Сэрэмжлүүлэг

Brucella abortus S19, RB51 *B. melitensis* Rev.1 нь хэдийгээр сулруулсан омог ч хүнд өвчин үүсгэх боломжтой хэвээр байдаг. Ийм учраас биоаюулаас хамгаалах шаардлага хангасан нөхцөлд эсийн өсгөвөр, цийдмэгтэй харьцаж ажиллана (бүлэг 1.1.4 үз). Вакциныг уусган сэргээх, улмаар ийм вакцинтай харьцахдаа өөрийгөө санамсаргүй тарих, нүд, арьсаа бохирдуулахаас сэргийлэн болгоомжтой ажиллана. Вакцины үлдэгдэл, тарих хэрэгслийг зөвлөсөн төвшрүүлэг бүхий тохирох халдваргүйжүүлэгчээр (найрлагад нь фенол, иодофор, альдгид орсон) бохирдолгүй болгоно. Тохиолдлоор вакцины нөлөөлөлд өртсөн бол

эмнэлгийн тусламж авна. S19, RB51, Rev.1 омгоор хүнд үүссэн халдварыг антибиотикоор эмчлэхэд гарах үр нөлөө бүрэн тогтоогдоогүй хэвээр байна. Гэвч бруцелийн хээрийн бусад омогтой харьцуулахад S19 омог антибиотикт төдийлөн тэсвэртэй биш, харин Rev.1 омог стрептомицинд, RB51 омог рифампицинд тус тус тэсвэртэй болохыг цохон тэмдэглэж байна.

Вакцин нь түүнийг малд олгох хүмүүст эмгэг үүсгэх нөлөөтэй гэж үздэг учраас вакцин хэрэглэгчийг аливаа аюулаас сэрэмжлүүлэх үүднээс үйлдвэрлэгч бүтээгдэхүүний шошго/зааварт хэрэв өөрийгөө тарих эсхүл вакцины нөлөөнд өртөх (тэр дундаа мананцраар амьсгалах) тохиолдолд эмнэлгийн тусламж авах шаардлагатай талаар зохих ёсны анхааруулга өгнө.

1.2.3.3 Үр нөлөөний шаардлага

Бүтээгдэхүүний дархлаа төрүүлэх чанарыг түүний сүүлийн цувралд шалгаж болох ба хэрэв эх омгийн бэлдэц эсхүл шалгах вакцины цувралыг төлөөлүүлсэн вакцины аюулгүй чанар, үр нөлөөний шалгалт сайн үр дүн үзүүлсэн бол нэг ижил эх омог ашиглан нэг ижил үйл ажиллагаагаар үйлдвэрлэсэн бусад вакцины цувралд энэ шалгалтыг давтан хийхгүй.

1.2.3.4 Дархлаа үргэлжлэх хугацаа

Тугалыг S19 омгийн вакцины бүтэн тунгаар вакцинжуулахад удаан үргэлжлэх дархлаа тогтдог гэж үздэг учраас нэмэлт тун хэрэглэхийг зөвлөдөггүй. Гэвч энэ талаар нотолгоо хомс учраас өвчний эндемик гаралттай нутагт 6-12 сарын настайд нь давтан тарихыг зөвлөж болно.

RB51 омгийн вакцины үхэрт үүсгэх дархлааны үргэлжлэх хугацааг хэрэглэсэн тун, вакцин тарих үеийн настай холбон тогтоосон мэдээлэл байхгүй. Өвчин эндемик гаралттай нутагт тугалыг 6-12 сарын настайд нь давтан тарьж дархлааг сэргээхийг зөвлөдөг.

Хонь, ямаанд Rev.1 вакциныг стандарт тунгаар арьсан дор эсхүл нүдэнд дусааж тарихад хүчтэй, тогтвортой үргэлжлэх дархлаа тогтдог нь батлагджээ. Гэвч тогтсон дархлаа аажмаар буурдаг нь үйлдвэрлэл дээр нотлогдсоор байгаа учраас өвчний эндемик гаралттай нутагт 6-12 сарын настайд нь давтан тарихыг зөвлөж болно.

1.2.3.5 Тогтвортой чанар

Шаардлага хангасан эх үүсвэрээс авсан эх омгийн нөөцөөс бэлтгэсэн *Brucella abortus* S19, *B. melitensis* Rev.1 вакцин үйлдвэрлэлийн явцын болон цувралын хяналтын дээр дурдсан шаардлагыг бүрэн хангасан нөхцөлд шинж чанараа тогтвортой хадгалах ба эргэж хоруу чанартай болох хандлага гарахгүй. Хөлдөөн хатаасан вакцин дахь амьд эсийн тоо аажмаар буурах боловч дархлаа төрүүлэх идэвх нь вакцины хүчинтэй байх зөвлөсөн хугацааны дотор хэвээр байна. Ийм байдал бий болгохын тулд хөлдөөн хатаалтын дараах амьд эсийн тоог түүний наад захын шаардагдах тооноос нэлээд дээгүүр байхаар тохируулна. Вакциныг түгээх явцад хүйтэн хэлхээний нөхцөл бүрдүүлснээр вакцин дахь бичил биетний амьдрах чадварыг хадгална.

In vitro болон *in vivo* нөхцөлд олон удаа зорчуулахад *Brucella abortus* RB51 омогт хоруу чанартай гөлгөр бичил биетэн болж хувирах хандлага гараагүй. Энэ нь энэ омгийн төрөлх шинж чанар, түүнд илэрсэн мутацид орсон хэсэгтэй холбоотой байх магадлалтай. *Brucella abortus* RB51 омог нь бусад үл мэдэгдэх мутацийн дотроос IS711 хэсэг нь тасарсан *wboA* (гликозил-трансферазаг кодлогч ген гэж таамагладаг) агуулдагас цитоплазмын М төстэй О-полисахаридийг бага хуримтлуулдаг байна.

2. Оношилгооны биологийн бэлдмэл: Бруцелин

2.1. Удиртгал

Бруцелин-INRA (INRA-Агрономын судалгааны үндэсний хүрээлэн) нь *B. melitensis* B115 барзгар омгийн липополисахаридгүй ханд бөгөөд энэ бэлдмэлээр нэг удаа халдвар хийхэд ББЭУ, ХХУ, ЕЛИЗА-д мэдрэгдэх хэмжээний эсрэг бие үүстэл өдөөхгүй. Гэвч энэхүү барзгар бруцел нь цитозолын хандад О-полисахаридийн олон сахар агуулах тул бруцелинээр давтан халдвар хийхэд оношилгооны бусад аргад нөлөөлөх хэмжээний эсрэг бие үүсгэнэ. Энэ шалтгааны улмаас перосаминий нийлэгжихэд онцгой шаардлагатай барзгар *B. abortus*-ын генийн гажигтай мутантаас цитозолын уургийн хандлан бэлтгэсэн ба үүнтэй холбоотойгоор хонинд О-полисахаридын эсрэг биеийн хариу урвал өдөөх боломжгүй байна.

2.2. Үйлдвэрлэлийн тойм, шаардлага

2.2.1. Эх омгийн шинж чанар

2.2.1.1 Эх омгийн биологийн шинж чанар, чанарын шалгуур

Бруцелин-INRA-ийг эсрэгтөрөгч, вакцинд хэрэглэдгийн адилаар эх омгийн багц бэлдцийн системд тулгуурлан үйлдвэрлэнэ. Бруцелин үйлдвэрлэх⁵ жинхэнэ *B. melitensis* B115 эх омгийг цаашдын эх омгийн багц бэлдэц үйлдвэрлэхийн тулд үржүүлээд хөлдөөн хатаах эсхүл шингэн азотын температурт хөлдөөх аргаар хадгалааслана. Энэ нь *B. melitensis* барзгар омгийн цэвэр өсгөврийн шинж чанарыг хангах ба бруцелийн гөлгөр липополисахаридийг үүсгэхгүй. Эх омгийн бэлдцээр гөлгөр болон барзгар бруцелийн омгийн эсрэг ийлдэстэй урвалд орох уургийн эсрэгтөрөгчийн хангалттай хэмжээний холимог үйлдвэрлэнэ.

2.2.1.2 Чанарын шалгуур

Brucella melitensis B115 эх омгийн цэвэршилтийг шалгана.

Биологийн материал цэвэр, бохирдолгүй болохыг тогтоох шалгалтыг 1.1.9 дүгээр бүлгээс үзнэ үү.

2.2.1.3 *In-vivo* оношилгооны урвалж болгон баталгаажуулах

Франц улсад явуулсан лабораторийн болон үйлдвэрлэлийн судалгаагаар Бруцелин-INRA-нь аюулгүй, хоргүй, өвөрмөц үйлчлэлтэй нь батлагджээ. Бэлдмэл ихэвчлэн бага молекул жинтэй уураг 50-70%-ийг, нүүрс ус 15-30%-ийг агуулна. Бэлдмэл S-липополисахарид эсрэгтөрөгч агуулахгүй, мэдрэгжүүлээгүй амьтанд үрэвслийн хариу урвал өдөөхгүй, өөрөө үл мэдрэгжүүлэгч бодис юм. Нэг удаагийн тарилтаар бруцеллэз өвчинд зориулсан ийлдэс судлалын стандарт аргаар илрэх хэмжээний эсрэг бие үүсгэхгүй.

B. melitensis-ээр халдварласан бог малын 90 гаруй хувьд Бруцелин-INRA-д удаан явцтай хэт мэдрэгжилт өвчний тодорхой шатад үүсгэнэ. Бэлдмэлийг бодгаль амьтны өвчний оношилгоонд хэрэглэхийг зөвлөдөггүй ба сүргийн түвшний илрүүлэх шинжилгээнд ашиглахад ач холбогдол өгнө. Бог малд арьсан дотор 100 мкг тарихад мэдрэгжүүлсэн амьтанд 48-70 цагийн дараа хэсэг газар удаан үргэлжлэх хэт мэдрэгжилтийн урвал үүснэ. Вакцинжуулсан болон халдвар авсан амьтан эерэг урвал өгч болно (Pouillot нар, 1997).

2.2.2. Үйлдвэрлэх арга (Альтон нар, 1988)

2.2.2.1 Үйлдвэрлэлийн явц ба найрлагад тавих шаардлага

Бруцелинийг *B. melitensis* strain B115 омог ашиглан Альтон нарын аргаар 1988 үйлдвэрлэнэ.

2.2.2.2 Үйлдвэрлэлийн явцын хяналт

Ацетоноор хандалсны дараа бруцелиний боловсруулаагүй хандны ариун чанарыг шалгаж бруцелийн эс бүрэн үхсэнийг тогтоох ба үйлдвэрлэлийн сүүлийн шатад болзошгүй бохирдлыг дахин шалгана. Түүний pH, уургийн төвшрүүлгийг тодорхойлох ба вакцин үйлдвэрлэх эцсийн саванд хийхээс өмнө нийлүүлж бэлтгэсэн материалд хяналтын шинжилгээ (доорх В.2.2.2.3 хэсэгт тодорхойлсны дагуу) хийнэ.

2.2.2.3 Эцсийн бүтээгдэхүүний цувралын шалгалт

i) Ариун чанар

Бруцелин бэлдмэлийн ариун чанарыг 1.1.9 дүгээр бүлэгт заасны дагуу шалгана

ii) Аюулгүй чанар

Бруцелиний бэлдмэлд хэвийн бус хорон чанар байгаа эсэхийг шалгана. Өмнө нь бруцеллэзын бичил биетний эсхүл тэдгээрийн эсрэгтөрөгчийн нөлөөнд өртөөгүй хэвийн хос усан гахайн хэвлийн хөндийд 20 үхрийн тун бэлдмэл (2 мл) тарина. Шалгах бруцелинээс 0.5 мл-ийг (2000 нэгж/мл) хэвийн таван хулганын арьсан дор тарина. Амьтныг 7 хоног ажиглахад тарилтын эсрэг хэсэг газрын болон тогтолцооны урвал илрэхгүй байх ёстой.

Өмнө нь бруцеллэзын бичил биетний эсхүл тэдгээрийн эсрэгтөрөгчийн нөлөөнд өртөөгүй хэвийн цагаан зүстэй гурван усан гахайн хэвлийн тууш булчингийн арьсны үсийг

урьдчилан хусаж халдваргүйжүүлээд тэр хэсгийн арьсан дотор шалгах бүтээгдэхүүнээс 0.1 мл тарьж арьс үхжүүлэх нөлөөг шалгана. Арьсанд ямар нэг урвал илрэхгүй байх ёстой.

Цагаан үстэй, хэвийн гурван усан гахайн арьсан дотор шалгах бэлдмэлийг 1/10 шингэлээд 0.1 мл-ээр 5 хоног тутамд 3 удаа тарьж харшлын болон ийлдсийн мэдрэгжилт байхгүй болохыг тогтооно. 15 хоногийн дараа ийм тарилтыг туршилтын гурван усан гахайд дөрөв дэх удаагаа, мөн тэдэнтэй ижил жинтэй, өмнө нь тарилга хийгээгүй хяналтын гурван усан гахайд хийнэ. Сүүлийн тарилтаас хойш 24 цагийн дараа сорьц авч бруцеллёз өвчний стандарт шинжилгээ (РБУ, ХХУ) хийхэд амьтны ийлдэс эерэгжээгүй, удаан үргэлжлэх хэт мэдрэгжилтийн урвал илрэхгүй байх ёстой.

iii) Цувралын идэвх

Фреиндийн хүчлүүртэй лавлагааны бруцелинийг туршилтаас 1-6 сарын өмнө арьсан дор 0.5 мл-ээр тарьж (хэрэв ижил түвшний мэдрэгжилт үүсгэх бол жишээ нь Rev.1 зэрэг бруцелийн амьд омог ашиглаж болно) мэдрэгжүүлсэн усан гахайн арьсанд ахиулах тунгаар тарьж бруцелиний идэвхийг тодорхойлно. 24 дэх цаг дээр улайлтыг үнэлж хэмжих ба титрийг лавлагааны бруцелинийхтэй харьцуулж тооцоолно. Энэ аргыг зөвхөн мэдрэгжүүлэгч харшил үүсгэгчид хэрэглэсэнтэй адил аргаар үйлдвэрлэсэн бруцелиний бэлдмэлийг харьцуулахад хэрэглэнэ. Харшил үүсгэгчийн багцыг эхлэн стандартчилах, хивэгч малыг мэдрэгжүүлэх, титр тогтоох аргыг боловсруулсан байна (Alton нар, 1988).

2.2.3. Зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага

2.2.3.1 Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаа

Бруцелинийг албан ёсоор бүртгүүлэхийн тулд бүтээгдэхүүн үйлдвэрлэлийн болон чанарын хяналтын шалгалтад (дээр үзүүлэв) хамаарах бүх дэлгэрэнгүй баримтыг эрх бүхий холбогдох байгууллагад хүргүүлнэ. Энэ нь үйлдвэрлэлийн ердийн цувралын эзлэхүүний 1/3 аас доошгүй хэмжээгээр гурав дараалан үйлдвэрлэсэн бүтээгдэхүүний цувралын мэдээлэл байна.

2.2.3.2 Аюулгүй чанарын шаардлага

- i) Бүтээгдэхүүн хэрэглэх, үл хэрэглэх амьтанд аюулгүй байх чанар
Амьтанд бруцелиний гаж нөлөө бүртгэгдсэн тохиолдол байхгүй.
- ii) Эргэж хоруу чанартай болох
Хамаарахгүй.
- iii) Сэрэмжлүүлэг

Бруцелин нь хоргүй бодис. Гэсэн ч мэдрэгжсэн хувь хүн түүний нөлөөнд санамсаргүйгээр өртвөл илт хүчтэй урвал өгч болзошгүй. Бруцелинээр өөрийгөө санамсаргүй тарих эсхүл түүнд салст бүрхэвчээ хүргэхээс болгоомжилно. Хэрэглэсэн бэлдмэлийн сав, тарилгын хэрэгслийг болгоомжтойгоор бохирдолгүй болгох эсхүл нэг удаа хэрэглэх тохирсон саванд хийн шатааж устгана.

Бруцелийг үйлдвэрлэл дээр хэрэглэх хүмүүст аюулгүй гэдгийг тогтоож баталгаажуулсан байх ёстой. Бүтээгдэхүүн хэрэглэгчийг аливаа аюулаас сэрэмжлүүлэх үүднээс үйлдвэрлэгч бүтээгдэхүүний шошго/зааварт хэрэв тухайн бүтээгдэхүүнээр өөрийгөө тарих эсхүл түүнийг салст бүрхэвчдээ хүргэх тохиолдолд эмнэлгийн тусламж авах шаардлагатай талаар зохих анхааруулга өгнө.

2.2.3.3 Үр нөлөөний шаардлага

Эцсийн бүтээгдэхүүний идэвхийг тогтоож өгнө. Энэ арга ажиллагааг дээр тодорхойлов.

2.2.3.4 Мэдрэг байдал үргэлжлэх хугацаа

Мэдрэг байдал үргэлжлэх хугацаа тодорхойгүй. Бруцелиний улмаас амьтан бүрд үүсэх хэт мэдрэг байдал ихээхэн ялгаатай. Халдвар аваад удаагүй эсхүл халдвар даамжирсан амьтанд бруцелинийг арьсан дотор тарихад хэт мэдрэгжилт үүсэхгүй.

2.2.3.5 Тогтвортой чанар

Хөлдөөн хатаасан бэлдмэл идэвхээ хэдэн жил бүрэн хадгална. Худалдаанд гарсан шингэн бэлдмэл зөвлөсөн хүчинтэй хугацааны дотор идэвхээ хадгална.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

- ALTON G.G., JONES L.M., ANGUS R.D. & VERGER J.M. (1988). Techniques for the Brucellosis Laboratory. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, France.
- ANGUS R.D. & BARTON C.E. (1984). The production and evaluation of a buffered plate antigen for use in a presumptive test for brucellosis. *Dev. Biol. Stand.*, **56**, 349–356.
- ASHFORD D.A., DI PIETRA J., LINGAPPA J., WOODS C., NOLL H., NEVILLE B., WEYANT R., BRAGG S.L., SPIEGEL R.A., TAPPERRO J. & PERKINS B.A. (2004). Adverse events in humans associated with accidental exposure to the livestock brucellosis vaccine RB51. *Vaccine*, **22**, 3435–3439.
- BLASCO J.M. (1997). A review on the use of *B. melitensis* Rev 1 vaccine in adult sheep and goats. *Prev. Vet. Med.*, **31**, 275–283.
- BLASCO J.M., GARIN-BASTUJI B., MARÍN C.M., GERBIER G., FANLO J., JIMÉNEZ DE BAGÜES M.P. & CAU C. (1994a). Efficacy of different rose bengal and complement fixation antigens for the diagnosis of *Brucella melitensis* infection in sheep and goats. *Vet. Rec.*, **134**, 415–420.
- BLASCO J.M., MARÍN C., JIMÉNEZ DE BAGÜES M.P. & BARBERÁN M. (1993). Efficacy of *Brucella suis* strain 2 vaccine against *Brucella ovis* in rams. *Vaccine*, **11**, 1291–1294. doi: 10.1016/0264-410x(93)90097-h. PMID: 8296481
- BLASCO J.M., MARÍN C.M., JIMÉNEZ DE BAGÜES M.P., BARBERÁN M., HERNANDEZ A., MOLINA L., VELASCO J., DIAZ R. & MORIYÓN I. (1994b). Evaluation of allergic and serological tests for diagnosing *Brucella melitensis* infection of sheep. *J. Clin. Microbiol.*, **32**, 1835–1840.
- BRICKER B.J. (2002). PCR as a diagnostic tool for brucellosis. *Vet. Microbiol.*, **90**, 435–446.
- BRICKER B.J. & HALLING S.M. (1994). Differentiation of *Brucella abortus* 5x.1, 2, and 4, *Brucella melitensis*, *Brucella ovis*, and *Brucella suis* 6x.1 by PCR. *J. Clin. Microbiol.*, **32**, 2660–2666.
- DE MASSIS F., ATZENI M., CALISTRI P., DI GIANNATALE E., FERRI N., MARCHI E., MARTUCCIello A. & TITTARELLI M. (2015). A diagnostic protocol to identify water buffalo (*Bubalus bubalis*) vaccinated with *Brucella abortus* strain RB51 vaccine. *Vet. Ital.*, **51**, 99–105. doi:10.12834/VetIt.472.2296.3
- DE MASSIS F., GIOVANNINI A., DI EMIDIO B., RONCHI G.F., TITTARELLI M., DI VENTURA M., NANNINI D. & CAPORALE V. (2005). Use of the complement fixation and brucellin skin tests to identify cattle vaccinated with *Brucella abortus* strain RB51. *Vet. Ital.*, **41**, 291–299.
- 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.
- DIESTE-PÉREZ L., BLASCO J.M., DE MIGUEL M.J., MARÍN C.M., BARBERÁN M., CONDE-ÁLVAREZ R., MORIYÓN I., MUÑOZ P.M. (2014). Performance of skin tests with allergens from *B. melitensis* B115 and rough *B. abortus* mutants for diagnosing swine brucellosis. *Vet. Microbiol.*, **168**, 161–168.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). (2006). Opinion of the Scientific Panel on Animal Health and Welfare (AHAW) on a request from the Commission concerning Brucellosis Diagnostic Methods for Bovines, Sheep, and Goats. *EFSA J.*, **432**, 1–44. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2007.432>.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AGENCY (EFSA) (2009). Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare (AHAW) on a request from the Commission on porcine brucellosis (*Brucella suis*). *EFSA J.*, **1144**, 1–112.
- EUROPEAN UNION (2008). Commission Decision of 10 December 2008 amending Annex C to Council Directive 64/432/EEC and Decision 2004/226/EC as regards diagnostic tests for bovine brucellosis (notified under document number C[2008]7642) (Text with EEA relevance) (2008/984/EC). *Official Journal of the European Union*, L 352/38–45.
- FOSTER G., OSTERMAN B.S., GODFROID J., JACQUES I. & CLOECKAERT A. (2007). *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **57**, 2688–2693.
- GREINER M., VERLOO D. & DE MASSIS F. (2009). Meta-analytical equivalence studies on diagnostic tests for bovine brucellosis allowing assessment of a test against a group of comparative tests. *Prev. Vet. Med.*, **92**, 373–381.
- GRILLO M.J., BOSSERAY N. & BLASCO J.M. (2000). *In vitro* markers and biological activity in mice of seed lot strains and commercial *Brucella melitensis* Rev.1 and *Brucella abortus* B19 vaccines. *Biologicals*, **28**, 119–127.
- GUSI A.M., BERTUW J., JESÚS DE MIGUEL M., DIESTE-PÉREZ L., SMITS H.L., OCHOLI R.A., BLASCO J.M., MORIYÓN I. & MUÑOZ P.M. (2019). Comparative performance of lateral flow immunochromatography, iELISA and Rose Bengal tests for the diagnosis of cattle, sheep, goat and swine brucellosis. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, **13**, e0007509.
- HER M., CHO D.H., KANG S.I., CHO Y.S., HWANG I.Y., BAE Y.C., YOON H., HEO Y.R., JUNG S.C. & YOO H. (2010). The development of a selective medium for the *Brucella abortus* strains and its comparison with the currently recommended and used medium *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **67**, 15–21.
- INTERNATIONAL AIR TRANSPORT ASSOCIATION (IATA) (2021). Dangerous Goods Regulations Manual <https://www.iata.org/en/publications/dgr/>

JIMENEZ DE BAGÜES M.P., MARÍN C. & BLASCO J.M. (1991). Effect of antibiotic therapy and strain 19 vaccination on the spread of *Brucella melitensis* within an infected dairy herd. *Prev. Vet. Med.*, 11, 17–24.

JOINT FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO)/WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) EXPERT COMMITTEE ON BRUCELLOSIS (1986). Technical Report Series 740, Sixth Report. WHO, Geneva, Switzerland.

JONES L.M., BERMAN D.T., MORENO E., DEYOE B.L., GILSDORF M.J., HUBER J.D. & NICOLETTI P.L. (1980). Evaluation of a radial immunodiffusion test with polysaccharide B antigen for diagnosis of bovine brucellosis. *J. Clin. Microbiol.*, 12, 753–760.

KANG S.I., HER M., KIM J.W., KIM J.Y., KO K.Y., HA Y.M. & JUNG S.C. (2011). Advanced multiplex PCR assay for differentiation of *Brucella* species. *Appl. Environ. Microbiol.*, 77, 6726–6728.

KHALAFALLA A.I., RASHID J., KHAN R.A., ALAMIN K.M., BENKHELIL A., DE MASSIS F., CALISTRI P., GIOVANNINI A., KHAN I.A., AL HOSANI M.A. & AL MUHAIRI S.S. (2020). Preliminary Comparative Assessment of Brucellergene Skin Test for Diagnosis of Brucellosis in Dromedary Camels *Camelus dromedarius*. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 20, 412–417.

LE FLECHE P., JACQUES I., GRAYON M., AL DAHOUE S., BOUCHON P., DENOEU D., NÖCKLER K., NEUBAUER H., GUILLOTEAU L.A. & VERGNAUD G. (2006). Evaluation and selection of tandem repeat loci for a *Brucella* MLVA typing assay. *BMC Microbiol.*, 6, 9.

LOPEZ-GONI I., GARCÍA-YOLDI D., MARÍN C.M., DE MIGUEL M.J., BARQUERO-CALVO E., GUZMÁN-VERRI C., ALBERT D. & GARIN-BASTUJI B. (2011). New Bruce-ladder multiplex PCR assay for the biovar typing of *Brucella suis* and the discrimination of *Brucella suis* and *Brucella canis*. *Vet Microbiol.*, 154, 152–155.

MCGIVEN J., TAYLOR A., DUNCOMBE L., SAYERS R., ALBERT D., BANAI M., BLASCO J.M., ELENA S., FRETIN D., GARIN-BASTUJI B., MELZER F., MUÑOZ P.M., NIELSEN K., NICOLA A., SCACCHIA M., TITTARELLI M., TRAVASSOS DIAS I., WALRAVENS K. & STACK J. (2011). The first International Standard anti-*Brucella melitensis* Serum. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 30, 809–

MACMILLAN A.P. & COCKREM D.S. (1985). Reduction of non-specific reactions to the *Brucella abortus* serum agglutination test by the addition of EDTA. *Res. Vet. Sci.*, 38, 288–291.

MORENO E., CLOECKAERT A. & MORIYON I. (2002). *Brucella* evolution and taxonomy. *Vet. Microbiol.*, 90, 209–227.

MORGAN W.J.B., MACKINNON D.J., LAWSON J.R. & CULLEN G.A. (1969). The rose bengal plate agglutination test in the diagnosis of brucellosis. *Vet. Rec.*, 85, 636–641.

MORIYON I., GRILLÓ M.J., MONREAL D., GONZALEZ D., MARÍN C.M., LÓPEZ-GOÑI I., MAINAR-JAIME R.C., MORENO E. & BLASCO J.M. (2004). Rough vaccines in animal brucellosis: structural and genetic basis and present status. *Vet. Res.*, 35, 1–38.

MUNOZ P.M., BLASCO J.M., ENGEL B., DE MIGUEL M.J., MARÍN C.M., DIESTE L., MAINAR-JAIME R.C. (2012). Assessment of performance of selected serological tests for diagnosing brucellosis in pigs. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 146, 150–158.

MUNOZ P.M., MARIN C.M., MONREAL D., GONZALES D., GARIN-BASTUJI B., DIAZ R., MAINAR-JAIME R.C., MORIYON I. & BLASCO J. (2005). Efficacy of several serological tests and antigens for the diagnosis of bovine brucellosis in the presence of false positive serological results due to *Yersinia enterocolitica* O:9. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 12, 141–151.

NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING AND MEDICINE (2020). Revisiting Brucellosis in the Greater Yellowstone Area. Washington, DC: The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/24750>.

NICOLETTI P. (1990). Vaccination against *Brucella*. *Adv. Biotech. Processes*, 13, 147–168.

NICOLETTI P., JONES L.M. & BERMAN D.T. (1978). Comparison of the subcutaneous and conjunctival route of vaccination with *Brucella abortus* strain 19 vaccine in adult cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 173, 1450–1456.

NIELSEN K., GALL D., JOLLEY M., LEISHMAN G., BALSEVICIUS S., SMITH P., NICOLETTI P. & THOMAS F. (1996). A homogenous fluorescence polarisation assay for detection of antibody to *Brucella abortus*. *J. Immunol. Methods*, 195, 161–168.

NIELSEN K., KELLY L., GALL D., NICOLETTI P. & KELLY W. (1995). Improved competitive enzyme immunoassay for the diagnosis of bovine brucellosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 46, 285–291.

OCAMPO-SOSA A.A., AGÜERO-BALBÍN J. & GARCÍA-LOBO J.M. (2005). Development of a new PCR assay to identify *Brucella abortus* biovars 5, 6 and 9 and the new subgroup 3b of biovar 3. *Vet. Microbiol.*, 110, 41–51.

OLSEN S.C., GARIN-BASTUJI B., BLASCO J.M., NICOLA A.M., SAMARTINO L. (2012). Swine Brucellosis. In: Diseases of Swine, Zimmerman J.J., Karriker A.L., Ramirez A., Schwartz K.J. & Stevenson G.W. eds, 10th Edition, John Wiley & Sons, USA, 697–708.

PONSART C., RIOU M., LOCATELLI Y., JACQUES I., FADEAU A., JAY M., SIMON R., PERROT L., FREDDI L., BRETON S., CHAUMEIL T., BLANC B., ORTIZ K., VION C., RIOULT D., QUÉMÉRÉ E., SARRADIN P., CHOLLET J.Y., GARIN-BASTUJI B. & ROSSI S. (2019). *Brucella melitensis* Rev.1 vaccination generates a higher shedding risk of the vaccine strain in Alpine ibex (*Capra ibex*) compared to the domestic goat (*Capra hircus*). *Vet. Res.*, 50, 100.

POUILLOT R., GARIN-BASTUJI B., GERBIER G., COCHE Y., CAU C., DUFOUR B. & MOUTOU F. (1997). The brucellin skin test as a tool to differentiate false positive serological reactions in bovine brucellosis. *Vet. Res.*, 28, 365–374.

POUILLOT R., GRILLÓ M.J., ALABART J.L., GARIN-BASTUJI B. & BLASCO J.M. (2004). Statistical procedures for calculating the residual virulence of *Brucella abortus* strain 19 (S19) and *Brucella melitensis* strain Rev.1 vaccines in mice: theoretical basis and practical applications. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 22, 1051–1063.

- PRAUD A., GIMENEZ O., ZANELLA G., DUFOUR B., POZZI N., ANTRAS V., MEYER L. & GARIN-BASTUJI B. (2012). Estimation of sensitivity and specificity of five serological tests for the diagnosis of porcine brucellosis. *Prev. Vet. Med.*, 104, 94–100.
- SCHOLZ H.C., HUBALEK Z., SEDLACEK I., VERGNAUD G., TOMASO H., AL DAHOUK S., MELZER F., KÄMPFER P., NEUBAUER H., CLOECKAERT A., MAQUART M., ZYGMUNT M.S., WHATMORE A.M., FALSÉN E., BAHN P., GÖLLNER C., PFEFFER M., HUBER B., BUSSE H.J. & NÖCKLER K. (2008). *Brucella microti* sp. nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 58, 375–382.
- SCHOLZ H.C., NÖCKLER K., GÖLLNER C., BAHN P., VERGNAUD G., TOMASO H., AL DAHOUK S., KÄMPFER P., CLOECKAERT A., MAQUART M., ZYGMUNT M.S., WHATMORE A.M., PFEFFER M., HUBER B., BUSSE H.J. & DE B.K. (2010). *Brucella inopinata* sp. nov., isolated from a breast implant infection. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 60, 801–808.
- SCHOLZ H.C., REVILLA-FERNÁNDEZ S., DAHOUK S.A., HAMMERL J.A., ZYGMUNT M.S., CLOECKAERT A., KOYLASS M., WHATMORE A.M., BLOM J., VERGNAUD G., WITTE A., AISTLEITNER K. & HOFER E. (2016). *Brucella vulpis* sp. nov., isolated from mandibular lymph nodes of red foxes (*Vulpes vulpes*). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 66, 2090–2098.
- SCHOLZ H.C. & VERGNAUD G. (2013). Molecular characterisation of *Brucella* species. *Rev. Sci. Tech.*, 32, 149–162.
- STACK J.A., HARRISON M. & PERRETT L.L. (2002). Evaluation of a selective medium for *Brucella* isolation using natamycin. *J. Appl. Microbiol.*, 92, 724–728.
- STACK J.A., PERRETT L.L., BREW S.D. & MACMILLAN A.P. (1999). C–ELISA for bovine brucellosis suitable for testing poor quality samples. *Vet. Rec.*, 145, 735–736.
- STOFFREGEN W.C., OLSEN S.C., BRICKER B.J. (2006). Parenteral vaccination of domestic pigs with *Brucella abortus* strain RB51. *Am. J. Vet. Res.*, 67, 1802–1808.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA), ANIMAL AND PLANT HEALTH INSPECTION SERVICES (APHIS) (2003). Availability of an Environmental Assessment for Licensing of *Brucella abortus* Vaccine, Strain RB–51, Live Culture. *Federal Register*, 18 Feb 2003, 68, 7761.
- VERGER J.M. (1985). *B. melitensis* infection in cattle. In: *Brucella melitensis*, Plommet M. & Verger J.M., eds. Martinus Nijhoff Publ., Dordrecht, Netherlands, 197–203.
- VERGER J.M., GRAYON M., ZUNDEL E., LECHOPIER P. & OLIVER-BERNARDIN V. (1995). Comparison of the efficacy of *Brucella suis* strain 2 and *Brucella melitensis* Rev.1 live vaccines against a *Brucella melitensis* experimental infection in pregnant ewes. *Vaccine*, 13, 191–196.
- WHATMORE A.M. (2009). Current understanding of the genetic diversity of *Brucella*, an expanding genus of zoonotic pathogens. *Infect. Genet. Evol.*, 9, 1168–1184.
- WHATMORE A.M. & FOSTER J.T. (2021). Emerging diversity and ongoing expansion of the genus *Brucella*. *Infect. Genet. Evol.*, 16, 104865.
- WHATMORE A.M. & GOPAUL K.K. (2011). Recent advances in molecular approaches to *Brucella* diagnostics and epidemiology. In: *Brucella: Molecular Microbiology and Genomics*, López-Gofí I. & O'Callaghan D., eds, Caister Academic Press, Norfolk, UK, 57–88.
- WHATMORE A.M., DAVISON N., CLOECKAERT A., AL DAHOUK S., ZYGMUNT M.S., BREW S.D., PERRETT L.L., KOYLASS M.S., VERGNAUD G., QUANCE C., SCHOLZ H.C., DICK E.J. Jr, HUBBARD G. & SCHLABRITZ-LOUTSEVITCH N.E. (2014). *Brucella papionis* sp. nov. isolated from baboons (*Papio* spp.). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 64, 4120–4128.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (1953). WHO Technical Report Series No. 68. Sixth report of the WHO Expert Committee on Biological Standardization. WHO, Geneva, Switzerland.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (2004). WHO Laboratory Biosafety Manual, Third Edition. WHO, Geneva, Switzerland. XIE X. (1986). Orally administrable brucellosis vaccine: *Brucella suis* strain 2 vaccine. *Vaccine*, 4, 212–216.
- ZHU L., FENG Y., ZHANG G., JIANG H., ZHANG Z., WANG N., DING J. & SUO X. (2016). *Brucella suis* strain 2 vaccine is safe and protective against heterologous *Brucella* spp. infections. *Vaccine*, 34, 395–400. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.09.116. Epub 2015 Nov 25. PMID: 26626213.

ЖИЧ: Бруцеллэз (*Brucella abortus*, *B. melitensis* and *B. suis*) өвчнийг оношлох 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>).

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

ЖИЧ: ҮХРИЙН БРУЦЕЛЛЭЗЫГ 1989 ОНД, ХОНЬ, ЯМАА, ГАХАЙН БРУЦЕЛЛЭЗЫГ 1991 ОНД, ЭНЭ ГАРЧИГТАЙГААР ТУС БҮЛГИЙГ 2016 ОНД ТУС ТУС АНХ БАТАЛСАН БӨГӨӨД 2022 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

ШҮЛХИЙ ӨВЧИН (ШҮЛХИЙ ӨВЧНИЙ ВИРУСИЙН ХАЛДВАР)

А. УДИРТГАЛ

Шүлхий өвчин Пикорновиридае (*Picornaviridae*) овгийн Афтовирус (*Aphthovirus*)-ийн төрлийн вирусээр үүсэх ба салаа туруутан амьтанд халдварладаг О, А, С, SAT 1, SAT 2, SAT 3, Ази 1 гэсэн 7 ийлдсэн хэвшилтэй. Аль нэг хэвшлийн вирусийн халдвар өөр хэвшлийн эсрэг дархлаа төрүүлэхгүй. Ийлдсэн хэвшлийн доторх олон омгуудыг биохимийн болох дархлаа судлалын шинжилгээгээр ялган илрүүлэх боломжтой.

Тэжээвэр мал, амьтнаас үхэр, гахай, хонь, ямаа, усны одос үхэр (*Bubalus bubalis*) шүлхий өвчинд мэдрэмтгий (ХХААБ, 1984). Салаа туруутан олон зүйл зэрлэг амьтан халдвар авч болох ба бусад амьтнаас ч вирусийг ялган авсан тохиолдол бий. Тэмээний овгийн амьтнаас Бактриан тэмээ, шинэ газрын тэмээний овгийн амьтан мэдрэмтгий болох нь тогтоогдсон (Larska нар, 2009). Африкт шүлхий өвчний вирусийн SAT ийлдсэн хэвшил голдуу Африкийн одос үхэрт (*Syncerus caffer*) хадгалагддаг байна. Мал болон бэлчээр ус нэгтэй салаа туруутан зэрлэг амьтанд халдвар үе үе тархана. Дэлхийн хаана ч шүлхийн вирусийн гол эх үүсвэр нь үхэр болдог ба харин гахайн гаралтай эс хэрэглэн ялган авдаг, гахайд онцгойлон дассан шүлхийн вирусийн омог (гахайд дассан шүлхийн О хэвшлийн Катар омог) зарим тохиолдолд эх үүсвэр болох нь бий. Шүлхийн вирус тархахад бог мал чухал үүрэгтэй ч үхэрт халдвар байхгүй тохиолдолд энэ зүйл амьтанд вирус удаан хадгалагддаг эсэх нь тодорхойгүй байна. Үхэрт халдварласан шүлхий өвчний вирусийн омгийг гахай, зээр, бугаас ялган авчээ. Баримтаас үзэхэд халдвартай тэжээвэр мал, амьтантай шууд, шууд бусаар хавьталд орсноос буга халдвар авч байсан ба Африкийн одос үхрээс бусад зэрлэг амьтад дангаараа шүлхийн вирусийг цөөн хэдэн сараас илүү хугацаагаар хадгалах чадваргүй болохыг тогтоожээ.

Мэдрэмтгий мал, амьтанд шүлхий өвчний вирус халдварлахад хөл, амны хөндийн эргэн тойрон, эм малын дэлэн дээр үлхий гарч болно. Үлхий хагарч, дараа нь эдгэрдэг бол турууны зэтрийн гэмтэл дээш доош тэлсээр туруу ханзарч болзошгүй. Халдвар авснаас хойш хэр хугацаа өнгөрснийг илтгэж байдаг эдгээр өөрчлөлтөөр шүлхий өвчний үеийн гэмтлийн насжилтыг тоймлож болно (Нэгдсэн хаант улс, ХАА, загас, хүнсний яам; 1986). Шүлхий өвчний үед саалийн үнээнд дэлэнгийн үрэвсэл элбэг тохиолдоно. Үлхий хамрын хөндий, ялангуяа гахайд хөлийн ул зэрэг бусад хэсгээр гарч болно. Үүсгэгчийн омог, халдварласан тун, амьтны нас, үүлдэр, зүйл, дархлаанаас хамааран эмнэл зүйн шинж тэмдгийн илрэл янз бүр байна. Халдвар нь шинж тэмдгийн хувьд бүдэг эсхүл огт илрэлгүй, бас хүнд хэлбэрээр илэрнэ. Зарим тохиолдолд хорогдол гарна. Зүрхний булчингийн голомтолсон үрэвслийн улмаас ихэвчлэн өсвөр мал, амьтан хорогдох ба биеийн бусад хэсэгт ч булчингийн үрэвсэл тохиолдоно.

Салаа туруутай өсвөр малд гэнэтийн хорогдол гардаг аж ахуйн нас гүйцсэн малд нарийвчилсан үзлэг хийхэд хэрэв шүлхий байвал голдуу цэврүүтэх шинж тэмдэг илэрдэг. Үхсэн малд үлхий үлдэх эсэх нь янз бүр байдаг.

Цэврүүт өвчин гардаг мал, амьтанд үлхийн шингэн, хучуур эд, улаан хоолой-залгиурын (УХЗ) сорьц, сүү, усны сорьцод шүлхий өвчний вирус илрүүлэх нь өвчнийг оношлоход хангалттай. Үхсэн мал, амьтны цус, зүрх эсхүл бусад эрхтэнд шүлхий өвчний вирусийг илрүүлэх замаар онош тогтоож болно. Мал, амьтан үхсэн зарим тохиолдолд зүрхний булчингийн үрэвсэл ("баран зүрх" гэж нэрлэдэг) энгийн нүдээр харагдана.

Халдвар аваад удаагүй мал, амьтны бүхий л шүүрэл, ялгадас, түүний дотор амьсгалсан агаарт шүлхий өвчний вирус агуулагдана. Халдвар ихэнхдээ халдвартай болон мэдрэмтгий мал, амьтны хооронд шууд хавьтлаар дамжих ба халдвар аваад удаагүй байгаа мэдрэмтгий мал, амьтны шүүрэл, ялгадас, эсхүл түүхий махан бүтээгдэхүүнд шууд бус замаар өртсөнөөс хааяа дамжина. Халдварын идэвхтэй үе өнгөрөхөд халдвартай вирус зарим хивэгч малын ам залгиурт бага хэмжээгээр орогнож үлддэгийг эс тооцвол биеэс арилна. Ам залгиурын шингэн эсхүл пробангын хундагаар авсан эсээс амьд вирус эсхүл вирусийн РНХ ялган сэргэж болох юм. Шүлхий өвчний вирус тунгалгийн зангилаанд цаашид үржин олшрохгүйгээр орогнож байдаг байна (Juleff нар, 2008). Халдварын дараах 28 хоног өнгөрөхөд ам залгиурт нь вирус орогнож байгаа мал, амьтныг тээгч гэж нэрлэдэг. Гахай тээгч болдоггүй. Вирус тээгч байх боломжтой ялангуяа Африкийн одос үхэртэй ойр хавьталтай байсан мэдрэмтгий тэжээвэр мал, амьтан халдвар авсан ховор тохиолдол гарсан нь нотлогдсон ч халдварласан механизм нь тодорхойгүй юм. Хэдийгээр үхэр сүргийн өчүүхэн хувь нь 3 жил хүртэл вирус орогнуулж болох ч шүлхийн вирусийг тээх нь ихэнхдээ 6 сараас хэтэрдэггүй. Африкийн одос үхрийн зарим бодгаль наад зах нь 5 жил шүлхийн вирусийн эх үүсвэр болдог ч энэ нь амьдралынх нь турш үргэлжилдэггүй. Одос үхрийн сүрэгт вирус 24 ба түүнээс олон жил хадгалагдана. Хонь, ямаа шүлхий өвчний вирусийг ихэнхдээ хэдхэн сар тээдэг бол Азийн одос үхрийн зүйл, дэд зүйл хэр удаан тээдэг талаар мэдээлэл бага байна.

Шүлхий өвчин хүнд халдварлах үл ялих эрсдэлтэйд тооцогддог. Гэвч энэ өвчин мал, амьтанд хавьтлаар маш амархан халдварладаг, эдийн засгийн хор хохирол ихтэй учраас амьд вирусийн өсгөвөр эсхүл эд, цусны сорьц зэрэг халдвартай/бохирдсон байж болох зүйлтэй ажиллах лабораторийн бүх ажиллагааг биологийн эрсдэлийн дүн шинжилгээгээр тогтоосон биохамгаалал, биоаюулгүйн зохих түвшинд гүйцэтгэнэ (1.1.4. *Биоаюулгүй байдал ба*

биохамгаалал: Мал эмнэлгийн лаборатори, мал, амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандарт бүлгийг үз). Биохамгаалал болон биоаюулгүй байдал хангалтгүй улсын тухайд шинжилгээний сорьцыг ДМАЭМБ-ын шүлхий өвчний лавлах лабораторид явуулах хэрэгтэй. Вакцин үйлдвэрлэлийн байгууламж биоаюулгүйн эдгээр шаардлагыг мөн хангасан байх хэрэгтэй.

ДМАЭМБ-ын Шүлхий өвчний лавлах лабораториудаас оношилгооны болон стандарт урвалжуудыг хэрэглээнд цомог хэлбэрээр эсхүл тус тусад нь гаргасан байдаг. Идэвхгүйжүүлсэн эсрэгтөрөгчийг эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА урвалд хяналт болгон ашиглах эсхүл шингэн фазат саатуулагч ЕЛИЗА, хатуу фазат өрсөлдөөнт ЕЛИЗА-аар ийлдэс шинжлэх нь амьд вирус ашигладаг аргатай харьцуулахад өвчин гарч болох эрсдэлийг бууруулна. Хөлдөөн хатаасан, эсхүл глицеринд эсхүл глицеринжүүлэлгүй хөлдүүгээр нь нийлүүлж байгаа оношилгооны урвалжийг олон жилийн турш +1°C-ээс +8°C, -30°C -ээс -5°C, -90°C -ээс -50°C-д тус тус хадгалж болно. Вирусийн эсрэгтөрөгч эсхүл эсрэг бие илрүүлэх оношилгооны зориулалттай олон цомог худалдаанд гарсан байгаа.

Б.ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Шүлхий өвчнийг оношлох шинжилгээнд хэрэглэх 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, ялган таних^(a)						
Вирус ялгах	–	+	+++	+++	–	–
Эсрэгтөрөгч илрүүлэх ЕЛИЗА	–	–	+++	+++	–	–
ХХУ	–	–	+	+	–	–
Түргэн сорил	–	–	+++	+++	–	–
Бодит цагийн УТ-ПГУ	+	+	+++	+++	+	–
УТ-ПГУ	+	+	+++	+++	+	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ББУ ЭБ ЕЛИЗА	+++	++	+++	+++	+++	–
БУ ЭБ ЕЛИЗА ^(b)	++	++	+++	+++	++	+++
ВСУ ^(b)	++	++	+++	+++	++	+++
НТУ ^(b)	+	+	+	+	+	–

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;
- УТ-ПГУ = урвуу транскрипцт полимеразгийн гинжин урвал;
- НТУ = агарын гелд нэвчин тунадасжих урвал;
- ББУ ЭБ ЕЛИЗА = бүтцийн бус уургийн эсрэг бие илрүүлэх ЕЛИЗА;
- БУ ЭБ ЕЛИЗА = бүтцийн уургийн эсрэг бие илрүүлэх ЕЛИЗА;
- ВСУ = вирус саармагжуулах урвал;

^(a) Вирус ялгах ажиллагааны дараа дээжид шүлхий өвчний вирус байгаа эсэхийг эсрэгтөрөгч эсхүл нуклеин хүчил илрүүлэх шинжилгээгээр баталгаажуулах шаардлагатай.

^(b) Энэ аргаар байгалийн халдвар авсан амьтныг вакцинжуулсан амьтнаас ялгаж чадахгүй;

Лабораторийн оношилгоонд эдийн сорьцоос хучуур эд эсхүл үлхийн шингэн сонгож шинжилнэ. Хэл, завжны салст бүрхэвч, эсхүл хөл дээр гарсан хагараагүй эсхүл хагараад удаагүй үлхийнээс хучуур эдийн 1 г-аас багагүй сорьц авна. Сорьц авч байгаа хүн өөрөө гэмтэл авчихгүй байх, нөгөө талаар амьтны тавлаг байдлыг хангах үүднээс аливаа сорьц авахын өмнө амьтныг тайвшруулах нь зүйтэй.

Хучуур эдийн сорьцыг глицерин болон 0.04 М фосфатын буферийг тэнцүү хэмжээгээр хольж, pH 7.2–7.6, болж өгвөл антибиотик (пенициллин [1000 ОУН (IU)], неомицин сульфат [100 ОУН], полимиксин В сульфат [50 ОУН], микостатин [100 ОУН]) нэмсэн зөөвөрлөх орчинд хийнэ. Хэрэв 0.04 М фосфатын буфергүй бол оронд нь эсийн өсгөврийн тэжээлт орчин эсхүл фосфатын буфержүүлсэн давсны уусмал (ФБУ) хэрэглэж болох ба гол нь глицеринт буферийн холимгийн эцсийн pH 7.2–7.6 хэмжээнд байх хэрэгтэй. Шүлхий өвчний вирус нам pH-д амархан идэвхгүйдэг учраас зөөвөрлөх орчныг буфержүүлэх нь сорьцыг зөв авч бэлтгэхэд шийдвэрлэх ач холбогдолтой. Сорьцыг лабораторид хүргэх хүртэл хөргүүрт эсхүл мөсөн орчинд байлгана.

Халдварын эхэн үе эсхүл өвчлөөд өнгөрсөн тохиолдолд хучуур эдийн сорьц авах боломжгүй байгаа эсхүл эмнэл зүйн шинж тэмдэг илрээгүй ч халдвар авсан гэж сэжиглэж байгаа үед хивэгч мал, амьтны ам залгиурын шингэн сорьцыг пробанг (цэр) хундагаар (гахайн хоолойноос арчдас авах) авч лабораторид вирус ялган авах, УТ-ПГУ-ын шинжилгээнд зориулан илгээнэ. Түүнчлэн вирус цусаар тархсан эсэхийг ийлдсийн дээжид УТ-ПГУ-аар эсхүл вирус ялгах аргаар илрүүлж болно. Гахайг хүзүү нь сунаж багтахгаар модон онгоцонд нуруугаар нь хэвтүүлж байгаад хоолойн арчдас авна. Тараагуур судасны хямсаа гэх мэт хэрэгслээр бойтуурыг чимхэж байгаад амны хөндийн ар тал руу түлхэж залгиурт оруулна.

Үхэр болон том биетэй хивэгч амьтнаас (усны үхэр мэт) УХЗ-ын сорьц авахын өмнө 5 мл орчим эзлэхүүнтэй, хуурай мөс (хатуу нүүрс хүчлийн давхар исэл) эсхүл шингэн азотын хөлдөөлт тэсвэрлэхүйц саванд 2 мл зөөвөрлөх шингэн (0.01% үхрийн ийлдсийн альбумин, 0.002% фенолын улаан, антибиотик [1000 нэгж/мл пенициллин, 100 нэгж/мл микостатин, 100 нэгж/мл неомицин, 50 нэгж/мл полимиксин] агуулсан бөгөөд pH 7.2-д тохируулсан 0.08 М фосфатын буфер) бэлтгэсэн байна (Kitching & Donaldson, 1987).

Пробанг хундагыг хэлэн дээгүүр давуулж УХЗ-ын хэсэгт оруулаад улаан хоолойн дээд хэсэг, залгиурын ар хана хооронд урагш хойш хүчтэйхэн 5-10 удаа холхиулах замаар УХЗ-ын сорьц авна. Үүний зорилго нь ам залгиурын шингэн, тэр дундаа улаан хоолойн дээд хэсэг, залгиурын хана, гүйлсэн булчирхайн ойролцоох зай, зөөлөн тагнайн гадаргууг хамарсан хэсгийн өнгөц хучуур эдийн эсийг цуглуулахад оршино. Хэрэв сорьцод шинжилгээнд тохирох эсийн үлдэц хэсгүүд байхгүй байвал сорьцыг дахин авна.

Пробангийн хундагаар УХЗ-ын шингэнийг авсны дараа хундагатай зүйлийг 20 мл орчим эзлэхүүнтэй өргөн хүзүүтэй, нэвт харагддаг шилэнд хийнэ. Шингэнийг шалгахад эсийнх гэмээр харагдах материал агуулагдана. Дараа нь шингэнийг тэнцүү хэмжээний зөөвөрлөх орчин руу нэмж эсийн материалыг оруулаад холимгийг аяархан зайлсны эцэст pH 7.6 орчим болсон байна. Гүзээний агуулагдахуунаар бохирлогдсон сорьц өсгөвөрлөлтөд тохирохгүй. Цустай сорьц бүхэлдээ шаардлага хангахгүй. Сорьц дахиж авахдаа амьтны ам, хоолойг ус эсхүл ФБУ-аар зайлна. Олон амьтнаас сорьц авах бол сорьц авах бүрийн өмнө пробанг хундагыг цэвэрлэж халдваргүйжүүлнэ. Үүний тулд пробанг хундагыг усаар угаагаад халдваргүйжүүлэх тохирох уусмалд (ердийн усанд бэлтгэсэн 0.5%-ийн нимбэгийн хүчлийн) дүрж уг уусмалын үлдцийг дараагийн амьтнаас сорьц авахаас өмнө зайлж арилгана.

Бог малаас УХЗ-ын сорьц цуглуулахдаа 2 мл зөөвөрлөх шингэн орчныг 20 мл орчим эзлэхүүнтэй өргөн хүзүүтэй колбод хийгээд цуглуулсан УХЗ-ын сорьцыг пробанг хундагаас уг зөөвөрлөх шингэн орчноор зайлж гаргана. Үүнийгээ тээвэрлэлтэд зориулсан 5 мл орчим эзлэхүүнтэй саванд шилжүүлэн хийнэ. Энэ жижиг сав нь хуурай мөс эсхүл шингэн азотын хөлдөөлт тэсвэрлэдэг байх хэрэгтэй (Kitching & Donaldson, 1987).

УХЗ-ын сорьцыг цуглуулсан даруйдаа хөргөгчид хийх эсхүл хөлдөөнө. Хэрэв тэднийг тээвэрлэхэд олон цаг шаардахаар бол хуурай мөс эсхүл шингэн азот дээр тавьж хөлдөөх нь зохистой. Хөлдөөхийн өмнө савыг агаар үл нэвтрүүлэх эрэгддэг таг эсхүл силиконоор найдвартай битүүмжилнэ. УХЗ-ын сорьцод CO₂ орсон тохиолдолд түүний pH-ыг бууруулж сорьцод байж болох шүлхий өвчний аль ч вирусийг идэвхгүйжүүлэх учир ялангуяа хуурай мөс хэрэглэх бол дээрх битүүмжлэл маш чухал юм. Дотор нь шингэн азот нэвчиж орсноос гэсгээлтийн явцад тэсрэх эрсдэлтэй учраас шилэн сав ашиглаж болохгүй. Сорьцыг лабораторид хөлдүүгээр нь хүргэх, хэрэв ингэх боломжгүй бол тээвэрлэх явцад хүйтэн хэлхээг найдвартай бүрдүүлэн хүргэнэ.

Шүлхий өвчний сэжигтэй, хялбар муудах материалыг тухайн улс дотор болон улс хооронд илгээх аль ч үед онцгой анхаарах шаардлагатай. Олон улсын агаарын тээврийн холбоо (OYATX)-ны Аюултай бараа тээвэрлэх дүрэмд оношилгооны дээжийг савлах, аливаа албан ёсны тээврийн хэрэгслээр тээвэрлэхэд тавих шаардлагыг тогтоосон байдаг. Эдгээр шаардлагыг 1.1.2 *Оношилгооны дээжийг цуглуулах, илгээх, хадгалах*, 1.1.3 *Биологийн материал тээвэрлэх* бүлэгт хураангуйлан оруулав. Сорьц илгээх маягт, зааварчилгаа, пробанг хундага үйлдвэрлэхэд тавих шаардлагыг Прибрайт дахь ДМАЭМБ-ын лавлах лабораторийн цахим хуудаснаас үзэж болно. Цэврүүт өвчнийг оношлох, ялгаварлан оношлоход зориулан хээрийн сорьц цуглуулах, илгээх журмыг ДМАЭМБ-ын Пан-Америкийн шүлхий өвчний лавлах лабораторийн цахим хуудаснаас <http://www.panaftosa.org.br> үзэж болно.

1. Өвчин үүсгэгч илрүүлэх, ялган таних

Хучуур эд, УХЗ-ын сорьц, сүү, ийлдэс, зүрхний булчингийн үрэвсэлтэй байсан бол зүрхний булчин зэрэг олон төрлийн сорьцыг вирус ялгах аргаар эсхүл УТ-ПГУ-аар шинжилж болно. Нөгөөтээгүүр ЕЛИЗА, ХХУ, түргэн сорилоор хучуур эд, үлхийн шингэн, эсийн өсгөврийн шингэнийг шинжлэхэд тохиромжтой ч УХЗ-ын сорьц, ийлдсийг шууд шинжлэхэд мэдрэх чанар нь вирус илрүүлэх хэмжээнд хүрдэггүй. Вирус ялгах ажиллагааны дараагаар

дээжид шүлхий өвчний вирус байгаа эсэхийг шүлхийн өвчний вируст өвөрмөц эсрэгтөрөгч эсхүл нуклеин хүчил илрүүлэх шинжилгээгээр баталгаажуулах шаардлагатай. Ялгасан вирус эсхүл УТ-ПГУ-ын бүтээгдэхүүнд нуклеотидийн дараалал тогтоох шинжилгээ хийж вирусийн шинж чанарыг нарийн тогтооно.

1.1. Вирус ялгах

Хучуур эдийн сорьцыг ФБУ/глицеринээс гаргаад эсийн өсгөврийг муутгадаг глицеринээс салгахын тулд шингээгч цаасан дээр тавьж хатаагаад жинлэнэ. Сорьцыг ариун уур, нухуурт хийгээд ариутгасан элс, эсийн өсгөврийн бага зэрэг шингэн, антибиотик хийж нухаад цийдмэг бэлтгэнэ. Хучуур эдийн дээж дээр нэмснээс ес дахин их эзлэхүүнтэй байхаар тооцож эсийн өсгөврийн орчныг нэмж 10%-ийн цийдмэг болгоно. Ширээний хурилдуураар 2000 g-д 10 минут эргүүлж тунгалаг болгоно. Шүлхийн вирустэй гэж сэжиглэж байгаа хээрийн сорьцоос бэлтгэсэн цийдмэгийг тунгалаг болгосны дараа эсийн өсгөвөрт халдварлуулна. Шүлхийн вируст мэдрэмтгий эсийн өсгөвөрт үхрийн (тугалын) сэрээ булчирхайн болон гахай, тугал, хурганы бөөрний эсийн анхдагч өсгөвөр орно. ВНК-21 (нялх үхэр зүсгийн бөөр), IB-RS-2 эс зэрэг дамжмал эсийн өсгөвөр хэрэглэж болох ч халдвар тарааж болох цөөн тооны вирусийг мэдрч илрүүлэхдээ анхдагч эсийн өсгөврийг гүйцэхгүй. Хэрэглэх аливаа эсийн өсгөврийн мэдрэх чанарыг шүлхий өвчний вирусийн стандарт бэлдмэлээр шалгана. IB-RS-2 эс хэрэглэх нь гахайн цэврүүт өвчний вирусийг (ГЦӨВ) шүлхий өвчний вирусээс ялгаварлахад (ГЦӨВ нь зөвхөн гахайн гаралтай эсэд өсгөвөрлөгдөнө) хэрэгтэй ба голдуу O Cathay зэрэг гахайд халдварламтгай омгийг ялган авахад ашиглана. Эсийн өсгөврийн эс эмгэгшүүлэх нөлөө (ЭЭН)-г 48 цагт шалгана. Эс эмгэгшээгүй байвал эсийг хөлдөөж, гэсгээж байгаад шинэ эсийн өсгөвөрт халдааж эс эмгэгшлийг дахин 48 цагт шалгана. УХЗ-ын шингэн шинжлэх бол дээжийг ижил хэмжээний хлор-фтор-карбонор урьдчилан боловсруулбал вирус илрүүлэлт нь сайжирч болно.

1.2. Дархлаа судлалын арга

1.2.1. Энзим холбоост дархлааны урвал - ЕЛИЗА

ЕЛИЗА нь шүлхий өвчний вирусийн эсрэгтөрөгчийг илрүүлэх, вирусийн ийлдсэн хэвшил тогтооход тохиромжтой арга юм (Ferris & Donaldson, 1992; Roeder & Le Blanc Smith, 1987). Энэ нь шүлхий өвчний вирусийн долоон ийлдсэн хэвшил тус бүрд зориулан урвалын олон үүртэй хавтангийн өөр өөр мөрний үүрний ханыг туулайн эсрэг ийлдсээр бүрсэн байдаг шууд бус сэндвич хэлбэрийн арга юм. Эдгээр нь “баригч” ийлдэс юм. Шинжилгээнд хэрэглэх цийдмэгийг хавтангийн мөр бүрд нэмэх ба шаардлагатай хяналтыг хамт шинжилнэ. Шүлхий өвчний вирусийн ийлдсэн хэвшил тус бүрийн эсрэг усан гахайн ийлдэс нэмж дараа нь энзимтэй холбосон усан гахайн эсрэг туулайн ийлдэс нэмнэ. Холбогдоогүй үлдсэн урвалжийг зайлуулахын тулд урвалын үе шат бүрийн хооронд хавтангийн үүрийг сайтар угаана. Энзимийн субстрат, хромоген нэмэхэд үүсэх өнгө нь эерэг урвалыг илтгэнэ. Илт эерэг урвал энгийн нүдэнд харагддаг боловч урвалын үр дүнг гэрлийн долгионы тохирсон уртад спектрофотометрээр уншиж болно. Энэ тохиолдолд урвалын гэрэл шингээлтийн утга босго хэмжээнээс 0.1-ээс дээш байвал эерэг урвал гэж үзэн шүлхий өвчний вирусийн ийлдсэн хэвшлийг тогтоож болно. Урвалын утга 0.1-д ойрхон бол шинжилгээг давтан хийх эсхүл эсрэгтөрөгчийг эдийн өсгөвөрт зорчуулан олшруулаад ЭЭН үүссэний дараа эсийн өсгөврийн шингэнийг шинжлэх замаар баталгаажуулна. Тохирох арга зүйг дор оруулав. Урвалын формат, үр дүнг тооцох шалгуур нь бага зэрэг өөр бусад арга бий (Alonso нар, 1993).

Халдварт өртсөн амьтны зүйл, сорьцын газар зүйн гарал үүслээс хамааралтайгаар ГЦӨВ эсхүл гахайн цэврүүт амтас (ГЦА) өвчний вирусийг нэгэн зэрэг шинжилбэл зохистой. Цэврүү үүсэлттэй бүх тохиолдолд ялгаварлах оношилгоог иж бүрэн хийх нь зүйтэй.

Шүлхий өвчний вирусийн (шаардлагатай бол нэмээд ГЦӨВ, ГЦАВ) долоон ийлдсэн хэвшил тус бүрийн 146S эсрэгтөрөгчийн эсрэг туулайн ийлдсийг урьдчилж сайтар шалгасан төвшрүүлэг бүхий карбонат/бикарбонатын pH 9.6 буфер орчинд баригч эсрэг бие болгон хэрэглэнэ.

Шүлхий өвчний вирусийн (шаардлагатай бол нэмээд ГЦӨВ, ГЦАВ) долоон ийлдсэн хэвшил тус бүрээс сонгон ВНК-21 дан үе эсэд (ГЦӨВ, ГЦАВ-д IB-RS-2 эс) ургуулсан омгоос хяналтын эсрэгтөрөгчийг бэлтгэнэ. Дээд талын цэвэршүүлээгүй шингэнийг хэрэглэх ба ЕЛИЗА хавтанд урьдчилан титрлэнэ. Сонгон авсан эцсийн шингэлэлт нь титрлэлтийн муруйн мужийн хамгийн дээд цэгт гэрэл шингээлт өгөх ба (гэрлийн нягт ойролцоогоор 2.0) ингэснээр шинжилгээнд хэрэглэх тав дахин шингэрүүлсэн хяналтын эсрэгтөрөгч нь титрлэлтийн муруйг гаргахад ашиглах гэрлийн нягтын нэмэлт хоёр бага утгыг үзүүлнэ. Шингэлэгчээр Твин 20-ыг 0.05%-иар болон фенолын улаан индикатор агуулсан ФБУ-ыг хэрэглэнэ (ТФБУ).

Шүлхий өвчний вирусийн (шаардлагатай бол ГЦӨВ) долоон хэвшлийн аль нэгний 146S эсрэгтөрөгчөөр усан гахайд халдвар хийн бэлтгэж үхрийн хэвийн ийлдсээр урьдчилан саатуулсан усан гахайн эсрэг ийлдсийг илрүүлэгч эсрэг бие болгон ашиглана. Урьдчилан тооцоолсны дагуу түүнийг хамгийн оновчтой төвшрүүлгээр Твин 20-ыг 0.05%, хатаасан, тослоггүй хуурай сүү 5%-иар агуулсан ФБУ-д бэлтгэнэ (ТСФБУ).

Тунхууны пероксидазатай конъюгатлаж үхрийн хэвийн ийлдсээр урьдчилан саатуулсан усан гахайн эсрэг туулайн (эсхүл хонь) иммунглобулиныг урьдчилан тооцоолсон оновчтой төвшрүүлгээр ФБУТС-д хэрэглэнэ. Усан гахайн эсхүл туулайн ийлдэсний оронд тохирох ижил гарлын өөр эсрэг бие (ИГЭБ)-ийг ЕЛИЗА хавтангийн үүрийг бүрхэхэд баригч эсрэг бие болгон эсхүл пероксидазатай конъюгатлаад илрүүлэгч эсрэг бие болгон ашиглаж болно. Шүлхий өвчний вирусийн долоон ийлдсэн хэвшлийн зургааг илрүүлэх, хэвшлийг тодорхойлоход зориулан зориуд сонгосон ИГЭБ бүхий баталгаажсан, хэрэглэхэд бэлэн цомог гарсан байна.

1.2.2. Шинжлэх арга зүй

- i) ЕЛИЗА хавтангийн үүр тус бүрийн ханыг 0.05 М карбонат/бикарбонатын рН 9.6 буферт бэлтгэсэн вирусийн эсрэг туулайн 50 мкл ийлдсээр бүрнэ. А-аас Н хүртэлх мөрөнд О, А, С, SAT 1, SAT 2, SAT 3, Ази 1 ийлдсэн хэвшлийн эсрэг ийлдсийг, шаардлагатай бол ГЦӨВ эсхүл ГЦАВ-ийн эсрэг ийлдсийг дэс дараагаар нь хийнэ. САТ болон Ази 1 ийлдсэн хэвшлийн вирусийн эргэлт байхгүй бүс нутгийн улс оронд урвал тавихад тэдгээрийн эсрэг ийлдсийг байнга хэрэглэхгүй.
- ii) Хөдөлгөөнгүй газар 4°C-д хонуут эсхүл 37°C инкубаторт эргэдэг тавцантай холигч дээр тавьж 100–120 эргэлт/минут хөдөлгөөн дунд 1 цаг инкубацлана.
- iii) Дээжийн цийдмэг бэлтгэнэ (эх дээжийн цийдмэгийн 10% эсхүл эсийн өсгөврийн дээд талын шингэрүүлээгүй тунгалаг шингэн).
- iv) Елиза хавтанг ФБУ-аар таван удаа угаана.
- v) ЕЛИЗА хавтанг ФБУ-аар таван удаа угаана. Хавтан тус бүрийн 4,8,12 дугаар баганын үүрэнд 50 мкл ТФБУ хийнэ. Үүнээс гадна 1-р хавтангийн А-аас Н хүртэлх мөрийн 1,2,3 дугаар үүрэнд нэмж 50 мкл ТФБУ хийнэ. 1-р хавтангийн А мөрийн 1-р үүрэнд хяналтын О хэвшлийн эсрэгтөрөгчөөс 12.5 мкл, В мөрийн 1-р үүрэнд хяналтын А хэвшлийн эсрэгтөрөгчөөс 12.5 мкл нэмэх ба энэ маягаар С-ээс Н хүртэлх мөрийн 1-р үүрэнд С, SAT 1, SAT 2, SAT 3, Ази 1, шаардлагатай бол ГЦӨВ, ГЦАВ-ийн хяналтын эсрэгтөрөгчийг тус тус нэмнэ. А-аас Н хүртэлх мөрийн үүрэн дэх шингэлэгчийг хольсны дараа 1-р үүрнээс 12.5 мкл-ийг 2-р үүрэнд шилжүүлэн (А – Н мөр) хийж холиод 2-р үүрнээс 12.5 мкл-ийг 3-р үүрэнд шилжүүлэн хийж холиод түүнээсээ (А – Н мөр) 12.5 мкл-ийг авч асгана (үүний үр дүнд хяналтын эсрэгтөрөгч бүр 5 дахин шингэлэлттэй болно). Эсрэгтөрөгч хооронд зөвхөн соруурын хошууг л солих шаардлагатай. Хавтангийн бусад үүрэнд шинжлэх дээжийг хийнэ. А-аас Н хүртэлх мөрийн 5, 6, 7-р үүрэнд 50 мкл дээж хийх ба үүнтэй ижил байдлаар А-аас Н хүртэлх мөрийн 9, 10, 11-р үүрэнд хоёр дахь дээжийг нэмнэ.
Хэрэв хоёр дээжийг нэгэн зэрэг шинжлэх бол өөр ЕЛИЗА хавтанг дараах байдлаар хэрэглэнэ: 4, 8, 12 (буферийн хяналтын багана) дугаар баганын А-аас Н хүртэлх мөрний үүрэнд 50 мкл ТФБУ нэмнэ. Эдгээр хавтанд хяналтын эсрэгтөрөгч шаардлагагүй. Эдгээр шинжлэх дээжээс 50 мкл-ийг 1, 2, 3, 5, 6, 7, 9, 10, 11-р баганын А-аас Н хүртэлх мөрийн үүрнүүдэд тус тус нэмнэ.
- vi) Хавтанг таглаад 37°C-д 1 цаг эргэдэг тавцантай холигч дээр тавьж инкубацлана.
- vii) Хавтанг ФБУ урсган өмнөхийн адил гурван удаа угааж угаасан шингэний үлдэгдлийг шавхана.
- viii) Хавтан тус бүрийн үүрэнд усан гахайн ийлдсийн шингэлэлт бүрээс 50 мкл-ийг зохих дарааллын дагуу буюу өөрөөр хэлбэл А-аас Н мөр хүртэл О, А, С, SAT 1, SAT 2, SAT 3, Ази 1, шаардлагатай бол ГЦӨВ эсхүл ГЦАВ дарааллаар хийнэ.
- ix) Хавтанг бүрхээд эргэдэг тавцантай холигч дээр тавина. 37°C-д 1 цаг инкубацлана.
- x) Хавтанг дахиад 3 удаа угааж үүр бүрд тунхууны пероксидазатай конъюгатласан усан гахайн эсрэг туулайн 50 мкл иммунглобулин нэмнэ. Хавтанг эргэдэг тавцантай холигч дээр тавьж 37°C-д 1 цаг инкубацлана.
- xi) Хавтанг дахиад 3 удаа угааж үүр бүрд 0.05%-ийн H₂O₂ болон ортофенилен ди-амин эсхүл өөр тохирох хромоген агуулсан 50 мкл субстратын уусмал нэмнэ.
- xii) 1.25 М хүхрийн хүчил 50 мкл нэмснээс хойш 15 минутын дараа урвал зогсоно. Хавтанг компьютерт холбосон спектрофотометрийн 492 нм -д уншина.

1.2.3. Түргэн сорил

Шүлхий өвчний эсрэгтөрөгчийг илрүүлэх түргэн сорил худалдаанд гарсан (Ferris нар, 2009) боловч тэдгээр сорилыг баталгаажуулах өргөдөл ДМАЭМБ-д өдий хүртэл ирээгүй байна. Баталгаажуулах өргөдлийг ДМАЭМБ хүлээн авсан даруйд үйлдвэрлэгч ДМАЭМБ-ын шинжилгээний аргын бүртгэлд оруулах хүсэлтээ гаргаж болно

Ерөнхийд нь авч үзвэл ЕЛИЗА урвал хавсарга холбох урвал (ХХУ)-ыг бодвол мэдрэх чанараар илүү, бас хавсаргын про болон эсрэг хүчин зүйлийн нөлөөгүй илүү тохиромжтой арга юм (Ferris & Dawson, 1988). Хэрэв ЕЛИЗА урвалд хэрэглэх урвалжгүй, эсхүл дэд хэвшил тогтоох бол ХХУ-ыг дараах байдлаар тавина.

Хэвшил, дэд хэвшил тодорхойлох, ийлдэс судлалын хамаарлыг (r values) тогтооход Өмнөд Америкт өргөн ашигладаг хуруу шилний CF50% хавсаргын аргыг дараах байдлаар хэрэглэнэ: Вероналын шингэлэгч буфер (ВШБ) эсхүл борын давсны шингэлэгчээр (БДШ) хамгийн зохистой гэж урьдчилж тооцож шингэлсэн шүлхий өвчний вирусийн ийлдсэн хэвшил тус бүрийн эсрэг ийлдэснээс 0.2 мл-ийг авч тус тусад нь цодонд хийнэ. Эдгээр цодонд шинжлэх дээжийн цийдмэгээс 0.2 мл, улмаар 4 нэгж хавсарга агуулсан 0.2 мл шингэлсэн хавсарга нэмнэ. Шинжлэгдэхүүнийг 37°C хэмд 30 минут инкубацласны дараа ХЦУЭ-ийн эсрэг туулайн бэлдмэлээр мэдрэгжүүлсэн хонины цусны стандартчилсан улаан эсийн ВШБ эсхүл БДШ-д бэлтгэсэн 2%-ийн бэлдмэлээс 0.4 мл-ийг нэмээд дахин 37°C хэмд 30 минут инкубацлан бүх цодонг хурилдуурдсаны дараа урвалыг уншина. Цус задрал 50%-иас бага дээжийг эерэг гэж үзнэ.

Хэрэглэгддэг өөр нэг арга болох бичил хавтанд хийдэг ХХУ-ыг дараах байдлаар явуулна: шүлхий өвчний долоон хэвшлийн вирус тус бүрийн эсрэг ийлдсийн дараалсан шингэлэлтийг ВШБ ашиглан бичил хавтангийн U ёроолтой үүрэнд нэг захаас нөгөө зах хүртэл 1/16 шингэрүүлэлтээс эхлээд үүр бүрд 25 мкл үлдээн 1.5 дахин шингэлэх шатлалаар хийнэ. Үүрнүүдэд хавсаргын 3 нэгжээс 50 мкл, дараа нь 25 мкл шинжлэх цийдмэг дээж нэмнэ. ХЦУЭ-ийн эсрэг туулайн 5 нэгж бэлдмэлээр мэдрэгжүүлсэн хонины цусны улаан эсийн ВШБ-д бэлтгэсэн 1.4%-ийн бэлдмэлээс 25 мкл-ийг нэмэхийн өмнө шинжлэгдэхүүнийг 37°C хэмд 1 цаг инкубацлана. Урвалжийг нэмээд дахин 37°C хэмд 30 минут инкубацлан хавтанг хурилдуурдсаны дараа урвалыг уншина. Шинжлэх цийдмэг, эсрэг ийлдэс, эс, хавсаргад тохирох хяналтыг оролцуулна. Хавсарга холболтын титрийг 50% цус задрал өгч байгаа ийлдсийн урвуу шингэлэлтээр илэрхийлнэ. Хавсарга холбох титр ≥ 36 бол эерэг байна. Титрийн утга 24 байвал түүнийг эсийн өсгөвөрт зорчуулан өсгөвөрлөсөн эсрэгтөрөгчийг дахин шинжлэх замаар баталгаажуулна.

1.3. Нуклеин хүчлийг ялган таних арга

УТ-ПГУ-ыг хучуур эд, сүү, ийлдэс, УХЗ-ын сорьц зэрэг оношилгооны материалд шүлхий өвчний вирусийн геномын хэсгийг олшруулахад ашиглана. Бодит цагийн УТ-ПГУ нь вирус ялгах аргаас харьцангуй мэдрэмтгий бөгөөд уг аргыг автоматжуулснаар нэгж хугацаанд олон дээж шинжилнэ (Reid нар, 2003). Ийлдсэн хэвшил тодорхойлох праймерийг боловсруулж гаргажээ (Vangysperge & De Clercq, 1996). Хээрийн нөхцөлд хэрэглэх хялбаршуулсан УТ-ПГУ-ын аргыг хөгжүүлж байна.

1.3.1. Агарозын гельд суурилсан УТ-ПГУ-ын арга

Гельд суурилсан УТ-ПГУ тавих аргыг нийтэлжээ (Reid нар, 2000). УТ-ПГУ дараалсан гурван ажиллагаанаас бүрдэнэ: (i) шинжлэх болон хяналтын дээжээс РНХ-ийн темплатыг ялгаж авах; (ii) ялгасан РНХ-г урвуу транскрипцээр хувиргах; (iii) урвуу транскрипцээр хувиргасан бүтээгдэхүүнийг ПГУ-аар олшруулах; (iv) ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг агарозын гель электрофорезоор илрүүлэх.

1.3.2. Шинжлэх арга зүй

- i) РНХ ялгах ариун цодон дахь 1 мл урвалж дээр шинжлэх дээжээс 200 мкл нэмнэ. РНХ ялгах хүртлээ -70°C -д хадгална.
- ii) i)-д заасан уусмалаас 1 мл-ийг 200 мкл хлороформ бүхий шинэ, ариун цодонд хийнэ. Вортексоор 10-15 секунд холиод тасалгааны хэмд 3 минут тавина.
- iii) 20,000 **g**-д 15 минут хурилдуурдана.
- iv) Усан үеэс 500 мкл-ийг 1 мкл гликоген (20 мг/мл) бүхий шинэ, ариун цодонд хийгээд 500 л изопропилийн спирт (пропан-2-ол) нэмнэ. Вортексоор хэдэн секунд холино.
- v) Тасалгааны хэмд 10 минут тавьсны дараа 20,000 **g**-д 10 минут хурилдуурдана.
- vi) Цодон бүрийн дээд талын шингэнийг авсны дараа 1 мл 70% этанол нэмнэ. Вортексоор хэдэн секунд холино.
- vii) 20,000 **g**-д 10 минут хурилдуурдана.
- viii) Цодон бүрийн дээд талын шингэнийг болгоомжтой, ёроолын тунашийг хөндөхгүйгээр авна.
- ix) Цодон бүрийг тасалгааны хэмд агаарт 2-3 минут хатаана.

- x) Цодон дахь тунаш дээр нуклеазагүй болгосон 20 мкл ус нэмж цийдмэгжүүлнэ.
- xi) Урвуу транскрипцийг удахгүй эхлүүлэх бол ялгасан РНХ-ийн дээжийг мөсөнд суулгана. Энэ шатыг дамжихгүй бол -70°C -д хадгална.
Жич: РНХ ялгахдаа фенолхлороформ хэрэглэхийн оронд хаотроп давсаар задлах, РНХ-г цахиурт холбох аргад суурилсан худалдааны бэлэн цомог ашиглан ялгаж болно.
- xii) Шинжлэх дээж тус бүрд зориулсан бичил хурилдуурын 0.5 мл ариун цодонд 2 мкл дурын гексамер (20 мкг/мл), нуклеазагүй болгосон 5 мкл ус хийнэ. Энэ шингэлэгчийг бэлтгэхдээ шинжлэх дээжүүдээс гадна илүү нэг дээж нэмнэ гэж тооцон нийт дээжид хэрэглэх хэмжээгээр бөөнөөр нь бэлтгэхийг зөвлөдөг.
- xiii) Дээр дурдсан аргаар ялгасан 5 мкл РНХ нэмж цодон бүрийн эзлэхүүнийг 12 мкл болгоно. Соруураар сорох, юүлэх замаар сайтар холино.
- xiv) 70°C -д 5 минут инкубацлана.
- xv) Тасалгааны хэмд 10 минут хөргөнө.
- xvi) Инкубацийн 10 минутын хугацаанд урвуу транскриптазын холимгийг дээж бүрд дор дурдсанаар бэлтгэнэ. Шинжлэх дээжүүдээс гадна илүү нэг дээж нэмнэ гэж тооцон нийт дээжид хэрэглэх урвалын холимгийг бөөнөөр нь 1.5 мл бичил хурилдуурын цодонд бэлтгэнэ.
Эхний мушгианы буфер: $5\times$ өтгөн (4 мкл); үхрийн ийлдэсний альбумин (ҮИА) (ацетилжүүлсэн), 1 мг/мл (2 мкл); dNTPs, dATP, dCTP, dGTP, dTTP тус бүр 10 mM холимог (1 мкл); DTT, 1 M (0.2 мкл); Моолони хулганын гаралтай урвуу транскриптаза, 200 U/мкл (1 мкл).
- xvii) Рандом праймер/РНХ-ийн 12 мкл холимог дээр 8 мкл урвалын холимог нэмээд соруураар болгоомжтой холино.
- xviii) 37°C -д 45 минут инкубацлана.
- xix) ПГУ-аар олшруулалт хийхээр бол урвуу транскрипцийн холимгийг мөсөнд суулгана. Энэ шатыг дамжихгүй бол -20°C -д хадгална.
- xx) Дээж бүрд дор дурдсан аргаар ПГУ-ын холимог бэлтгэнэ. Шинжлэх дээжүүдээс гадна илүү нэг дээж нэмнэ гэж тооцон нийт дээжид хэрэглэх холимгийг бөөнөөр нь бэлтгэхийг зөвлөдөг.
Нуклеазагүй болгосон ус (35 мкл); ПГУ-ын буфер, $10\times$ өтгөн (5 мкл); MgCl_2 , 50 mM (1.5 мкл); dNTPs, dATP, dCTP, dGTP, dTTP (1 мкл) тус бүрийн 10 mM холимог; праймер 1, 10 pмол/мкл (1 мкл); праймер 2, 10 пмоль/мкл (1 мкл); Taq Полимераза, 5 нэгж/мкл (0.5 мкл).
- xxi) ПГУ-ын хавтан эсхүл бичил хурилдуурын цодон дахь шинжлэх дээж тус бүрд ПГУ-ын буфер 45 мкл нэмээд улмаар 5 мкл урвуу транскрипцийн бүтээгдэхүүнийг нэмж урвалын эцсийн эзлэхүүнийг 50 мкл болгоно.
- xxii) Үүр бүрийн агуулагдахууныг холихын тулд тохирох хурилдуураар хавтан эсхүл цодонг хурилдуурдана.
- xxiii) Хавтанг ПГУ-аар олшруулахаар дулаан сэлгэгчид хийж дараах программаар ажиллуулна:
 94°C -д 5 минут: 1 мөчлөг;
 94°C -д 1 минут, 55°C -д 1 минут, 72°C -д 2 минут: 30 мөчлөг;
 72°C -д 7 минут: 1 мөчлөг.
Лабораторид ашиглаж байгаа тухайн энзим, урвалж, ПГУ-ын багажид хамгийн зохистой гэсэн хугацаа, температурын горимыг тогтоох хэрэгтэй.
- xxiv) ПГУ-ын бүтээгдэхүүн тус бүрээс 20 мкл-ийг таслан авч 4 мкл будагч уусмалтай холиод 1.5%-ийн агарозын гелд ачаална. Электрофорез явуулсны дараа геномын 5' UTR хэсэг дэх шүлхий өвчний вирусийн нуклеотидын дарааллыг заах 328 хос суурийн толбо илэрвэл эерэг үр дүнтэй гэж үзнэ.

1.3.3. Нөөц уусмал

- i) Нуклеазагүй болгосон ус, РНХ ялгах урвалж, хлороформ, гликоген, изопропилийн спирт (пропан-2-ол), этанол, дурын гексануклеотид праймер, эхний мушгианы праймер, ҮИА (ацетилжүүлсэн), dNTPs, DTT, Моолони хулганын урвуу транскриптаза энзим, ПГУ-ын урвалын буфер ($10\times$), MgCl_2 , Taq полимераза энзим бэлэн худалдагддаг.

- ii) 10 пмоль/мкл төвшрүүлэгтэй праймер: Праймер 1 дараалал 5'-GCCTG-GTCTT-TCCAG-GTCT-3' (эерэг утгат утаслаг); праймер 2 дараалал 5'-CCAGT-CCCCT-TCTCA-GATC-3' (сөрөг утгат утаслаг).

1.3.4. Бодит цагийн УТ-ПГУ

Бодит цагийн УТ-ПГУ-аар шинжлэх болон хяналтын дээжээс нийт РНХ-г ялган авах, улмаар ялган авсан РНХ-г урвуу транскрипцлах арга зүй нь гелд суурилсан энгийн УТ-ПГУ-ын арга зүйтэй ижил юм. Дээр дурдсан гар ажиллагаанаас гадна дээжээс нуклеин хүчлийг ялгах, улмаар урвуу транскрипц, ПГУ-ын шат дамжлагын соруураар гүйцэтгэх ажлыг автоматжуулсан хувилбар бий. Урвуу транскрипц болон ПГУ-ыг нэгтгэж боловсруулсан (Shaw нар, 2007) илүү хялбар нэг шатлалт аргыг лабораториуд өргөн хэрэглэж байна. Бодит цагийн ПГУ явуулахад түүний бүтээгдэхүүнийг агарозын гелд илрүүлэх шаардлага гардаггүй.

- i) хйх шатаас урвуу транскрипцийн бүтээгдэхүүнийг авна (дээрхийг үз).
- ii) Дээж бүрд дор дурдсан аргаар ПГУ-ын холимог бэлтгэнэ. Шинжлэх дээжүүдээс гадна илүү нэг дээж нэмнэ гэж тооцон нийт дээжд хэрэглэх холимгийг бөөнөөр нь бэлтгэхийг зөвлөдөг. Үүнд: нуклеазагүй болгосон ус (6 мкл); ПГУ-ын мастер холимог, 2х өтгөн (12.5 мкл); БЦ-ПГУ-ын хөтлөх праймер, 10 пмоль/мкл (2.25 мкл); БЦ-ПГУ-ын буцаах праймер, 10 рмол/мкл (2.25 мкл); тэмдэглээт проб, 5 пмоль/мкл (1 мкл).
- iii) Бодит цагийн ПГУ-ын хавтанд шинжлэх дээж тус бүрийн үүрэнд 24 мкл ПГУ-ын урвалын буфер, дараа нь 1 мкл урвуу транскрипцийн бүтээгдэхүүн нэмж урвалын эцсийн эзлэхүүнийг 25 мкл болгоно.
- iv) Хавтангийн үүр бүрийн агуулагдахууныг хольж чадах хурилдуураар хавтанг 1 минут хурилдуурдана.
- v) ПГУ-ын олшруулалтад орох хавтанг УТ-ПГУ-ын машинд хийж дараах программаар ажиллуулна:
 - 50°C 2 минут: 1 мөчлөг;
 - 95°C 10 минут: 1 мөчлөг;
 - 95°C 15 секунд, 60°C 1 минут: 50 мөчлөг.

Лабораторид ашиглаж байгаа тухайн энзим, урвалж, ПГУ-ын багажид хамгийн зохистой гэсэн хугацаа, температурын горимыг тогтооно.

- vi) *Үр дүнг унших*: ПГУ-ын урвал бүрд босго мөчлөгийн (СТ) утгыг олшруулалтын муруйгаас (флюоресценцийн дохиог мөчлөгийн тоотой харьцуулсан муруй; дээжийн төрлөөс хамаарч өөр өөр босго утгатай байж болно; Parida нар, 2007) тодорхойлно. Шүлхий өвчний вируст эерэг эсхүл сөрөг дээж гэж зааглах СТ босго утгыг лаборатори бүр лавлагааны тохирох материал ашиглан тогтооно. Жишээ нь Прибрайт дахь ДМАЭМБ-ын лавлах лабораторид шинжилсэн сөрөг дээж, сөрөг хяналтын СТ утга >50.0 байх ба эерэг дээж, эерэг хяналтын СТ утга <40 байх ёстой. СТ утга нь 40-50 хооронд байгаа дээж “улаан шугам”-д байгаа учир дахин шинжилнэ. Шүлхий өвчний илт эерэг дээжийн СТ утга 20.0-иос доош байна (Reid нар, 2001)

1.3.5. БЦ-ПГУ-д хэрэглэх нөөц уусмал

- i) Нуклеазагүй болгосон ус, БЦ-ПГУ-ын урвалын холимгийг нийлүүлэгч газраас авна.
- ii) Шүлхий өвчний вирусийн БЦ-ПГУ-д дараах хоёр праймер, пробын багцын аль алиныг нь хэрэглэж болно:
 - 5'UTR (Reid нар, 2001)
Хөтлөх праймер: CACYT-YAAGR-TGACA-YTGRT-ACTGG-TAC;
Буцаах праймер: CAGAT-YCCRA-GTGWG-ICITG-TTA;
Тэмдэглээт проб: CCTCG- GGGTA-CCTGA-AGGGC-ATCC.
 - 3D (Callahan нар, 2002)
Хөтлөх праймер: ACTGG-GTTTT-ACAAA-CCTGT-GA;
Буцаах праймер: GCGAG-TCCTG-CCACG-GA;
Тэмдэглээт проб: TCCTT-TGCAC-GCCGT- GGGAC.

1.3.6. Молекул эпидемиологи

Шүлхий өвчний молекул эпидемиологи нь өвчин үүсгэгч вирус хоорондын генетик ялгааг харьцуулж судлахад үндэслэгдэнэ. Шүлхий өвчний вирусийн VP1 уургийг кодлогч 1D генийн дараалалд суурилан бүх долоон ийлдсэн хэвшлийн хээрийн болон вакцины омгийн геномын

хамаарлыг харуулсан удмын мод нийтлэгдсэн байна (Knowles, Samuel, 2003; <http://www.wrlfmd.org/>). Вирусийн геномын бүрэн дарааллыг харьцуулснаар ойр хамаарал бүхий вирусийг ялгаварлаж болох ба өвчний голомтод байгаа аж ахуйн хооронд халдвар дамждаг замыг тогтооход дөхөм болно (Cottam нар, 2008). Шүлхий өвчний вирусийн РНХ-г УТ-ПГУ-аар олшруулсны дараа нуклеотидийн дарааллыг тогтоох нь эдгээр харьцуулалт хийхэд шаардагдах дараалал тогтооход тохирсон орчин үеийн арга юм. Эдгээр судалгааны аргыг олон лабораторид боловсруулсан бөгөөд нуклеотидийн 6000 гаруй хэсэгчилсэн дараалал бүхий баримт, мэдээллийг лавлах лабораториуд хадгалж байна.

VP1 уургийн шинжилгээнд зөвлөсөн арга нь:

- i) Шүлхий өвчний вирусийн РНХ-г хучуур эдийн цийдмэгээс эсхүл эсийн өсгөвөрт цөөн зорчуулсан материалаас шууд ялгаж авна.
- ii) УТ-ПГУ-аар 1D генийг бүхэлд нь (эсхүл хэрэв 1D гений зөвхөн нэг хэсгийг сонгох бол тухайн генийн 3' төгсгөлийн хэсгийг ашиглах нь илүү ач холбогдолтой) тодорхойлно.
- iii) ПГУ-ын бүтээгдэхүүний нуклеотидийн дарааллыг тодорхойлно (эсхүл генийн 3' төгсгөлд наад зах нь 170 нуклеотид [SAT хэвшилд бол 420 байвал тохиромжтой]).

Праймерийн дараалал бүхий бүрэн арга зүй байгаа (Knowles нар, 2016) ба түүнийг дараах веб хуудаснаас татан авч болно: <http://www.wrlfmd.org/> <http://bvs.panaftosa.org.br/>

2. Ийлдэс судлалын арга

Шүлхий өвчний тухайд ийлдэс судлалын шинжилгээг дараах дөрвөн үндсэн зорилгоор хийнэ: 1) импорт, экспортын өмнө бодгаль мал, амьтны эрүүл болохыг баталгаажуулах; 2) шүлхий өвчний сэжигтэй тохиолдлыг баталгаажуулах; 3) халдвар байхгүйг нотлох; 4) вакцинжуулалтын үр нөлөөг үнэлэх.

Халдваргүй болсныг нотлохын тулд тухайн популяцийг вакцинжуулсан эсэх, хэрэв вакцинжуулсан бол яаралтай горимоор эсхүл төлөвлөгөөний дагуу вакцинжуулснаас хамааран янз бүрийн арга хэрэглэнэ. Дээр дурдсан зорилготой уялдуулан төрөл бүрийн шинжилгээний арга хэрэглэх, үр дүнг янз бүрээр боловсруулах нь зүйтэй. Жишээ нь сүргийн түвшинд хийх ийлдэсний тандах шинжилгээний босго утгыг бодгаль мал, амьтан халдваргүй болохыг олон улсын худалдааны зорилгоор баталгаажуулахад тохирох хэмжээнээс өөр байхаар тогтоож болно.

Шүлхий өвчний ийлдэс судлалын шинжилгээ нь вирусийн бүтцийн уураг (БУ) илрүүлэх болон вирусийн бүтцийн бус уураг (ББУ) илрүүлэх гэсэн хоёр төрөл байна.

Бүтцийн уургийн шинжилгээ нь ийлдсэн хэвшилд харьцангуй өвөрмөц арга бөгөөд үүнд вакцинжуулалт болон халдвараас үүссэн эсрэг бие илрүүлдэг вирус саармагжуулах урвал (BCU) (Golding нар, 1976), хатуу фазат өрсөлдөөнт ЕЛИЗА (SPCE; Brocchi нар, 1990; Chenard нар, 2003; Mackay нар, 2001; Paiba нар, 2004), шингэн фазат саатуулагч ЕЛИЗА (LPBE; Hamblin нар, 1986; 1987) юм. Эдгээр аргад тухайн нутаг оронд эргэлдэж байгаа вируст ойр хамаарал бүхий вирус эсхүл эсрэгтөрөгч хэрэглэсэн тохиолдолд түүний мэдрэх чанар өндөр байна. Олон улсын худалдааны зорилгоор хийх шилжилт хөдөлгөөний өмнө мал, амьтны баталгаажуулалтад хэрэглэх шинжилгээ нь вакцинжуулаагүй мал, амьтанд өмнө нь тохиолдсон болон одоо байгаа халдварыг баталгаажуулах, орон нутагт хийсэн вакцинжуулалтаас үүссэн дархлаанд хяналт-шинжилгээ хийхэд тохиромжтой юм. BCU тавихад эсийн өсгөврийн төхөөрөмж, амьд вирус шаардагдах ба 2-3 хоногийн дараа үр дүн гарна. Эсийн өсгөвөр, амьд вирус ашигладаггүй, шүлхийн вирусийн ийлдсэн хэвшилд өвөрмөц, өөр гарлын эсхүл ижил гарлын эсрэг бие ашигладаг, саатуулагч эсхүл өрсөлдөөнт урвалд суурилсан түргэн шинжилгээ болох ЕЛИЗА аргууд бий. Аль ч ЕЛИЗА аргаар шинжлэхэд цөөн тооны ийлдэс нам титртэйгээр хуурамч эерэг урвал өгч болзошгүйг анхаарах хэрэгтэй. ЕЛИЗА урвалаар эерэгийг илрүүлж BCU-аар баталгаажуулах аргыг хослуулбал эерэг урвалын тоо цөөрнө. Шүлхий өвчний үүсгэгчийн ийлдсэн хэвшил, дэд хэвшлийг тогтоох БУ-ийн ийлдэс судлалын аргыг стандартчилах лавлагааны ийлдсийг ДМАЭБ-ын Прибрайт дахь лавлах лабораториос авч болно.

Шүлхий өвчний вирусийн ББУ-ийн эсрэг бие илрүүлэх аргыг вирусийн долоон ийлдсэн аль ч хэвшлээр үүссэн өмнөх болон одоогийн халдварыг тогтооход мал, амьтныг вакцинжуулсан эсэхээс үл хамааран хэрэглэж болно. Ийм учраас энэ шинжилгээг шүлхий өвчний сэжигтэй тохиолдлыг баталгаажуулах, халдварын тархалтыг тогтоох, эсхүл халдвараас ангижирсныг популяцийн түвшинд нотлоход хэрэглэнэ. Энэ арга нь вирусийн ийлдсэн хэвшил нь тогтоогдоогүй байсан ч худалдааны зорилгоор мал, амьтанд баталгаажуулалт хийж болдгоороо БУ-ийн аргаас давуу юм. Гэвч вакцинжуулсны дараахан амьд вирусээр халдвар хийсэн зарим үхэрт вирусийн халдвар орогнож үлдсэн нь батлагдчихсан байхад халдвар илрүүлэх ЕЛИЗА шинжилгээгээр ББУ-ийн эсрэг бие илрээгүй буюу хуурамч сөрөг дүн үзүүлсэн нь туршилтаар нотлогджээ (Brocchi нар, 2006). ББУ-ийн эсрэг бие илрүүлэх эдгээр шинжилгээнд төрөл бүрийн *in-vitro* экспрессийн системд рекомбинант технологиор бэлтгэсэн эсрэгтөрөгчийг ашигласан байна. Ерөнхийдөө ЗАВ эсхүл ЗАВС нийлмэл уургийн эсрэг бие нь халдварыг илрүүлэх хамгийн найдвартай илтгүүр гэж үзсэн (Mackay нар, 1997) байна. Ийлдсэндээ ЗАВ эсхүл ЗАВС эсрэг биетэй мал, амьтанд ББУ-ийн эсрэг бие илрүүлэх бусад нэг эсхүл хэд хэдэн аргаар шинжлээд үр дүнд боловсруулалт хийж болно (Bergmann нар, 2000; Mackay нар, 1997). Гэвч вакцины цэвэршүүлэлт муу байх нь оношилгооны өвөрмөц чанарт нөлөөлөх учраас ББУ агуулсан зарим вакцинаар дахин давтан вакцинжуулсан мал, амьтанд буруу үр дүн гарч болзошгүй юм. Вакцины цэвэршүүлэлтийг үнэлэх аргыг энэ бүлгийн Д хэсэгт оруулав.

Үхэр шинжлэхэд зориулан Бразил, Англи улс дахь ДМАЭМБ-ын лавлах лабораторид боловсруулсан олон улсын стандарт ийлдэс бэлэн бий (Campos нар, 2008). Цаашид хонь, гахайд зориулсан стандарт ийлдэс бэлтгэнэ. ББУ-ийн эсрэг бие тодорхойлох шинжилгээний мэдрэх чанарыг харьцуулах үхрийн ийлдсийн цомгийг боловсруулж бэлтгээд байна (Parida нар, 2007).

2.1. Вирус саармагжуулах урвал

Шүлхий өвчний вирусийн эсрэг бие тоон утгаар тодорхойлох вирус саармагжуулах бичил шинжилгээг хавтгай ёроолтой, эсийн өсгөврийн зориулалтын бичил хавтанд IB-RS-2, ВНК-21, хурга эсхүл торойн бөөрний эс ашиглан хийнэ.

Эх вирусийг дан үе эсэд өсгөвөрлөх ба 50% глицерин нэмсний дараа -20°C -д хадгална (энэ нөхцөлд вирус наад зах нь нэг жил тогтвортой байна). Ийлдсийг шинжлэхийн өмнө 56°C -д 30 минут идэвхгүйжүүлнэ. Хяналтын стандарт ийлдэс нь эдгэрснээс хойш эсхүл вакцин тарьснаас хойш 21 хоногийн дараа авсан ийлдэс байна. НЕРЕС буфер болон антибиотик бүхий Ийглийн бүрэн тэжээлт орчин/LYH (Хэнксийн лактоальбумины усан задаргаар балансжуулсан давс) сайн тохирно.

Шинжилгээг 50 мкл эзлэхүүнд хийнэ.

2.1.1. Шинжлэх арга зүй

- i) Ийлдэс тус бүрийг наад зах нь хавтангийн хоёр мөр, болж өгвөл 4 мөрөнд $\frac{1}{4}$ шингэлэлтээс эхлээд хоёр дахин дараалан шингэлэлт хийнэ. Эзлэхүүн нь 50 мкл.
- ii) Титрийг нь урьдчилж тогтоосон вирусийг нэмнэ: вирусийн цийдмэгийн 50 мкл нэгж эзлэхүүн бүр 100 TCID₅₀ (эдийн өсгөврийн халдварлах тунгийн 50%) орчим агууламжтай байх ба энэ нь зөвшөөрөгдөх хязгаарт (жишээ нь: 32– 320 TCID₅₀) багтсан байна.
- iii) Хяналтуудад титр нь тогтоогдсон стандарт эсрэг ийлдэс, эсийн хяналт, тэжээлт орчны хяналт орох ба вирусийн бодит титрийг тооцоолоход ашигласан вирусийн титрлэлтийг шинжилгээнд ашиглана.
- iv) Хавтанг бүрхээд 37°C -д 1 цаг инкубацлана.
- v) Үхрийн ийлдэс (өвөрмөц эсрэг бие агуулаагүй) 10%-иар агуулсан эсийн өсгөврийн орчинд 10^6 эс/мл бүхий эсийн цийдмэг бэлтгэнэ. Үүр бүрд 50 мкл эзлэхүүнтэй эсийн цийдмэгийг нэмнэ.
- vi) Хавтанг наалддаг бүрхүүлээр хулдаад 37°C -д 2-3 өдөр инкубацлана. Эсхүл хавтанг сулхан таглаад 37°C -д нүүрс хүчлийн давхар исэл 3-5% агуулсан агаартай орчинд 2-3 өдөр инкубацлана.
- vii) 48 цагийн дараа микроскопоор үнэлэх боломжтой болно. Эцэст нь хавтанг бэхжүүлээд гурав дахь өдөр нь будна. Бэхжүүлэхдээ 10%-ийн формалинтай давсны уусмалаар 30 минут үйлчлүүлнэ. Хавтанг 10%-ийн формалинд уусгасан 0.05%-ийн метилийн хөхийн уусмалд 30 минут дүрж будна.
Нафталины хөхийн хар уусмал (Физиологийн уусмалд 0.4%-иар нафталины хөхийн хар, 8% [ж/э] нимбэг хүчил)-ыг бэхжүүлэх/будах уусмалаар бас хэрэглэж болно. Хавтанг гоожуурын усаар зайлж угаана.
- viii) Эерэг урвалтай үүр (энд вирус саармагжих ба эс хөндөгдөлгүй хэвээр үлдэнэ) нь хөхөөр будагдсан эсийн үе агуулдаг бол сөрөг үүр нь хоосон (энд вирус саармагжихгүй) байна. Нийт үүрний 50%-нь хамгаалагдсан ийлдэс/вирусийн холимог дахь ийлдсийн эцсийн шингэлэлтээр титр нь илэрхийлэгдэнэ (Kärber, 1931). Үүр тутамд ашигласан вирусийн тоо $\log_{10}$ 1.5–2.5 TCID₅₀ хязгаарт, эерэг стандарт ийлдсийн титр түүний тооцоолсон титрээс хоёр дахин их хэмжээнд багтаж байгаа нөхцөлд шинжилгээг хүчинтэй гэж үзнэ.

Сөрөг/эерэгийг тогтоох босго хэмжээтэй холбоотойгоор лаборатори бүрд шинжилгээний үр дүн өөр байж болно. Лабораториуд Прибраит дахь ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториос стандарт урвалж авч түүнийг үндэслэн өөрийн шалгуурыг тогтоох нь зүйтэй. Ерөнхийдөө, ийлдэс/вирусийн холимог дахь ийлдсийн эцсийн шингэлэлтийн титр нь $\frac{1}{45}$ ба түүнээс дээш бол эерэгт тооцно. Титр нь $\frac{1}{16}$ -аас бага бол сөрөг гэж үзнэ. Олон улсын худалдааны зорилгоор мал, амьтанд нэг бүрчлэн гэрчилгээ олгоход титр $\frac{1}{16}$ - $\frac{1}{32}$ байвал эргэлзээтэй гэж үзэн ийлдэсний сорьц дахин авч шинжилж болно. Хоёр дахь сорьц ийлдэсний титр $\frac{1}{16}$, түүнээс их байвал эерэг гэж үзнэ. Статистикийн хувьд хүчин төгөлдөр ийлдэсний шинжилгээний нэг хэсэг болгон тандалтыг сүргийн төвшинд хийх зорилготой бол босго утгыг $\frac{1}{45}$ гэж тогтоох нь тохиромжтой байж болно. Вакцинжуулалтын дараах дархлааны хамгаалалтыг үнэлэх босго хэмжээг тухайн вакцин болон вакцинжуулсан мал, амьтанд хийсэн вакцины идэвхийн шинжилгээний дүнтэй уялдуулан тогтооно.

2.2. Хатуу фазат өрсөлдөөнт ЕЛИЗА

Энэхүү аргыг (Paiba нар, 2004) шүлхий өвчний вирусийн долоон ийлдсэн хэвшлийн эсрэг үүссэн эсрэг биеийг илрүүлэхэд хэрэглэнэ. Усан гахайн эсхүл туулайн эсрэг ийлдсийн оронд тохирох ижил гарлын эсрэг биеийг ЕЛИЗА хавтангийн үүрийн ханыг бүрээд баригч эсрэг бие эсхүл пероксидазатай конъюгатлаад илрүүлэгч эсрэг бие болгон ашиглаж болно (Broschi нар, 1990). Шүлхий өвчний вирусийн О хэвшил (Chenard нар, 2003) болон А, Ази 1, САТ 2 хэвшилд зориулсан ИГЭБ-д суурилсан төрөл бүрийн форматтай боловч гүйцэтгэлийн үзүүлэлтээрээ ижил төстэй цомгууд худалдаанд гарчээ.

Шүлхий өвчний вирусийн долоон ийлдсэн хэвшлийн аль нэгнийх нь 146S эсрэгтөрөгчийн эсрэг туулайн ийлдсийг урьдчилж сайтар тохируулсан төвшрүүлэг бүхий карбонат/бикарбонатын рН 9.6 буфер орчинд баригч эсрэг бие болгон хэрэглэнэ.

Вакцин үйлдвэрлэхэд мөрддөг аргын дагуу этиленэмин бүхий эсийн өсгөвөрт өсгөвөрлөн идэвхгүйжүүлсэн вирусээр эсрэгтөрөгчийг бэлтгэнэ. Сонгосон эцсийн шингэлэлт нь ижил эзлэхүүнтэй шингэлэгч нэмсний дараа титрлэлтийн муруй дахь шулуун мужийн дээд хэсэгт гэрэл шингэлт өгч байх (гэрлийн нягт ойролцоогоор 1.5) шингэлэлт юм. Шингэлэгчээр (саатуулагч буфер) 0.05%-ийн Твин 20, 10%-ийн үхрийн хэвийн ийлдэс, 5%-ийн туулайн хэвийн ийлдэс, фенолын улаан индикатор агуулсан ФБУ-ыг хэрэглэнэ (ТФБУ).

Шүлхий өвчний вирусийн долоон хэвшлийн аль нэгнийх нь 146S эсрэгтөрөгчөөр усан гахайд халдвар хийж бэлтгээд үхрийн хэвийн ийлдсээр урьдчилан саатуулсан усан гахайн эсрэг ийлдсийг илрүүлэгч эсрэг бие болгон ашиглана. Урьдчилан тооцоолсны дагуу түүнийг хамгийн оновчтой төвшрүүлгээр Твин 20-ыг 0.05%, хатаасан, тослоггүй хуурай сүү 5%-иар агуулсан ФБУ-д бэлтгэнэ (ТСФБУ).

Усан гахайн эсрэг үүссэн туулайн (эсхүл хонь) иммунглобулиныг тунхууны пероксидазатай конъюгатлаад үхрийн хэвийн ийлдсээр саатуулж, оновчтой төвшрүүлгийг нь урьдчилж тооцоолсон ТСФБУ саатуулагч буферт бэлтгэж конъюгатаар ашиглана.

Шинжлэх ийлдсийг ТСФБУ саатуулагч буферээр шингэлнэ.

Хатуу фазат өрсөлдөөнт ЕЛИЗА нь шингэн фазат саатуулагч ЕЛИЗА-аас илүү өвөрмөц чанартай ч мэдрэх чанараар ижил (Maskay нар, 2001; Paiba нар, 2004) юм. Хоёрдогч болон ажлын стандарт ийлдэс бий болгох (Goris & De Clercq, 2005b), график байгуулан шинжилгээнд дүн шинжилгээ хийхэд (Goris & De Clercq, 2005b) зориулсан аргыг боловсруулжээ.

2.2.1. Шинжлэх арга зүй

- i) Хэрэглэж байгаа эсрэгтөрөгчтэй гомолог бөгөөд карбонат/бикарбонатын рН 9.6 буферээр шингэлсэн 50 мкл туулайн эсрэг ийлдсээр ЕЛИЗА хавтангийн үүрийн ханыг бүрээд чийгээ байрдаг хайрцагт 4°C-д хонуут байлгана.
- ii) ЕЛИЗА хавтанг ФБУ-аар гурав дахин угаана.
- iii) Дараа нь ЕЛИЗА хавтангийн үүр бүрд саатуулагч буферээр шингэлсэн шүлхий өвчний вирусийн эсрэгтөрөгч 50 мкл нэмнэ (саатуулагч буфер: 0.05% [ж/э] Твин 20, 10% [э/э] үхрийн хэвийн ийлдэс, 5% [э/э] туулайн хэвийн ийлдэс). Хавтанг бүрээд эргэлдэх тавцантай холигч дээр 37°C хэмд 1 цаг тавьж тасралтгүй холино.
- iv) ФБУ-аар гурав дахин угаасны дараа үүр бүрд 40 мкл саатуулагч буфер хийгээд улмаар 10 мкл шинжлэх ийлдэс (эсхүл хяналтын ийлдэс) нэмж ийлдсийн анхны шингэлэлтийг 1/5 болгоно.
- v) Саатуулагч буферээр шингэлсэн шүлхий өвчний вирусийн эсрэг усан гахайн 50 ийлдсийг яаралтай нэмж ийлдсийн эцсийн шингэлэлтийг 1/10 болгоно.
- vi) Хавтанг бүрхээд эргэдэг тавцантай холигч дээр 37°C хэмд 1 цаг тавьж инкубацлана.
- vii) ФБУ-аар гурван удаа угаасны дараа саатуулагч буферт шингэлсэн усан гахайн эсрэг иммунглобулины конъюгат (ижил хэмжээний үхрийн хэвийн ийлдэстэй хольж тасалгааны хэмд 1 цаг тавих замаар урьдчилан идэвхгүйжүүлсэн) 50 мкл-ийг нэмнэ.
- viii) ФБУ-аар гурван удаа угаасны дараа үүр бүрд 0.05%-ийн H₂O₂ болон ортофенилен ди-амин эсхүл өөр тохирох хромоген агуулсан 50 мкл субстратын уусмал нэмнэ.
- ix) 1М хүхрийн хүчил 50 мкл-ийг нэмснээс хойш 10 минутын дараа урвал зогсоно. Хавтанг компьютерт холбосон спектрофотометрийн 492 нм-д уншина.
- x) *Хяналт*: хавтан бүрд хоёр үүрийг конъюгатын хяналтад (усан гахайн ийлдэс биш), дөрвөн үүрийг илт эерэг болон сул эерэг ийлдсэнд, хоёр үүрийг сөрөг ийлдсэнд, дөрвөн үүрийг 0% өрсөлдөх урвалд хэрэглэнэ.

- xi) *Үр дүнг үнэлэх:* ЕЛИЗА хавтан дахь шүлхий өвчний вирусийн эсрэгтөрөгчтэй тухайн шинжилж байгаа ийлдэс болон шүлхий өвчний вирусийн эсрэг үүссэн усан гахайн эсрэг ийлдэс хоорондын өрсөлдөөнт холбогдолтыг илэрхийлдэг саатлын хувийг хавтангийн үүр бүрд энгийн тооцооны аргаар эсхүл компьютерийн тохирох программ ашиглан тооцоолно ($100 - [\text{шинжлэх ийлдэс эсхүл хяналтын ийлдэс тус бүрийн гэрлийн нягтын утга} / 0\% \text{ өрсөлдөх урвалын гэрлийн нягтын дундаж}] \times 100\%$). Лабораториуд 1.1.6. *Халдварт өвчний оношлох шинжилгээний баталгаажуулалтын зарчим, арга* бүлэгт тодорхойлсон аргыг хэрэглэн шинжилгээний босго утгаас давсан ийлдсийг эерэг гэж үзэхдээ (i) тухайн судалж байгаа вирусийн ийлдсэн хэвшил, омог (ii) шинжилгээний зорилго (iii) шинжилсэн популяцийг харгалзан баталгаажуулна. Халдварт өртөөгүй бүх төрлийн амьтны популяцид О ийлдсэн хэвшлийн халдвараар тайван гэдгийг харуулах шинжилгээний урвалын саатал 60%-аас дээш байвал эерэг гэж Прибрайт дахь ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори үздэг байна (Paiba нар, 2004). Олон улсын худалдааны зорилгоор мал, амьтан нэг бүрд гэрчилгээ олгох гэх мэт ажилд шүлхийн халдварыг дээд зэргээр мэдэрч илрүүлэх шаардлагын үүднээс хэрэв урвалын саатлын хувь 40-60-ын хооронд байвал үр дүнг тодорхойгүй гэж үзэхээр тогтоож болно.

2.3. Шингэн фазат саатуулагч ЕЛИЗА

Шүлхий өвчний вирусээс сонгосон омгийг ВНК-21 дан үе эсэд ургуулж эсрэгтөрөгчийг бэлтгэнэ. Дээд талын цэвэршүүлээгүй шингэнийг ашиглах ба ийлдэс хэрэглэлгүй хийсэн дараалсан хоёр дахин шингэлэлтэд титрийг урьдчилан тогтооно. Сонгосон эцсийн шингэлэлт нь ижил эзлэхүүнтэй шингэлэгч нэмсний дараа титрлэлтийн муруй дахь шулуун мужийн дээд хэсэгт гэрэл шингээлт өгч байх (гэрлийн нягт ойролцоогоор 1.5) шингэлэлт юм. Шингэлэгчээр Твин 20-ыг 0.05%-иар болон фенолын улаан индикатор агуулсан ФБУ-ыг хэрэглэнэ (ТФБУ). Шинжилгээнд хэрэглэх бусад урвалж нь хатуу фазат саатуулагч ЕЛИЗА-ийн урвалжтай адилхан. Шинжилгээний аргын жишээг дор тодорхойлов. Арга зүйгээс хамааран температур, инкубацийн хугацаа хэлбэлзэнэ.

2.3.1. Шинжлэх арга зүй

- i) Хэрэглэж байгаа эсрэгтөрөгчтэй гомолог туулайн эсрэг ийлдсээр ЕЛИЗА хавтангийн үүр тус бүрийн ханыг бүрээд чийгээ барьдаг хайрцагт 4°C-д хонуут байлгана.
- ii) ЕЛИЗА хавтанг ФБУ-аар гурав дахин угаана.
- iii) У-ёроолтой олон үүртэй хавтанд (шингэлэлт хийх хавтан) шинжлэх ийлдэс тус бүрээс 1/8 шингэлэлтээр эхэлж дараалан хоёр дахин шингэлсэн, 50 мкл хос дээж бэлтгэнэ. Хавтангийн үүрийн ханыг бүрэхэд ашигласан туулайн эсрэг ийлдсэнд гомолог вирусийн эсрэгтөрөгчийн тогтмол 50 мкл тунг үүр бүрд нэмээд холимгийг хонуут 4°C-д тавих эсхүл 37°C-д 1 цаг инкубацлана. Эсрэгтөрөгчийг нэмснээр ийлдсийн эцсийн шингэлэлт 1/16 болж нэмэгдэнэ.
- iv) Дараа нь шингэлэлт хийсэн хавтангаас ийлдэс/эсрэгтөрөгчийн 50 холимгийг туулайн ийлдсээр бүрсэн ЕЛИЗА хавтанд шилжүүлээд эргэдэг тавцантай холигч дээр хавтанг тавьж 37°C-д 1 цаг инкубацлана.
- v) Угаасны дараа өмнөх (iv) шатанд хэрэглэсэн эсрэгтөрөгчтэй гомолог 50 мкл усан гахайн эсрэг ийлдсийг (үхрийн хэвийн ийлдсээр саатуулалт хийж тосгүйжүүлсэн хуурай сүү 5% агуулсан ТФБУ-аар шингэлсэн) үүр бүрд нэмнэ. Эргэдэг тавцантай холигч дээр хавтанг тавьж 37°C-д 1 цаг инкубацлана.
- vi) Хавтанг угаагаад үүр бүрд тунхууны пероксидазатай конъюгатласан усан гахайн эсрэг туулайн 50 мкл иммуноглобулин (үхрийн хэвийн ийлдсээр саатуулалт хийж тосгүйжүүлсэн хуурай сүү 5% агуулсан ТФБУ-аар шингэлсэн) нэмнэ.
- vii) ФБУ-аар гурван удаа угаасны дараа үүр бүрд 0.05%-ийн H₂O₂ болон ортофенилен диамин эсхүл өөр тохирох хромоген агуулсан 50 мкл субстратын уусмал нэмнэ.
- viii) 1М хүхрийн хүчил 50 мкл-ийг нэмснээс хойш 15 минутын дараа урвал зогсоно. Хавтанг компьютерт холбосон спектрофотометрийн 492 нм-д уншина.
- ix) *Хяналт:* Хавтан тус бүрд үхрийн эцсийн шингэлэлт 1/32 бүхий лавлагааны илт эерэг, сул эерэг, сөрөг ийлдэс тус бүрд наад зах нь дөрвөн үүрийг, мөн урвалын хяналт (эсрэгтөрөгч) болгон шингэлсэн эсрэгтөрөгчийг дангаар нь ийлдэсгүйгээр хийх дээрхтэй адил тооны үүрийг сонгоно. Төгсгөлийн цэгийн титрийн шинжилгээ хийх бүрдээ наад зах нь нэг хавтанд үхрийн лавлагааны гомолог эерэг, сөрөг ийлдсийг хоёр дахин шингэлээд хосоор нь оруулж шинжилнэ.

Үр дүнг үнэлэх: Төгсгөлийн цэгийн титрийн 50%-иар эсрэг биеийн титрийг илэрхийлэх буюу өөрөөр хэлбэл шинжлэх ийлдсийн урвал нь хяналтын үүрэн дэх урвалын (эсрэгтөрөгч) гэрлийн нягтын дундаж саатлын 50%-тай тэнцэх үр дүн (Kärber, 1931) өгч

байгаа шингэлэлт юм. Энэ дунджийг урвалын хяналтын үүрнүүдийн хоёр дундын утгын дунджаар тооцож, хамгийн их ба хамгийн бага онцгойрсон утгыг тооцооноос хасна (өөрөөр хэлбэл, хавтангийн үүр хоорондын хэлбэлзлийг хянахын тулд тохирох хүлцлийн хязгаарыг тогтоосны дараа дундаж утгыг ашиглаж болно). Ерөнхийдөө ийлдэсний эцсийн шингэлэлтийн титр нь 1/90 ба түүнээс дээш бол эерэгт тооцно. Титр нь 1/40-өөс бага бол сөрөг гэж үзнэ. Олон улсын худалдааны зорилгоор мал, амьтанд нэг бүрчлэн гэрчилгээ олгоход титр 1/40-өөс их, 1/90-ээс бага байвал эргэлзээтэй гэж үзэн ийлдсийн сорьц дахин авч шинжилж болно. Хоёр дахь дээжийн титр 1/40, түүнээс их байвал эерэг гэж үзнэ. Статистикийн хувьд хүчин төгөлдөр ийлдсийн шинжилгээний нэг хэсэг болгон тандалтыг сүргийн түвшинд хийх зорилготой бол босго утгыг 1/90 гэж тогтоох нь тохиромжтой байж болно. Вакцинжуулалтын дараах дархлааны хамгаалалтыг үнэлэх босго хэмжээг тухайн вакцин болон вакцинжуулсан мал, амьтанд хийсэн вакцины идэвхийн шинжилгээний дүнтэй уялдуулан тогтооно.

2.4. Бүтцийн бус уургийн эсрэг биеийн шинжилгээ

Шүлхий өвчний вирусийн бүтцийн бус уургийн (3A, 3B, 2B, 2C, 3ABC зэрэг) экспресслэгдсэн рекомбинант эсрэг бие нь төрөл бүрийн ЕЛИЗА шийдлийн арга эсхүл иммунблотын аргад хэрэглэгдэнэ. Эдгээр ЕЛИЗА аргад хэрэглэх цэвэршүүлсэн эсрэгтөрөгчийг бичил хавтангийн үүрний хананд шууд шингээх эсхүл хагас цэвэршүүлсэн бэлдмэлээс эсрэгтөрөгчийг барьж холбогдох өөр гарлын эсхүл ижил гарлын эсрэг биеийг хэрэглэнэ (Bergmann нар, 2000; De Diego нар, 1997; Maskau нар, 1997; Sorensen нар, 1998). Панафтоза хүрээлэнд хэрэглэдэг илрүүлэх шинжилгээний аргыг дор дэлгэрэнгүй өгүүлэв. Үхрийн 3ABC уургийн эсрэг бие илрүүлэх шууд бус болон өрсөлдөөнт бусад ЕЛИЗА нь оношилгооны үр дүнгээрээ ижилхэн байгаа нь тогтоогджээ (Broschi нар, 2006). Эдгээр аргуудаар хийсэн шинжилгээгээр тавьсан оношилгооны үр дүн үхэр, хонь, гахайд адилхан байсан гэсэн Панафтозагийн урьдчилсан дүнтэй энэхүү судалгааны дүн нийцтэй байна. Үхэр болон бусад мал, амьтанд шүлхий өвчний вирусийн ББУ-ийн эсрэг биеийг баталгаатай илрүүлэх бэлэн цомгууд худалдаанд гарсан байна.

2.4.1. Энзим холбоот дархлааны шууд бус урвал

2.4.1.1. Рекомбинант эсрэгтөрөгч бэлтгэх

Б.2.4.2. Энзим холбоот дархлааны электрофорезийн арга үзнэ үү.

2.4.1.2. Шинжилгээний арга зүй

- i) Карбонат/бикарбонатын pH 9.6 буферт 1 мкг/мл-ээр бэлтгэсэн 3ABC нэгдмэл эсрэгтөрөгчөөр бичил хавтангийн үүрийг (үүр бүрд 100 мкл) 4°C-д хонуут бүрнэ. 3ABC эсрэгтөрөгчийг энзим холбоот дархлааны электрофорезийн аргаар (EITB) шинжилгээ хийх хэсэгт заасантай ижил аргаар экспресслээд улмаар цэвэршүүлжээ (Neizert нар, 1991)
- ii) Хавтанг 0.05%-ийн Твин 20 нэмсэн, pH 7.2 бүхий ФБУ-аар зургаан удаа угаана.
- iii) ФБУ, Твин 20, 5%-ийн тосгүй хуурай сүү, 10%-ийн адууны ийлдэс, 0.1%-ийн *Escherichia coli* задардас агуулсан саатуулагч буферт 1/20 шингэлсэн шинжлэх ийлдэс (үүр бүрд 100 мкл) нэмнэ. Хавтан бүрд дор тодорхойлсон олон улсын стандарт ийлдэстэй харьцуулж тохируулга хийсэн илт эерэг, сул эерэг, сөрөг ийлдсийг бүрдлээр нь оруулна.
- iv) Хавтанг 37°C хэмд 30 минут инкубацлаад ТФБУ-аар зургаан удаа угаана.
- v) Тухайн зүйл амьтны эсрэг туулайн IgG-г тунхууны пероксидазатай конъюгатлаад саатуулагч буферт хамгийн оновчтойгоор шингэлж үүр бүрд 100 мкл нэмж хавтанг 37°C хэмд 30 минут инкубацлана.
- vi) Зургаан удаа угаасны дараа үүр бүрд фосфатцитратын pH 5.5 буферт 3'3', 5'5'-тетраметилбензидинээс гадна 0.004% (ж/э) H₂O₂ агуулсан 100 мкл уусмал хийнэ.
- vii) 0.5M хүхрийн хүчил 100 мкл-ийг нэмснээс хойш 15 минутын дараа урвал зогсоно. Гэрэл шингээлтийг 450 нм-д, залруулга хийх гэрэл шингээлтийг 620 нм-д хэмжинэ.
- viii) *Үр дүнг үнэлэх:* Урвалын үр дүнг хүчтэй эерэг хяналттай харьцуулсан эерэг урвалын хувиар [(шинжилсэн дээж эсхүл хяналтын үүрний гэрлийн нягт/хүчтэй эерэг хяналтын гэрлийн нягт) × 100] эсхүл үүний оронд дээжийн үзүүлэлтийг хяналтынхтай харьцуулсан индексийг босго утагд (эерэг гэж үзэх зааг) хамааруулан илэрхийлж болно. Сүрэг дэх ББУ-ын эсрэг биеийн хариу урвалын төвшинг амьтны нас/вакцинжуулалтын байдалтай холбон тодорхойлох нь вакцинжуулсан популяц дахь халдварын статусыг сүргийн түвшинд үнэлэхэд ач холбогдолтой (Bergmann нар, 2003). Шинжилгээний зорилго, зорилтот популяцыг харгалзан үзэж шинжилгээнд ашиглах босго хэмжээг тогтооно (ингэхдээ сэжигтэй урвал гэж үзэх хязгаарыг тогтооно эсхүл тогтоохгүй). Тодорхой бус үр дүнг ЭХДЭФА эсхүл хоёр дахь ББУ ЕЛИЗА (хоёр аргын хэрэглээний нөхцөлт хамаарлыг харгалзана) урвалаар дахин шинжилж баталгаажуулж болно. Ийлдэс судлалын

тандалтын хөтөлбөрийн удирдамж загварыг боловсруулахад шинжилгээний аргуудын мэдрэх болон өвөрмөц чанарыг харгалзан үзнэ. Хэдийгээр мал, амьтныг шилжилт хөдөлгөөнд оруулахаас өмнө халдваргүй болохыг тогтооход тохиромжтой шинжилгээний арга биш боловч ББУ ЕЛИЗА нь тухайн гарал үүслийн улсад вирусийн ийлдсэн хэвшил эсхүл дэд хэвшил тодорхойгүй байгаа нөхцөлд хэрэглэхэд тохирсон арга юм.

2.4.2. Энзим холбоост дархлааны электрофорезийн шинжилгээ (ЭХДЭФШ)

Энэ аргыг Өмнөд Америкт илрүүлэх шинжилгээний үр дүнг баталгаажуулах дээр танилцуулсан шинжилгээнд өргөн хэрэглэдэг. Дэлгэрэнгүй мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлах лаборатори Панафтозагаас авч болно.

2.4.2.1. Рекомбинант эсрэгтөрөгч агуулсан сорилын тууз бэлтгэх

- i) Шүлхий өвчний вирусийн био инженерчлэлийн аргаар гарган авсан таван ББУ болох 3A, 3B, 2C, 3D, 3ABC уургийг индукцийн дулааны аргаар *E. coli* C600-д нийлэгжүүлнэ. 3D полипептидийг бүрэн хэлбэрээр нь (McCullough нар, 1992), харин бусад уургийг MS-2 полимераза генийн N- төгсгөлийн хэсэгт нэгдүүлж гарган авна (Strebel нар, 1986).
- ii) Экспреслэгдсэн полимеразаг фосфоцеллюозоор цэвэршүүлээд poly(U) сефарозын баганаар гүйлгэнэ. 3A, 3B, 2C, 3ABC нэгдүүлсэн уургийг цэвэршүүлэхдээ шээгийн төвшрүүлгийг нэмэх байдлаар бактерийн дараалсан хандлалт хийнэ. Улмаар нэгдмэл уураг агуулж байгаа 7M фракцыг дараа нь 10% SDS-PAGE (натрийн додецил сульфат-полиакриламидийн гел электрофорез)-ээр цэвэршүүлнэ. Гельнээс нэгдмэл уургийн толбыг хандалж авна (McCullough нар, 1992).
- iii) Цэвэршүүлсэн рекомбинант полипептид нэг бүрээс 20 нг/мл орсон холимгийг 12.5% SDS-PAGE-ээр салгаж электрофорезийн аргаар нитроцеллюозод шилжүүлнэ (McCullough нар, 1992).

2.4.2.2. Шинжилгээний арга зүй

- i) Нитроцеллюозын тууз бүрд нэг гель дээр эерэг, сул эерэг, босго хэмжээний ба сөрөг хяналтын ийлдсийг шинжлэх шаардлагатай учраас шинжилгээнд ашиглахад шаардагдах туузын тоог эхэлж тооцоолно. Ихэвчлэн гелээс 3 мм өргөнтэй 24 нитроцеллюозын тууз гарна.
- ii) Үүр бүрд 0.8 мл ханасан буфер (50 mM Трис/HCl, pH 7.5; 150 mM NaCl; 0.2% Твин 20; 5% тосгүй хуурай сүү; 0.05% *E. coli* бактерийн задардас) нэмнэ. Эсрэгтөрөгчөөр бүрсэн туузыг холигч дээр байрлуулсан тавиур дээр тавьж тасалгааны хэмд (20–22°C) 30 минут зайлж саатуулалт хийнэ.
- iii) Шинжлэх ийлдэс болон хяналт тус бүрийг 1/200-аар шингэлж тохирох тэвшинд нэмнэ. Туузыг ямагт нүүрэн талыг нь дээш харуулан бүрэн дүрж байлгана.
- iv) Туузыг тасалгааны хэмд холигч дээр 60 минут тавьж инкубацлана.
- v) Тавиураас шингэнийг юүлж шинжилгээний тууз тус бүрийг угаагч уусмалаар (50 mM Трис/HCl, pH 7.5; 150 mM NaCl; 0.2% Твин 20) 5 минут зайлах маягаар гурван удаа угаана.
- vi) Шүлтлэг фосфатазатай конъюгаталсан үхэр-эсрэг туулайн уусмалыг шинжлэх үүр бүрд нэмээд туузыг тасалгааны хэмд 60 минут зайлах байдлаар инкубацлана.
- vii) Тавиураас шингэнийг юүлж тууз бүрийг дээр дурдсаны дагуу угаагч уусмалаар гурван удаа угаана.
- viii) Субстратын буферт (100 mM NaCl; 5 mM MgCl₂; 100 mM Трис/HCl, pH 9.3) субстратын (0.015% бромхироиндолилфостат/0.03% нитро хөх теразолиум) уусмал бэлтгээд шинжилгээний үүр бүрд хэмнэ.
- ix) Эргэдэг тавцантай холигч дээр байрлуулсан шинжилгээний тавиур дээр туузыг тавьж хяналтын босго хэмжээс мэдэгдэхүйц ялгаатай таван толбо үүстэл зайлж инкубацлана. Туузын дээр ионгүйжүүлсэн ус гоожуулж угаагаад агаарт хатаана.
- x) Үр дүнг үнэлэх: ЭХДЭФША-ний үр дүнг нягт хэмжигчээр уншиж болох боловч нүдээр харж унших нь хэдийгээр илүү субъектив боловч тохиромжтой арга юм. Хяналтын тусдаа ийлдсийг шинжлэхэд таван эсрэгтөрөгч тус бүр сулавтар боловч тогтвортой өнгө үзүүлнэ. Хэрэв шинжилсэн ийлдэсний 3ABC, 3A, 3B, 3D (± 2 C) эсрэгтөрөгч хяналтын ийлдэс дэх тэдгээрийн харгалзах өнгөний нягттай ижил эсхүл түүнээс илүү өтгөн өнгө үзүүлбэл эерэг урвалтай гэж тооцно. Хэрэв дээжид хоёр эсхүл түүнээс олон эсрэгтөрөгчийн өнгөний нягт хяналтын ийлдсийн нягтаас сул байвал сөрөг дээж гэж үзнэ. Дээрх аль ч болзол хангаагүй ийлдсийг үр дүн нь тодорхойгүй гэж үзнэ.

В. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

Шүлхий өвчинтэй тэмцэх ажлыг тухайн улс болон бүс нутаг хариуцах ба вакциныг олон улс оронд эрх бүхий мал эмнэлгийн байгууллагын хяналтын дор хэрэглэж 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 зөвшөөрөл эсхүл лиценз авахад вакцины чанар, аюулгүй байдал, үр нөлөөнд тавих шаардлага тухайн улс, бүс нутагт янз бүр байдаг. Үйлдвэрлэгч шүлхий өвчний вакцины дээрх зөвшөөрөл эсхүл лиценз авахыг аль болохоор эрмэлзэж, бүтээгдэхүүнийхээ чанарыг өөрөө бие даан магадлан шалгадаг байх хэрэгтэй.

Шүлхий өвчний вакцин үйлдвэрлэх байгууллага нь 1.1.4. *Биоаюулгүй байдал ба биохамгаалал: Мал эмнэлгийн лаборатори, мал, амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандарт* бүлэгт заасны дагуу биоаюулгаалал, тусгаарлалтын зохих журам, дадал дэглэмийг баримтлан ажиллана.

Шүлхий өвчний эсрэг төлөвлөгөөт вакцинжуулалтыг шүлхий өвчингүй, вакцин хэрэглэдэг олон улс, бүс нутаг, мөн түүнчлэн энэ өвчин эндемик улсад хэрэглэдэг. Нөгөөтээгүүр мал, амьтанд вакцин хэрэглэдэггүй, шүлхий өвчин гардаггүй, өвчин дэгдэх үед түүнийг дарах шаардлагаар өвчтэй, хавьталтай мал, амьтныг устгах, шилжилт хөдөлгөөний хатуу хяналт тогтоохыг эрхэмлэдэг улс орнууд бий. Гэхдээ шүлхий өвчингүй олон улс оронд вакцин хэрэглэхээр тооцож идэвхгүйжүүлсэн вирусийн өтгөрүүлсэн бэлдмэлийн өөрийн стратеги нөөц бүрдүүлдэг. Эсрэгтөрөгчийн ийм нөөц нь яаралтай хэрэг гарах үед тохирох вакцинаар богино хугацаанд хангах боломж олгоно (1.1.10. *Вакцины банк* бүлгийг үз)

Шүлхий өвчний уламжлалт вакциныг эсэд өсгөвөрлөсөн тодорхой хэмжээний эх омгийг химийн нэг эсхүл хэд хэдэн аргаар идэвхгүйжүүлэн тохирох хүчлүүр, нэмэлт бодистой хольж урьдчилан тогтоосон найрлагаар бэлтгэдэг. Биотехнологийн аргаар бэлтгэсэн рекомбинант эсхүл пептидийн вакцины талаар 1.1.8 дугаар бүлгээс үзнэ үү.

Хэрэглэхэд бэлэн болгосон вакциныг үйлдвэрлэхэд тавьдаг шаардлагын дагуу бүртгүүлсэн эсхүл лиценз авсан, шаардлага гарсан үед захиалсан ёсоор тохирсон найрлагатай вакциныг үйлдвэрлэхэд зориулан хэт нам температурт урт хугацаагаар хадгалж болох эсрэгтөрөгчийн бүрэлдэхүүний нөөцийг эсрэгтөрөгчийн банк гэж тодорхойлж болно.

Вакциныг хэрэглэх зорилгод нь нийцүүлж найрлагыг нь тогтоох ба үхэрт хэрэглэх вакцинд хөнгөн цагааны усан исэлт, сапонинтой болон тосон аль ч хүчлүүрийг ашиглана. Харин гахайд хэрэглэх бол вакцины үр нөлөөнөөс шалтгаалан давхар тосон цийдмэг вакциныг чухалчилдаг.

Шүлхий өвчний вакциныг стандарт эсхүл өндөр идэвхтэй вакцин гэж ангилна. Стандарт вакцин нь үйлдвэрлэгчийн тогтоосон хүчинтэй хугацааны туршид идэвхт чанарт тавигддаг хамгийн бага түвшнийг (зөвлөсөн нь 3 PD₅₀ [50% хамгаалах тун], 75% хамгаалалтын таамагласан хувь (ХТХ) хангах, эсхүл 16 амьтанд вакцин тариад халдвар хийхэд хөлд түгээмэл халдвар үүсэхээс 12-ыг нь хамгаалах (ХТХХ)) хангах хэмжээний эсрэгтөрөгч болон тохирох хүчлүүр агуулсан найрлагатай байна. Энэ төрлийн вакциныг ихэвчлэн төлөвлөгөөт цогц вакцинжуулалтын ажилд хэрэглэнэ. Шүлхий өвчний дэгдэлттэй тэмцэх ажилд халдварт өртөөгүй популяцид өргөн хүрээнд богино хугацаанд хамгаалах дархлаа тогтоох зорилгоор вакцинжуулахад өндөр идэвхтэй (үйлдвэрлэгчийн тогтоосон хүчинтэй хугацааны туршид > 6 PD₅₀ байх) вакцин хэрэглэхийг зөвлөдөг.

Вирус хэд хэдэн ийлдсэн хэвшилтэй тул үйлдвэрлэл дээр хоёр, түүнээс олон ийлдсэн хэвшлээр вакцин үйлдвэрлэх нь нийтлэг юм. Зарим улс оронд тухайн үед зонхилж байгаа вирусийн эсрэг өргөн хүрээнд үйлчлэх эсрэгтөрөгч хэрэглэх үүднээс ийлдсэн хэвшил тус бүрд нэгээс дээш вирусийн омгоор вакцин хийхийг зөвлөдөг.

1. Эх омгийн менежмент

1.1. Эх омгийн шинж чанар

Вакцины эх омгийг сонгохдоо тэжээлт орчинд хялбар өсгөвөрлөгдөх байдал, вирусийн гарц, үйлдвэрлэлийн түвшинд эсрэгтөрөгчийн тогтвортой байх чанар, эсрэгтөрөгчийн үйлчлэлийн цар хүрээг харгалзана. Эх омог бэлтгэхэд хэрэглэх өсгөврийн шинж чанарыг судлах, түгээх ажлыг ДМАЭМБ-ын шүлхий өвчний лавлах лаборатори вакцины омог тус бүрийн тухайн бүс нутгийн өвчний эпидемиологийн холбогдлын дагуу сонгох нь илүү зохистой.

Өсгөврийн жинхэнэ эх үүсвэрийг бүртгэж үүнд вирус гарган авсан байршил, амьтны зүйл, эдийн төрлийг оруулна. Шүлхий өвчний вирусийн омгийг ялган таних үл давтагдах нэршлийг түүнд өгнө. Вирусийг зорчуулсан түүх, хольсон бодисын дэлгэрэнгүй мэдээллийг 1.1.8 дугаар бүлэгт заасны дагуу баримтжуулна. Эх омгийн зорчуулалтыг наад зах нь вирусийн эсрэгтөрөгчийн болон удам зүйн шинж чанар өөрчлөгдөхөөргүй байх түвшинд барина.

1.2. Өсгөвөрлөх арга

Өсгөвөрлөх арга нь 1.1.8 дугаар бүлэгт нийцтэй байна. Вакцин хийхэд хэрэглэдэг тохиромжтой омог байхгүй бол нутгийн хээрийн өсгөврийг олон удаа сэлгэн зорчуулсаар цийдмэг хэлбэрийн эсхүл дан үе эсэд өсгөвөрлөгддөг болгон дасгасан эх омгийг гарган авч вакцины шинэ омгийг бэлтгэж болно. Липид дугтуйтай вирусээр бохирдох эрсдэлийг арилгахын тулд сонгосон мастер эх омгийн вирусийг эсэд дасгахаас өмнө эсхүл явцад нь баталгаажсан органик уусгагч ашиглан боловсруулалтад оруулна.

1.3. Вакцины омог болгон баталгаажуулах

Вакцины эх омгийн эсрэгтөрөгчийн болон удам зүйн шинж чанарыг сайтар тодорхойлсон, гаднын зүйл агуулаагүй, цэвэр болохыг 1.1.9. *Мал эмнэлгийн зориулалтаар хэрэглэх биологийн бэлдмэлийн ариун чанар, бохирдолгүйг шалгах* бүлэг, лиценз олгох эрх бүхий холбогдох байгууллагаас тавьсан шаардлагын дагуу нотолно. Вакцины омог нь анх сонгосон жинхэнэ эх өсгөвөртэй гомолог шинжтэй болохыг тогтоож, энэ омог нь тухайн үед эргэлдэж байгаа омгийн (энэ омогт тулгуурлан хөгжүүлсэн) эсрэг үр нөлөөтэй болохыг нотолсон байна. Энэ зорилгоор хэрэглэдэг олон аргаас вакцины хамгаалах чадварыг *in-vivo* орчинд шалгах арга хамгийн найдвартайд тооцогдоно. Өөр хувилбар маягаар *in-vitro* шалгалтын арга (вирус саармагжуулах аргыг илүү чухалчлах) хэрэглэж болох ба үүний тулд эдгээр үндсэн эх омгийн эсрэг шалгалт хийхэд зориулан вакцинжуулалтын дараа цусны ийлдэс авч бэлтгэнэ (энэ бүлгийн Д хэсгийг үзэх).

Эх омгийг нам температурт (-70°C) эсхүл хөлдөөн хатааж хадгална. Үндсэн эх омгоос нэг эсхүл цөөн хэдэн удаа зорчуулалт хийж ажлын эх омгийг үржүүлээд түүнийг бэлэн болсон эсийн өсгөврийг халдварлуулахад хэрэглэнэ.

Вирус гарган авсан эх үүсвэр эсхүл вирус өсгөвөрлөхөд хэрэглэсэн аливаа орчинд үхрийн тархи сархиатах эмгэг (ҮТСЭ)-ийн эрсдэлтэй материал байхгүй байх нөхцөлийг хангах замаар ҮТСЭ-ийн үүсгэгч дамжин халдварлах эрсдэлийг дээд зэргээр бууруулахад онцгой анхаарна.

1.4. Шинэ үндсэн эх омгийг түр зөвшөөрч, түүгээр бэлтгэсэн вакциныг хэрэглээнд гаргах журам

Тухайн бүс нутагт одоо байгаа вакцины омог үл хамгаалж чадах шинэ омог нэвтэрч орсон тохиолдолд хээрийн өсгөврөөс сонгон вакцины шинэ омгийг бэлтгэх шаардлага тулгарч болно. Хэрэглэх зөвшөөрөл авахын өмнө шинэ үндсэн эх омог нь лиценз олгох эрх бүхий байгууллагаас гаргасан жагсаалтад орсон гаднын элдэв зүйл агуулаагүй болохыг ерөнхий болон өвөрмөц шинжилгээгээр нотлон шаардлагад бүрэн нийцсэн болохыг, түүнчлэн анх сонгосон өсгөвөртэй гомолог болохыг холбогдох баримтаар нотлон харуулна. Гаднын зүйл илрүүлэх ерөнхий шинжилгээнд хэрэглэхэд зориулсан, шинэ омгийг саармагжуулах чанартай өвөрмөц эсрэг бие гарган авах, тусгайлсан арга техникээр хийх шаардлагатай бусад өвөрмөц шинжилгээ хийхэд нэлээдгүй цаг хугацаа шаардагдана. Ийм учраас үндсэн эх омгийг бүрэн шинжлэх цаг хугацаа давчуу онцгой нөхцөлд шинэ үндсэн эх омгоос гарган авах эсрэгтөрөгчийг гаднын зүйлээр бохирдох эрсдэлийн шинжилгээнд тулгуурлан шинэ омог хэрэглэх түр зөвшөөрөл олгоно. Эрсдэлийн энэхүү шинжилгээгээр нэгдүгээр зэрэглэлийн кинетик бүхий химийн идэвхгүйжүүлэгчээр вирусийг идэвхгүйжүүлсэн эсэхийг харгалзан үзнэ. Цаашдын үнэлгээнд үйлдвэрлэлийн цуврал бүрийн идэвхгүйжүүлэлтийн кинетикт хийх хяналт-шинжилгээ болон тайлан бүртгэлд тавих шаардлагыг авч үзнэ..

2. Үйлдвэрлэх арга

Шүлхий өвчний вирусийг ариун нөхцөлд их хэмжээний дамжмал эсийн цийдмэг өсгөвөрт эсхүл дан үе эсэд өсгөвөрлөн эсрэгтөрөгч үйлдвэрлэхийг зөвлөдөг.

Вирусийн тохиромжтой омгийг ВНК-21 гэх мэт дамжмал эсийн цийдмэг эсхүл дан үе өсгөвөрт халдварлуулахад ашиглана. Ийм эсийн өсгөвөр нь бохирдуулагч бичил биетэн агуулаагүй гэдгийг баталгаажуулсан байна.

Вирусийн ургалт дээд хэмжээндээ хүрэхэд хурилдуурдах эсхүл шүүх аргаар тэжээлт орчныг тунгалагжуулна. Дараа нь нэгдүгээр зэрэглэлийн идэвхгүйжүүлэгч, ихэвчлэн бинари этиленэмин (БЭИ) хэлбэрт байгаа этиленэмин (ЭИ)-ээр вирусийг идэвхгүйжүүлнэ (Bahnmann, 1990). ЭИ ба БЭИ-тэй харьцах аюулгүй ажиллагааны журмыг бүрэн мөрдөх шаардлагатай. Хүргэх төвшрүүлгийг урьдчилан тооцсоны дагуу БЭИ-г вирусийн цийдмэгт нэмнэ. Идэвхгүйжүүлэлтийн кинетик болон идэвхгүйжүүлэлтийн хяналтын дүнг харуулахын тулд идэвхгүйжүүлэлтийг баталгаажуулж, баримтжуулна. БЭИ-ээр боловсруулах хугацаа, идэвхгүйжүүлэх температурыг тухайн бодит нөхцөл, ашиглах тоног төхөөрөмжид тохируулж баталгаажуулсан байх ёстой. Идэвхгүйжүүлэгч бодис, өөрөөр хэлбэл ЭИ ба БЭИ нь амьд вируст үйлчлэлгүй өнгөрөх магадлалыг бууруулахын тулд өсгөвөрлөх савны агуулагдахууныг ариутгасан хоёрдогч саванд яаралтай шилжүүлэн хийж, идэвхгүйжүүлэлтийг баталгаатай тогтоосон кинетикийн дагуу, нэмэгдэж болзошгүй хүлээх хугацааг харгалзан явуулж дуусгах нь маш чухал юм. Идэвхгүйжүүлэх явцад мэдрэмтгий бөгөөд үр дүн нь тогтвортой давтагддаг аргаар вирусийн титрт хяналт-шинжилгээ хийнэ. Идэвхгүйжүүлсний дараа хурааж авсан өсгөвөр дэх БЭ ба БЭИ-ийн аливаа үлдцийг, жишээ нь натрийн тиосульфатын өтгөн уусмал хийж эцсийн төвшрүүлэг 2% болтол нь саармагжуулна.

Идэвхгүйжүүлсэн вирусийг нэн нарийн шүүлтүүрээр өтгөрүүлнэ. Идэвхгүйжүүлсэн өтгөн вирусийг дараа нь хроматограф зэрэг аргаар цэвэршүүлнэ. Өтгөрүүлж, цэвэршүүлсэн эдгээр эсрэгтөрөгчийг вакцин үйлдвэрлэхэд ашиглах эсхүл нам температурт олон жил хадгалж, хэрэгцээ гарсан үед нь тохирох буферээр шингэлэн хүчлүүр нэмж вакцин хийнэ (Doel & Pullen, 1990).

Шүлхий өвчний ердийн вакцин ихэвчлэн тосон хүчлүүртэй эсхүл усан уусмал хэлбэртэй байдаг. Тосон хүчлүүртэй вакциныг эрдэс тос ашиглан голдуу тосон доторх усан цийдмэг байдлаар үйлдвэрлэнэ. Вакцины усан фазын тодорхой хэсгийг эсхүл бүгдийг нэмэхээс өмнө ихэвчлэн эрдэс тосыг эмульсжүүлэгч бодистой урьдчилан холиод коллойд нунтаглагчаар эсхүл үргэлжилсэн механик эсхүл хэт авианы урсгалаар эмульсжүүлнэ. Твин 80 зэрэг гадаргуугийн идэвхт бодис бага хэмжээгээр агуулсан усан фазад дахин эмульсжүүлж илүү нийлмэл бүтэцтэй давхар цийдмэг (ус/тос/ус) бэлтгэж болно. Өдгөө төрөл бүрийн цийдмэг хэлбэрээр худалдаанд гаргасан, хэрэглэхэд бэлэн тосон хүчлүүр олон байна.

Вакцины найрлагыг бүрдүүлэгч хүчлүүрийн нэг болох хөнгөн цагааны усан ислийн гелд вирусийг шингээж усан суурьтай вакциныг үйлдвэрлэнэ. Вакцины бүрэн найрлагад үл хөөсрүүлэгч, лактальбумины усан задардас, триптоз фосфатын шөл, амин хүчил, витамин, буферийн давс, бусад бодис зэрэг өөр өөр бүрэлдэхүүн хэсэг орно. Вакцины найрлагад ихэвчлэн сапонин зэрэг хүчлүүр, түүнчлэн хадгалааслагчийг оруулдаг.

Ямар ч вакцинд хүчлүүр, хадгалааслагч зэрэг бүрэлдэхүүн хэсгийг шинээр ашиглахдаа тэдгээрийг хүнсний зориулалтын мал, амьтанд хэрэглэхэд бүтээгдэхүүнд нь байж болох үлдцийг тооцож үзэх нь чухал бөгөөд хэрэглэгчдэд аюулгүй байх баталгааг үйлдвэрлэлийн лиценз олгох эрх бүхий байгууллагад гаргаж чадах эсэхэд үнэлгээ хийнэ. Энэ шаардлагын улмаас хүнсний зориулалтын мал, амьтанд хэрэглэх вакцины хүчлүүр, хадгалааслагч бодисыг нарийн сонгох шаардлагатай болдог.

3. Үйлдвэрлэлийн явцын хяналт

Эсийн өсгөвөрт халдвар хийснээс хойш вирусийн титр нь ийлдсэн хэвшлийн төрлөөс хамаарч ерөнхийдөө 18-24 цагийн хооронд хамгийн тохиромжтой түвшинд хүрнэ. Эсийн өсгөврийг эсийн мөхөл зэрэг хэд хэдэн үзүүлэлтийг тооцон түүнийг хурааж авах хугацааг шийднэ. Вирусийн төвшрүүлгийг тогтоохдоо халдварлах чанарыг сорих, сахароз эсхүл CsCl-ын нягтаар үелүүлэх арга эсхүл ийлдэс судлалын шинжилгээ ашиглана. Нэг нь нөгөөгөө нөхөж чадахуйц хэд хэдэн арга хэрэглэхийг эрхэмлэнэ.

3.1. Идэвхгүйжүүлэлтийн кинетик

Вирусийг идэвхгүйжүүлэх явцад идэвхгүйжүүлэлтийн түвшин болон шугаман хамааралд хяналт-шинжилгээ хийх зорилгоор тодорхой зайтай тогтоосон хугацаанд сорьц авна. Сорьц дахь вирусийн титрийг шүлхий өвчний вируст өндөр мэдрэмтгий болох нь тогтоогдсон BHK зэрэг эсийн өсгөвөрт халдвар хийж тодорхойлно. Ийм өсгөвөр нь статистикийн хувьд хангалттай тооны сорьц авч тэдгээрийг үр дүнгийн хэлбэлзэл бага гарах нөхцөлд шинжилгээ хийх боломж олгоно. График байгуулахдаа: тодорхой зайтай тогтоосон хугацаанд авсан сорьцын халдварлах чанарыг 10 суурьтай логарифмыг ($\log_{10}$) ашиглан координатын хавтгайд цаг хугацааны эсрэг дүрслэх ба байгуулсан шулууны ядаж сүүлийн хэсгийн налалт нь шугаман биш, мөн шингэн бэлдмэлийн 10^4 литр тутам дахь халдвартай хэлтэрхийн тоо идэвхгүйжүүлэлтийн хугацааны төгсгөлд нэгээс доош орохооргүй төлөвтэй байгаа бол идэвхгүйжүүлэх арга ажиллагаа хангалтгүй болсон гэж үзнэ.

3.2. Идэвхгүйжүүлэлтийн хяналт

Эсрэгтөрөгчийг үйлдвэрлэх явцдаа цуврал бүрийн хоруу чанарыг шалгана. Вакцинд амьд вирусийн үлдэгдэл байхгүй болохыг тогтооход ашиглах эсийн өсгөврийн мэдрэмтгий чанарыг шалгаж вирусийн репликацид тохиромжтой эсэхийг баталгаажуулна. Идэвхгүйжүүлэлтийн дараа эсрэгтөрөгчийн цуврал бүрээс вакцины наад зах нь 200 тун эсрэгтөрөгчийг төлөөлж чадах сорьц авч эсрэгтөрөгчийн үйлдвэрлэлд ашигласантай аль болохоор нэг гарал үүсэлтэй, дан үе, мэдрэмтгий эсийн өсгөвөрт халдварлуулах замаар халдвартай вирус байхгүй болохыг шалгаж тогтооно. Эсрэгтөрөгчийг өтгөрүүлэх шаардлага гарсан тохиолдолд өтгөрүүлсэн материал нь шинжилгээний мэдрэх чанар эсхүл хэмжилтэд нөлөөлөхгүй гэдгийг харуулах ёстой. Эсийн үе давхаргыг 2-3 хоногт өдөр бүр шалгаж улмаар хэрэглэсэн тэжээлт орчноо дан үе шинэ эсрүү шилжүүлээд анхны дан үе эсээ шинэ тэжээлт орчноор сэргээнэ. Энэ аргыг хэрэглэж маш цөөн тоогоор үлдсэн амьд вирусийг зорчуулалт хийх замаар олшруулж болох ба түүнийг эс эмгэгшүүлэх нөлөөний илэрцэд суурилан илрүүлнэ. Анхны вирусийн бэлдмэлийг ихэвчлэн гурван удаа зорчуулахад хэрэглэдэг. Дан үе хуучин эсийг хөлдөөж-гэсгээх замаар эс доторх вирусийг чөлөөлж түүнийг дараа дараагийн зорчуулалтаар илрүүлдэг өөр нэг хувилбар бий.

4. Эцсийн бүтээгдэхүүний цувралд хийх шалгалт

4.1. Хоруу чанарын шалгалт

Бөөний савлагаатай, нийлүүлж, идэвхгүйжүүлсэн эсрэгтөрөгч, түүнийг агуулсан эцсийн бүтээгдэхүүнд хоруу чанарыг шалгаж халдвартай вирус агуулаагүй болохыг баталгаажуулна. Эцсийн бүтээгдэхүүн дэх эсрэгтөрөгчийг хүчлүүрээс баталгаажсан тохирох аргын дагуу салгаж авна. Мэдрэмтгий эсийн

өсгөврийн дан үед халдварлуулах замаар халдвартай вирус агуулаагүйг тогтоох шалгалтад вакцины 200-аас доошгүй тунг төлөөлөх (бүтээгдэхүүний бүх хэлбэрээс оруулах) сорьц хэрэглэж болно. Эсрэгтөрөгчийг салгаж авсны дараа дан үе эсэд тарихын тулд өтгөрүүлж болно. Шинжилгээний аргыг В.3.2. *Идэвхгүйжүүлэлтийн хяналт* хэсэгт тодорхойлов.

4.2. Ариун чанарын шалгалт

Идэвхгүйжүүлсэн, бөөний савлагаатай эсрэгтөрөгч, өтгөрүүлсэн эсрэгтөрөгч, найруулж эцэслэсэн бүтээгдэхүүний ариун чанарыг шалгана. Төрөл бүрийн бичил биетийг илрүүлэх арга, тэжээлт орчны талаар 1.1.9 дүгээр бүлэгт оруулав.

4.3. Мөн эсэхийг таних шалгалт

Бөөний савлагаатай, нийлүүлж, идэвхгүйжүүлсэн эсрэгтөрөгч, өтгөрүүлсэн эсрэгтөрөгч, найруулж эцэслэсэн бүтээгдэхүүнд байвал зохих вирусийн омог агуулагдаж байгааг нотлон харуулдаг, мөн эсэхийг таних шалгалт хийнэ. Үйлдвэрлэсэн вакцинд тухайн үйлдвэрт бүртгэлтэй шүлхий өвчний бусад ийлдсэн хэвшлийн вирус агуулагдах ёсгүй ба түүнийг ийлдсэн хэвшилд өвөрмөц УТ-ПГУ зэрэг тохирсон аргаар шалгаж баталгаажуулна.

4.4. Цэвэршилтийн шалгалт

Цэвэршилт нь эцсийн бүтээгдэхүүн дэх шүлхий өвчний вирусийн ББУ-ийн түвшнээс хамаарна. Вакцин нь вакцинжуулсан популяцид вирусийн эргэлтийг ийлдсийн судлалаар тандахад хэрэглэдэг ийлдэс судлалын шинжилгээнд мэдрэгдэх хэмжээний ББУ-ийн эсрэг бие үүсгэхээргүй байх шаардлагатай. ББУ-аас цэвэршүүлсэн гэж үзэж байгаа бүтээгдэхүүний цэвэршилтийн түвшнийг нотлон харуулна. Эцсийн бүтээгдэхүүн нь урвалжит чанаргүй болохыг нотолно (В.5. *Вакцин бүртгүүлэхэд тавих шаардлага* хэсгийг үз). Цэвэршилт шаардлагын хэмжээнд тогтмол байгаа нь нотлогдсон, үүнийг үндэслэн вакцин бүртгүүлэх өргөдлийг нь зөвшөөрсөн, 1.1.8 дугаар бүлэгт заасан стандартын шаардлагыг ханган баталгаатай үйлдвэрлэл явуулдаг болох нь батлагдсан тохиолдолд эцсийн бүтээгдэхүүнд хийх шалгалтыг хийхгүй байхыг эрх бүхий мал эмнэлгийн байгууллага зөвшөөрч болно.

ББУ-ийн эсрэг бие агуулаагүйг шалгах гэж байгаа цувралын вакцинаар хоёроос доошгүй удаа тарьсан амьтны ийлдсийг шинжлэх замаар вакцины цэвэршилтийг нотлон харуулж болно.

4.5. Аюулгүй чанарын шалгалт

Эцсийн бүтээгдэхүүний аюулгүй чанарыг түүний цуврал бүрд баталгаажуулна. Хэсэг газар эсхүл тогтолцооны аливаа гаж хариу урвалыг илрүүлэхийн тулд аюулгүй чанарыг шалгадаг. Бүртгүүлэх баримт бичигт уг бүтээгдэхүүн нь аюулгүй чанарын үзүүлэлтийг хангаж байгааг нотлон харуулж баталгаажуулсан, үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаа нь 1.1.8 дугаар бүлэгт заасан стандартын шаардлагыг хангаж байгааг баталгаажуулсан тохиолдолд эцсийн бүтээгдэхүүнд шинжилгээ хийхгүй байхыг эрх бүхий мал эмнэлгийн байгууллага зөвшөөрч болно.

Идэвхийн шалгалтад ашигласан мал, амьтанд вакцины аюулгүй чанарын шалгалт хийж болно. Вакцины зөвлөсөн тунг зөвлөсөн замаар туршилтын мал, амьтанд олгоно. Хэрэв идэвхийг ХТХҮХ эсхүл ХТХ-аар үнэлж байгаа бол хэсэг газрын болон тогтолцооны хариу урвал вакцинжуулалтын дараа илэрч байгаа эсэхийг бүх амьтанд идэвхийн шалгалтын 30 хоногийн хугацаанд ажиглана. Хэрэв PD₅₀-г шалгаж байгаа бол дээрхийн адилаар вакцин тарьсан, эрүүл, ийлдэсний эерэг урвалгүй хоёроос доошгүй туршилтын мал, амьтныг 14-өөс доошгүй хоног ажиглана. Вакцинтай холбоотой гэж үзэх аливаа гаж хариу урвалд дүгнэлт хийж ийм вакцины цувралд зөвшөөрөл олгогдчихоос сэргийлнэ.

4.6. Дархлаа төрүүлэх идэвхийн шалгалт

Дархлаа төрүүлэх идэвхийг эцсийн байдлаар найруулж бэлтгэсэн бүтээгдэхүүнд, эсхүл өөр хувилбар болгон эсрэгтөрөгчийн санд шалгах, ингэхдээ бөөний савлагаатай, нийлүүлж, идэвхгүйжүүлсэн ижил эсрэгтөрөгчөөр бэлтгэсэн вакциныг төлөөлөх цуврал дээр шалгана.

Дархлаа төрүүлэх идэвхийг шалгах стандарт арга нь вакцинжуулалтын дараа халдвар хийх арга юм. Гэхдээ вакцин тарьсан мал, амьтанд үргэлжилж болох дархлааны хамгаалалтын хамаарлыг нэгэнт баталгаажуулсан бол хэрэглэхэд хялбар, мал, амьтны тавлаг байдлын асуудал үүсгэдэггүй шууд бус шалгалтын арга хэрэглэж болно. Дархлаа төрүүлэх идэвхийг туршилтын мал, амьтанд шалгадаг шууд бус арга нь ихэвчлэн вакцинжуулалтын дараах эсрэг биеийн титрлэлт юм. Үүний оронд бусад аргыг хэрэв зохих ёсоор баталгаажсан бол хэрэглэж болно.

Шууд бус шинжилгээний үр дүн болон вакцины үр нөлөөний хоорондын шүтэлцээг тогтоохын тулд омог тус бүрийг нэг зүйлийн амьтанд болон вакцины найрлага тус бүрд зориулж шууд бус шинжилгээний арга хэрэглэх нь хамгийн тохиромжтой.

4.6.1. Хамгаалалтын таамаг хувь (Maradei нар, Periolio нар, 1993)

Хамгаалах таамаг хувь (ХТХ)-ийг нэг удаагийн вакцинжуулалтын дараа үхэр халдварлуулах 10,000 тунгаар халдвар хийхэд үхэр хамгаалагдах магадлалыг тогтооно.

- i) Бүтэн тун вакцин тарьснаас хойш 30-60 хоногт цуглуулсан мал нэг бүрийн ийлдэс шаардлагатай. Ийлдсийг 18-24 сарын настай 16 эсхүл 30 толгой үхэр бүхий бүлгээс цуглуулна.
- ii) Энэ бүлэг ийлдэс, хяналтын хоёр үхрийн ийлдэс дэх шүлхий өвчний вакцины гомолог омгийн эсрэг биеийн титрийг шингэн фазат саатуулагч ЕЛИЗА эсхүл ВСУ-аар шинжилнэ (Б.2.1. Вирус саармагжуулах урвал, Б.2.3. Шингэн фазат саатуулагч ЕЛИЗА хэсгийг үз).
- iii) ЕЛИЗА-д ашигласан эсрэгтөрөгчийг БЭИ хэрэглэн идэвхгүйжүүлсэн байж болно.
- iv) ХТХ-ийг ийлдэс судлалын титр болон эмнэл зүйн хамгаалалтын хоорондын хамаарлыг урьдчилан тогтоосон хүснэгтээс лавлан тодорхойлно¹ (Maradei нар, 2008; Periolio нар, 1993).
- v) Вакцинжуулсан 16 үхэртэй бүлэгт тухайн цувралын ХТХ 75%-иас доошгүй, эсхүл вакцинжуулсан 30 үхэртэй бүлэгт 70%-иас доошгүй байвал дархлаа төрүүлэх идэвх нь хангалттай гэж үзнэ.

Вакцинд хэд хэдэн ийлдсэн хэвшлийн омог орох нь бусад ийлдсэн хэвшлийн омгийн эсрэг биеийн үүсэлтийг, эсхүл эсрэг биеийн хамгаалж чадах титрийн хорондын шүтэлцээг бууруулдаггүй.

4.6.2. Хамгаалалтыг үнэлэх бусад арга

Вакцинаар үүссэн хамгаалалтыг төрөл бүрийн ЕЛИЗА, ВСУ хэрэглэн шууд бус замаар үнэлэх бусад арга нийтлэгджээ. Хэрэв туршиж байгаа вакцины омгийн хамгаалалт, хэрэглэж байгаа ийлдэс судлалын аргын хоорондын шүтэлцээ баталгаатай болохыг шинжлэх ухаанаар нотлон харуулсан нөхцөлд дээрх аргын үр дүнг хүлээн зөвшөөрч болно.

5. Вакцин бүртгэхэд тавих шаардлага

5.1. Үйлдвэрлэлийн явц

Вакциныг бүртгүүлэхэд зориулан вакцины үйлдвэрлэл, чанарын шалгалтын шинжилгээтэй холбоотой дэлгэрэнгүй мэдээллийг (В.1–4 дүгээр хэсгийг үзэх) тухайн улсын эрх бүхий мал эмнэлгийн байгууллагад илгээнэ. Эдгээр мэдээллийг гарал үүслийн улсаас зөвшөөрсөн үйлдвэрлэлийн цувралын хамгийн бага хэмжээний 1/3-ээс доошгүй хэмжээгээр гурав дараалан үйлдвэрлэсэн цувралаас бэлтгэнэ.

5.2. Аюулгүй чанар

Эрх бүхий байгууллагаас зөвшөөрөл авахын тулд вакцин хэрэглэж болох заалттай амьтны зүйл тус бүрээс наад зах нь найман амьтан сонгож туршилтын цуврал вакциныг зөвлөсөн замаар олгож *in-vivo* туршин түүний хэсэг газар болон тогтолцоонд үзүүлэх хорон чанарыг шалгаж үзнэ. Зөвшөөрөгдсөн хамгийн дээд хэмжээний эсрэгтөрөгч агуулсан вакцин ашиглан түүний давхар тун (хоёр тарилт) болон дан тунг давтан тарих (14 хоногийн дараа) туршилт явуулахыг зөвшөөрдөг. Нийтдээ гурван удаа тарина. Мал, амьтанд вакцины тарилт бүрийн дараах 14-өөс доошгүй хоногийн хугацаанд 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.

5.3. Үр нөлөө

Вакцины үр нөлөөг вакцинжуулсан амьтанд амьд вирус халдварлуулж түүнээс хамгаалах чадварыг амьтанд шууд аргаар тогтоох эсхүл вакцины хамгаалалтын сайтар тогтоосон шүтэлцээг үндэслэн *in-vitro* орчинд шууд бус аргаар тогтооно. Шинжилгээний хэмжлийн алдааг түүний үр дүнг тайлбарлахдаа харгалзаж үзнэ (Goris нар, 2008). Вакцин үйлдвэрлэхэд ашиглахаар зөвшөөрөл хүсэж байгаа омог тус бүрд вакцины үр нөлөөг тогтооно.

Тухайн бүс нутагт хэрэглэж байгаа вакцины вирусийн үндсэн омогт тохирох шүлхий өвчний лавлагааны амьд вирусийг ДМАЭМБ-ын шүлхий өвчний бүсийн лавлах лаборатори болон үндэсний мал эмнэлгийн

¹ Хүснэгтийг Бразил дахь ДМАЭМБ-ын лавлах лабораторит хандан авч болно.

эрх бүхий байгууллагаас тодорхой нөхцөлтэйгөөр авч болно. Тэдгээр лавлагааны омгийг үлэмж нам температурт хадгалах ба илгээхдээ тээвэрлэлтийн журмыг чанд мөрдөнө.

Хэсэг хэсгээр хуваан цаашид халдвар хийж байхад зориулсан нөөц вирусийг 6-аас дээш сарын настай, шүлхий өвчний вирусийн эсрэг бие агуулаагүй хоёроос доошгүй үхрээс авсан гэмтэлтэй эдээс бэлтгэнэ. Туршилт хийх эдгээр үхрийг эм бэлдмэлээр номхруулсны дараа цийдмэгийг хэлний хучуур эд дотор 20 орчим хэсэгт 0.1 мл-ээр тарина. Ойролцоогоор хоёр хоногийн дараа буюу эдийн гэмтэл бүрэн илрэх үед хэлний үлхийрсэн эд эсхүл бусад хэсэгт гарсан гэмтэл, үлхийн шингэнийг цуглуулж авна.

Цуглуулсан эдийг нухаж зөөлрүүлээд 2%-ийн цийдмэг бэлтгэнэ. Цийдмэгийг 0.2 мкм шүүлтүүрээр шүүж хэсэг хэсгээр тасалж хуваагаад шингэн азотын хийн давхаргад богино хугацаанд хөлдөөх замаар дараа халдвар хийхэд хэрэглэх вирусийн нөөцийг бүрдүүлнэ. Нөөц эх вирусийн халдварлах титрийг эсийн өсгөвөр (TCID₅₀) болон хоёр үхэрт (BD₅₀) (үхрийг 50% халдварлуулах тун) аль алинд тодорхойлно.

Номхруулсан хоёр үхрийн хэлний хучуур эдэд арав дахин дараалан (1/10-аас 1/10,000 хүртэл) шингэлсэн вирусийн шингэлэлт тус бүрээс дөрвөн хэсэг газарт тарина. Үхэрт титрийг 2 хоногийн дараа уншина. Титрийг Спирман-Карберийн аргаар үхэрт тооцоолоход ихэнхдээ 0.1 мл-д 10⁶ TCID₅₀-иас дээш, харин 10⁵ BD₅₀-иас дээш байна. Үхэрт халдвар хийх 10,000 BD₅₀ шингэлэлт бүхий нийт 2 x 0.1 мл эзлэхүүнийг 50% хамгаалах тун (PD₅₀) болон хөлд үүсэх түгмэл халдвараас хамгаалах (ХТХҮХ) аль ч туршилтад хэлний дээд гадаргуугийн хучуур эдийн дотор тарина.

5.3.1. PD₅₀ туршилт

Янз бүрийн хэмжээний вакцин тарьсан амьтны бүлэгт халдвартай вирус халдварлуулахад түүнээс хамгаалж байгаа чадвараар вакцины хамгаалах тунг тогтооно. Туршилтад өмнө нь шүлхий өвчний эсрэг вакцин тарьж байгаагүй, шүлхий өвчний вирусийн эсрэг бие агуулаагүй, наад зах нь 6-аас доошгүй сарын настай үхрийг шүлхий өвчнөөр тайван нутгаас сонгоно. Тус бүр нь таваас доошгүй үхэртэй гурван бүлэгт үйлдвэрлэгчийн зөвлөсөн замаар вакциныг олгоно. Амьтны бүлэг тус бүрд вакциныг янз бүрийн хэмжээгээр тарьж олон янзын тунг олгоно. Жишээ нь хэрэв шошго дээр нь вакцины 1 тун нь 2 мл хэмжээтэй гэж заасан бол 0.5 мл нь ¼ тун, 0.2 мл нь 1/10 тун болно. Туршилтын амьтан болон вакцин тариагүй хяналтын хоёр амьтанд вакцин тарьснаас хойш 3 долоо хоног (усан) эсхүл 4 долоо хоног (тосон)-ийн дараа вакцин дахь вирусийн хэвшилд тохирох, үхрийн бүрэн хоруу чанартай вирусийн цийдмэгээр халдвар хийнэ. Хэлний дээд гадаргуугийн хоёр өөр газрын (нэг хэсэгт 0.1 мл) хучуур эдэд нийт 10,000 BD₅₀-тай тэнцүү хэмжээгээр тарьж халдвар хийнэ. Амьтанд 8-аас доошгүй хоног ажиглалт хийнэ. Хэрэв халдвараас хамгаалагдаагүй бол амьтны хэлнээс өөр газар гэмтэл үүснэ. Хяналтын амьтанд наад зах нь гурван хөлд гэмтэл үүснэ. Бүлэг тус бүрээс хамгаалагдсан мал, амьтны тоогоор вакцины PD₅₀ хэмжээг тооцоолно. PD₅₀ хэмжээг тооцоолох олон янзын арга байдаг ч ихэвчлэн Карберын (1931) арга зүйд суурилсан PD₅₀ хэмжээг тооцоолох аргыг хэрэглэхийг эрхэмлэдэг. Вакцинд 3-аас доошгүй PD₅₀ үхэрт тарих тун тутамд агуулагдаж байх ёстой.

5.3.2. Хөлд үүсэх түгмэл халдвараас хамгаалах чанарын шалгалт

PD₅₀ туршилтынхтай ижил шалгуурыг хангасан, 18-24 сарын настай, шүлхий өвчний ийлдсийн шинжилгээгээр сөрөг урвалтай 16 үхэр бүхий бүлгийг үхэрт заасан бүтэн тунгаар, вакцин үйлдвэрлэгчийн зөвлөсөн зам, хэмжээгээр тарина. Туршилтын амьтан болон вакцин тариагүй хяналтын хоёр амьтанд вакцин тарьснаас хойш 4 ба түүнээс дээш долоо хоногийн дараа вакцин дахь вирусийн хэвшилд тохирох, үхрийн илт хоруу чанартай вирусийн цийдмэгээр халдвар хийнэ. Хэлний дээд гадаргуугийн хоёр өөр газрын (нэг хэсэгт 0.1 мл) хучуур эдэд нийт 10,000 BD₅₀ -тай тэнцүү хэмжээгээр тарьж халдвар хийнэ. Амьтанд 7-8 хоног ажиглалт хийнэ. Хэрэв халдвараас хамгаалагдаагүй бол вакцин тарьснаас хойш 7 хоногийн дотор хөлд нь гэмтэл үүснэ. Хяналтын амьтны наад зах нь гурван хөлд гэмтэл үүснэ. Сэргийлэх зорилгоор хэрэглэх вакцин бол түүнийг тарьсан 16 амьтнаас 12-оос доошгүй нь халдвараас хамгаалагдаж байх ёстой. Энэ туршилт вакцины нэг тунд хамгаалалтын хэдэн тун агуулагдаж байгааг тодорхойлохгүй ч вакцин тарьсны дараа халдвар хийсэн 16 амьтны 12 нь хамгаалагдаж PD₅₀ нь 3 байгаа нь туршилт хоорондын харьцуулалтаас харагдана (Vianna Filho нар, 1993).

5.3.3. Вакцины үр нөлөөг шууд бус аргаар тогтоох

Халдвар хийх замаар вакцины үр нөлөөг шууд турших боломжгүй бол үндэсний эрх бүхий мал эмнэлгийн байгууллага хэрэв 10,000 BD₅₀-иар халдвар хийхэд тогтдог хамгаалалт болон үүссэн эсрэг биеийн шүтэлцээг тогтоосон нөхцөлд шууд бус (вирус саармагжуулах эсхүл шингэн фазат саатуулагч ЕЛИЗА) арга хэрэглэх шийдвэр гаргаж болно.

5.3.4. Бусад зүйл амьтанд үзүүлэх вакцины үр нөлөө

Хонь, ямаа, гахай, эсхүл одос үхэр зэрэг бусад зүйлийн амьтанд вакцины үр нөлөөг шалгах арга өөр, эсхүл хараахан стандартчилагдаагүй байна. Ерөнхийдөө үхэрт хийсэн туршилт амжилттай үр дүн үзүүлсэн бол тухайн вакциныг бусад зүйл амьтанд хэрэглэж болохуйц чанартайг харуулах хангалттай нотолгоо гэж үздэг. Вакциныг юуны өмнө үхрээс бусад зүйлийн амьтанд хэрэглэхээр үйлдвэрлэсэн бол вакцины дархлаа төрүүлэх идэвхийг тэр зүйл амьтанд шалгах нь илүү зохистой байж болно. Хонь, ямаа, Африкийн одос (*Syncerus caffer*) эсхүл Азийн одос (*Bubalus bubalis*) үхрийн тухайд шүлхий өвчний шинж тэмдэг ихэвчлэн бүдэг илэрдэг тул дархлаа төрүүлэх идэвхийг эдгээр зүйл амьтанд илрэх эмнэл зүйн шинж тэмдэгт суурилан шалгах гэж оролдсоноос үхэрт хийх идэвхийн шалгалтын дүн вакцины чанарыг илүү найдвартай илэрхийлнэ.

5.4. Цэвэршүүлэлт: ББУ-ийн эсрэг биеийг шалгах

Тодорхой популяци доторх вирусийн эргэлтийг ББУ-ийн эсрэг бие илрүүлэх аргаар шалгана. Үүнээс гадна шүлхий өвчний дэгдэлтийн дараа вакцин хэрэглэсэн тохиолдолд ДМАЭМБ-ын Газрын амьтны эрүүл мэндийн кодекст зааснаар вакцинжуулсан мал, амьтанд ББУ-ийн эсрэг биеийг тодорхойлох нь шүлхий өвчнөөр тайван статусыг сэргээх нэг шалгуур болдог. Үүний нэгэн адил, вакцин хэрэглэдэг ч шүлхий өвчингүй гэдгээ хүлээн зөвшөөрүүлэхийг хүссэн улс орон шүлхий өвчний халдварын үр дүнд үүсдэг ББУ-ийн эсрэг бие вакцинжуулсан мал, амьтанд байхгүй болохыг шинжилгээгээр харуулж вирусийн эргэлтгүй болохыг нотолно. Ийм учраас шүлхий өвчний вакцины найрлагад ашигладаг эсрэгтөрөгчийг дээрх нөхцөл байдалд ашиглах тохиолдолд түүнийг цэвэршүүлж ББУ-ийн агууламжийг бууруулах хэрэгтэй. Үйлдвэрлэгч ийм цэвэршүүлэлт хийхтэй холбоотой үйл ажиллагааг дэлгэрэнгүй баримтжуулахын хамт энэ талаар бүтээгдэхүүний бичиг баримтад тусгах үүднээс тусгай зөвшөөрөл авах үйл ажиллагааны нэг хэсэг болгон тухайн бүтээгдэхүүн нь ББУ-ийн эсрэг бие үүсгэхгүй гэдгийг нотлох ёстой. Цэвэршилтийг шалгах ажилд вакцины бүрэн тун хэрэглэх ба 8-аас доошгүй үхэрт эхний тарилтаас хойш 28-30 хоногт сэргээх тунгаар вакцинжуулсны дараах 28-30 хоногт цэвэршилтийг шалгана. Сэргээх тунгаар вакцинжуулсны дараа 28-30 хоногт шалгахад нэг амьтан урвал үзүүлбэл зөвшөөрч болно. Харин сэргээх тунгаар вакцинжуулсны дараа 28-30 хоногт хоёроос олон амьтан урвал үзүүлбэл тухайн цуврал вакциныг шалгалтад тэнцүүлэхгүй. Хэрэв хоёр амьтан урвалтай бол үйлдвэрлэгч тухайн цувралыг дахин шалгах хүсэлт гаргаж болно. Вакцин үйлдвэрлэх эрх олгоход зөвшөөрөгдсөн омгийг хамгийн олон тоо, дээд хэмжээгээр нь агуулсан вакцины бүрэн тунгаар ямар ч халдваргүй 8-аас доошгүй толгой үхрийг вакциндах нь шалгалт хийж болох зөвлөсөн арга юм. Үхрийг 21-30 хоногийн зайтай хоёроос доошгүй удаа вакциндах ба дараа нь вакцин дахин тарих бүрийн өмнө болон сүүлийн вакцинжуулалтаас хойш 30-60 хоногт Б.2.4 - Бүтцийн бус уургийн шинжилгээ гэсэн хэсэгт тодорхойлсон аргаар ББУ-ийн эсрэг биеийг тодорхойлно. Вакциныг олон удаа тарьж шалгахад ББУ-ийн эсрэг биеийн шинжилгээ сөрөг дүн үзүүлсэн бол уг вакцин ББУ-ийн эсрэг бие үүсгэдэггүйг гэрчилнэ. Эдгээр үхэр нь В.5.2. Аюулгүй чанар хэсэгт дурдсан аюулгүй чанарын шалгалтад ашигласан үхэр байж болно.

5.5. Дархлаа үргэлжлэх хугацаа

Шүлхийн вакцины үүсгэх дархлааны үргэлжлэх хугацаа (Д.Ү.Х) нь түүний үр нөлөөнөөс (найрлага, эсрэгтөрөгчийн эзлэх хувь) хамаарна. Вакцин үйлдвэрлэх зөвшөөрөл олгох журмын нэг хэсэг болгон вакцин үйлдвэрлэгч тухайн вакцины үүсгэх дархлааны үргэлжлэх хугацааг зориуд халдвар хийх аргаар эсхүл В.5.3 Өвчнөөс хамгаалахаар заасан хугацааны төгсгөлд үр нөлөөг шалгах хэсэгт заасан арга, амьтан ашигладаг ийлдэс судлалын арга зэрэг баталгаажсан орлуулах аргаар В.5.3. хэсгийн заалтыг мөрдөн нотлон харуулна. Дархлаа үргэлжлэх хугацааг уг вакциныг хэрэглэж болох заалттай амьтны зүйл бүрд судлах эсхүл амьтны зүйлийг тодорхой заагаагүй бол вакцин үйлдвэрлэгч дархлаа үргэлжлэх хугацааг зааж өгнө. Үүний нэгэн адилаар үйлдвэрлэгч дээрх зааварчилгааны дагуу дархлаа сэргээх зөвлөсөн горимын үр дүнг ийлдсэнд илрэх эсрэг биеийн хариу урвалын түвшин, өөрчлөлтийг хэмжих замаар нотлон харуулна.

5.6. Тогтвортой байдал

Тосон цийдмэг вакцин болон бусад бүх вакцины тогтворшлыг вакцин үйлдвэрлэх эрх авахын тулд хийдэг вакцины хүчинтэй хугацаа тогтоох судалгааны нэг хэсэг болгон нотлон харуулна.

Шүлхий өвчний ердийн вакцины хүчинтэй хугацаа 2–8°C-д ихэвчлэн 1-2 жил байна. Вакциныг хэзээ ч хөлдөөж болохгүй бөгөөд дээр заасан температурт хадгална.

Вакцины тогтворшлыг В.5.3. Үр нөлөө хэсэгт заасантай ижил аргаар вакцины хүчинтэй хугацааны төгсгөлд шалгана.

5.7. Сэрэмжлүүлэг

Шүлхий өвчний орчин үеийн вакцинууд халдварлах аюулгүй, вакцин таригч этгээдэд хор нөлөө үзүүлдэггүй. Вакцинаар өөрийгөө тарьсан тохиолдолд авах эмнэлгийн тусламжийн талаар вакцин үйлдвэрлэгч тодорхой сэрэмжлүүлэг урьдчилж өгнө.

6. Өтгөрүүлсэн эсрэгтөрөгчийг хадгалах, хяналт-шинжилгээ хийх

Вакцины банкны олон улсын стандартыг 1.1.10 дугаар бүлэгт оруулав.

Хожим шүлхий өвчний вакцин үйлдвэрлэхэд хэрэглэх өтгөрүүлсэн эсрэгтөрөгчийг В.2 хэсэгт тодорхойлсны дагуу хэт нам температурт хадгалах нь хэрэгцээ гарсан үед үйлдвэрлэх вакцинд ашиглах дархлаа үүсгэх материалын бэлэн нөөцтэй байлгадаг сайтар хэвшсэн ажил юм. Энэ нь яаралтай үед хэрэглэх зориулалттай стратегийн нөөц эсрэгтөрөгчийг хадгалах суурь болох төдийгүй үйлдвэрлэгч төрөл бүрийн эсрэгтөрөгчийн омгийг нэн даруй ашиглаж богино хугацаанд вакцин үйлдвэрлэж, хэрэглэгчдэд хүргэх боломжтой болдог (Lombard & Fussel, 2007). Ийм нөөц бүрдүүлэлт нь ялангуяа олон цэнтэй вакцины захиалгын дараа гарч болох хүлээлгийн хугацааг үлэмж багасгана. Ийнхүү нөөц бүрдүүлэхийн өөр нэг давуу тал нь чанарын шалгалтын ихэнхийг тээвэрлэлтээс өмнө дуусгах боломжтойд оршино. Өтгөрүүлсэн эсрэгтөрөгчид В.1-4 хэсэгт заасан стандартаар хяналт тавих ёстой гэдгийг тэмдэглэх нь зүйтэй.

6.1. Хадгалах нөхцөл

6.1.1. Барилга байгууламж, тоног төхөөрөмж

Өтгөрүүлсэн эсрэгтөрөгчийг хадгалахтай холбоотой бүх асуудал 1.1.8 дугаар бүлэгт заасан шаардлага зэрэг олон улсын хэмжээнд хүлээн зөвшөөрөгдсөн шаардлагыг бүрэн хангасан байх нь чухал юм. Байр, байгууламж, тоног төхөөрөмж, арга ажиллагаа нь хадгалагдаж байгаа эсрэгтөрөгчийн аюулгүй байдлыг хангасан, задлах, бохирдох, гэмтэхээс хамгаалсан байна.

6.1.2. Хадгалж байгаа эсрэгтөрөгчийг хамгаалах

Ялангуяа вакцины нөөцийг ДМАЭМБ-ын гишүүн улс хамтран ашигладаг бол, нөгөөтээгүүр яаралтай үед гишүүн улс бүрд шаардагдах вакцины тоо харилцан адилгүй байдаг бол хадгалах вакцины тунгийн тоо эсхүл хэмжээг анхааран тооцоолох нь чухал. Тодорхой омгийн вакциныг хэд хэдэн цувралаар үйлдвэрлэж томоохон нөөц бүрдүүлэх шаардлага гарах үед вакцины сангийн менежер вакцины шалгалтад зориулан вакцины цуврал тус бүрийг төлөөлж чадах эцсийн хольцыг найруулах, эсхүл вакциныг найруулах болон/эсхүл чанар шалгах ажлыг хөнгөвчлөх үүднээс тус тусдаа үйлдвэрлэсэн цувралыг тохиромжтой үед нь холих шаардлагыг харгалзан үзэх хэрэгтэй.

Өтгөрүүлсэн эсрэгтөрөгчийг хадгалах савны хийц чухал ач холбогдолтой. Дулаанаар ариутгах, хүйтэнд хадгалах температурын горимд эвдрэхгүй, хагарахгүй байх шаардлага хангасан материалаар хийсэн савыг хэт нам температурын орчин нөхцөлд хэрэглэх нь чухал юм.

6.1.3. Хадгалсан эсрэгтөрөгчийг шошголох

Өтгөрүүлсэн эсрэгтөрөгчийг бэлэн вакцин эсхүл үйлдвэрлэлээс гарч байгаа вакцин шиг шошголох шаардлагагүй бөгөөд “боловсруулалтад байгаа” материал гэж шошголно. Хэт нам температурын нөхцөлийг удаан тэсвэрлэхээр шошготой байна. Туршлагаас үзвэл, шаардлагатай мэдээллийг багтаах хэмжээтэй металл, хуванцар зүүлтийг лонхонд шошго болгон зүүх нь хамгийн оновчтой хувилбар байв. Эсрэгтөрөгч/вакцины омог, цувралын дугаар, хүлээн авсан огноо, тухайн савны эсхүл барааны дугаарыг тодорхой оруулна. Дээрх мэдээллийг зүүлт дээр гаргацтай, арилдаггүй тэмдэглэгч үзгээр бичнэ. Хадгалалтын бүртгэл, савны байршлын мэдээллийг нямбай хөтөлнө.

6.2. Хадгалж байгаа өтгөн эсрэгтөрөгчид хяналт-шинжилгээ хийх

Хэрэглэх шаардлага гарах үед эсрэгтөрөгчийг аль болохоор үр нөлөөг нь алдагдуулахгүйгээр хадгалах үүднээс түүнийг дээд зэргээр арчилж байнга хяналт-шинжилгээ хийж байх нь нэн чухал. Иймд эдгээр эсрэгтөрөгчид тогтмол хугацааны хяналт-шинжилгээ хийх, үүний дотор шаардлагатай газарт нь эсрэгтөрөгчийн бүрэлдэхүүн хэсгийн үл задрал эсхүл эцсийн бүтээгдэхүүний байх ёстой идэвхийг хангахын тулд зохих хугацааны давтамжтайгаар шинжилгээ хийж байх зохицуулалт хийнэ.

Шүлхий өвчний эсрэгтөрөгчийн санд хийх хяналт-шинжилгээнд 146S уургийн тоо хэмжээ, вакцинжуулалтын дараах ийлдэс судлал, вакцинжуулсан мал, амьтанд халдвар хийх судалгааны ажил орно. Эдгээр судалгааг эсрэгтөрөгч хүлээн авсан үедээ болон цаашид 5 жил тутамд хийх шаардлагатай.

Эсрэгтөрөгчийн нөөцөд хийх шинжилгээнд зориулан том савлагаатай өтгөрүүлсэн эсрэгтөрөгчийг төлөөлж чадах жижиг хэмжээтэй хэд хэдэн сорьц бэлтгэнэ. Шүлхий өвчний эсрэгтөрөгчийн жижиг хэмжээтэй хэсэг нь ойролцоогоор нэг мг эсрэгтөрөгчийг төлөөлөх хэмжээний эзлэхүүнтэй байдаг. Эдгээр жижиг хэсгүүдийг эсрэгтөрөгчийн том нөөцтэй хамт зэрэгцүүлэн хадгална.

7. Өтгөрүүлсэн эсрэгтөрөгчөөс бэлтгэсэн вакциныг яаралтай хэрэгцээнд гаргах

Ноцтой нөхцөл байдал тулгарахаас гадна үндэсний эрх бүхий мал эмнэлгийн байгууллагын гэрээгээр зохицуулсан нөхцөлд хэрэв идэвхгүйжүүлээд бөөнөөр савласан эсрэгтөрөгч, вакцины бусад бүрэлдэхүүн хэсгийн ариун чанарыг шалган тогтоосон, түүнчлэн идэвхгүйжүүлж бөөнөөр савласан ижил эх эсрэгтөрөгчөөс бэлтгэсэн вакциныг төлөөлж чадах цувралын аюулгүй чанарыг шалгаж, идэвхийг тодорхойлсон бол тухайн цуврал вакциныг идэвхийг нь тодорхойлохоос өмнө чанарын шалгалтыг гүйцээлгүйгээр хэрэгцээнд гаргаж болно. Энэ хүрээнд, хэрэв хэрэгцээнд гаргах гэж байгаа вакцинтай ижил найрлагатай ч тухайн цувралд орсон эсрэгтөрөгчийн эсхүл эсрэгтөрөгчүүдийн тоо хэмжээгээр илүү бол тухайн вакцины цувралыг төлөөллийн цуврал гэж үзэхгүй.

Г. ВАКЦИНЫ ТОХИРЦЫН ШАЛГАЛТ

1. Оршил

Шүлхий өвчин гардаг нутагт вакцинжуулалтын хөтөлбөр хэрэгжүүлэх, түүнчлэн шүлхий өвчин шинээр тохиолдоход хэрэглэх вакцины эсрэгтөрөгчийн нөөц бүрдүүлэн хадгалахад шаардагддаг вакцины тохиромжтой омог сонгох ажил шүлхий өвчинтэй тэмцэх ажлын чухал хэсэг юм. Вакцины найрлагыг өөрчлөх, шинэ омог ашиглах шийдвэр гаргахдаа олон талаас нь, юуны өмнө туршилт, эпидемиологийн болон хээрийн ажиглалт судалгааны дүнг харгалзан үзнэ.

Шүлхий өвчний вирусийн нэг ийлдсэн хэвшлийн эсрэг вакцинжуулахад бусад ийлдсэн хэвшлээс солбицон хамгаалахгүйгээс гадна нэг ийлдсэн хэвшлийн өөр омгийн эсрэг бүрэн эсхүл огт хамгаалахгүй байж болно. Вакцины хэрэглэх заалтад орсон амьтныг вакцинжуулж, дараа нь вирусийн өсгөвөрт (түүний эсрэг хамгаалалт шаардлагатай гэж үзсэн) зориуд өртүүлж халдварлуулах нь солбицон хамгаалах чанарыг тогтоох хамгийн найдвартай, шууд арга юм. Энэ нь вакцины дархлаа төрүүлэх идэвх, солбицон хамгаалах чанар аль алиныг харуулна.

Гэвч ийм ажилд шүлхий өвчний амьд вирус шаардагдах ба биохамгааллын зохих түвшний арга, дадлыг хэрэгжүүлэх ёстой. Барилга байгууламж, хэрэгсэл нь 1.1.4 *Биоаюулгүй байдал ба биохамгаалал: Мал эмнэлгийн лаборатори, мал, амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандарт* бүлэгт тайлбарласан эрсдэлийн дүн шинжилгээгээр тодорхойлогдох биоаюулаас хамгаалах зохих түвшний шаардлагыг хангасан байна. Аюулгүй байдлын асуудлаас гадна энэ арга ажиллагаа нь удаашралтай, өндөр өртөгтэйгөөс гадна ДМАЭМБ-ын лавлах лабораторийн нарийн мэргэжлийн экспертийн үйлчилгээ шаардагдана. Боломжтой нөхцөлд ийм судалгааг *in-vitro* хувилбараар гүйцэтгэж амьтан ашиглахаас зайлсхийх хэрэгтэй.

Шүлхий өвчний вирусийн омог хоорондын эсрэгтөрөгчийн ялгааг тоон утгаар гаргахад ийлдэс судлалын төрөл бүрийн *in vitro* аргыг ашиглах замаар вакцины омог болон хээрийн өсгөврийн хооронд байж болох солбицон хамгаалалтыг тооцоолно. Эпидемиологийн ажиглалт судалгаатай хамтатган хийх удам зүйн болон эсрэгтөрөгчийн шинж чанарын судалгаа нь мөн вакцины тохирц тогтоох шаардлагатай байж болох шинэ омог гарч ирж байгааг илрүүлэх бөгөөд нөгөөтээгүүр ялгаж авсан өсгөвөр нь вакцины тохирцыг өмнө нь тогтоочихсон омогтой адил төстэй болохыг харуулах боломжтой. Ийм шинжилгээг 1.1.4, 1.1.5 дугаар бүлэгт заасан *Мал эмнэлгийн шинжилгээний лабораторийн чанарын удирдлага* стандартын дагуу ажилладаг лабораторид гүйцэтгэх ба ДМАЭМБ-ын лавлах лабораторид шинжлүүлэхийг эрхэмлэнэ.

Сорьцыг 1.1.3. *Биологийн материалыг тээвэрлэх* бүлэгт заасны дагуу тээвэрлэнэ.

Вакцины дархлаа төрүүлэх идэвх болон сэргээх тун тухайн вакцин дахь эсрэгтөрөгчийн үүсгэх эсрэг биеийн хүрээнд нөлөөлнө. Дархлаа төрүүлэх өндөр идэвхтэй вакцин бие махбодод дархлааны хариу урвалыг хүчтэй өдөөдгөөс гетеролог өөр вирусээс хамгаалдаг болчихож болно. Үүнээс гадна вакцины сэргээх тун түүний үр нөлөөг нэмэгдүүлж, хэдийгээр бүрэн хамгаалалт оройтож тогтож болзошгүй ч вакцины эсрэгтөрөгчийн үүсгэх эсрэгбиеийн хүрээ тэлнэ (Pay, 1984).

2. Вакцины тохирц шалгахад ашиглах вирусийн хээрийн омог сонгох

Аливаа дэгдэлтээс төлөөлөл болгон хоёр ба түүнээс дээш өсгөвөрт вакцины тохирцыг шалгаж үнэлнэ.

Вирусийг сонгохдоо эпидемиологийн мэдээлэлд суурилах, жишээ нь вирусийг газар зүйн өөр өөр байршлаас өвчний дэгдэлтийн янз бүрийн шатанд ялгах, эсхүл төрөл бүрийн эзэн амьтнаас ялган авна (Alonso нар, 1987). Вакциныг бодитойгоор хэрэглэхэд түүний хамгаалалт илэрхий буурах зэргээр вакцины чанарт эргэлзээ үүсэх нь вакцины тохирцын чухал шалгуур үзүүлэлт бөгөөд вакцины чанартай холбоотой бусад шалтгааныг (вакцинжуулалтын хүртээмж зохисгүй, хүйтэн хэлхээ хангалтгүй, сэргээх тун хэрэглээгүй, хяналтын арга хэмжээ муу гэх мэт) сайтар судлан тогтоох шаардлагатай.

Хээрийн омгийн ийлдсэн хэвшлийг тогтооход хэдийгээр ижил гарлын эсрэг биед суурилсан арга, удамшлын хэвшил тогтоох арга хэрэглэж болох ч ихэвчлэн хэвшил өвөрмөц урвалж ашиглан ЕЛИЗА эсхүл ХХУ-аар тодорхойлно. Хэрэв Д.4 *Вакцины тохирцын шалгалт* хэсэгт дурдсан аргаар шинжилгээ хийхэд тухайн лабораторийн чадавхаас давсан вирусийн олон өсгөвөр байгаа бол өсгөврүүдээс урьдчилан сонголт хийнэ.

Тохирох сорьцыг орхигдуулах эрсдэлийг багасгах үүднээс лабораторид хүлээн авсан бүх сорьцыг урьдчилан сонголтод хамруулна. Ижил гарлын эсрэг бие ашигладаг ЕЛИЗА эсхүл ХХУ хэрэглэн эсрэгтөрөгчийн шинж чанарыг тодорхойлох ийлдэс судлалын баталгаажсан арга хэрэглэхийг зөвлөдөг. Ялган авсан өсгөврийн популяцийн удамшлын гарал үүсэл ижил эсэх, хэрэглэхэд бэлэн байгаа вакцины омгоос тэдгээрийн удамшлын ялгаатай байдлыг баталгаажуулахад VP1 уургийн дарааллыг ашиглана.

Вирусийн шинэ омог гаднаас нэвтрэхэд өвчин энд тэндгүй дэгдэн түргэн тархдаг ба ийм эпидемийн үед гарган авсан өсгөврийн вакцины тохирцыг тэргүүн ээлжид шалгана. Үүнээс гадна дэгдэлтийн үеэр зонхилж байсан өсгөвөрт вакцины тохирцын шинжилгээ хийх нь хамгийн сайн сонголт юм. Вакцины омгоос ихээхэн ялгаатай бөгөөд дэгдэлтийн тархалтад үл зонхилох өсгөвөрт хээрийн идэвхтэй тандалтаар хяналт-шинжилгээ хийнэ.

3. Тохирцын шалгалтад хэрэглэх вакцины омог сонгох

Вирусийн ийлдсэн хэвшил, хээрийн өсгөврийн гарал үүслийн нутаг болон шинж чанарын талаарх шаардлагатай аливаа мэдээлэл, гарал үүслийн нутагт хэрэглэдэг вакцины омог нь вакцины тохирц шалгахад сонгох вакцины омгийг тодорхойлно. Тухайн вакцины омгийн тохирцыг шалгах урвалжийн олдцоос хамаарч шинжилгээний цар хүрээ хязгаарлагдаж болох юм. Ийм асуудал гаргахгүйн тулд вакцин үйлдвэрлэгч эцсийн бүтээгдэхүүний цувралын идэвхийг шалгах ажлын хүрээнд авсан вакцинжуулалтын дараах ийлдсийг вакцин худалдан авагч болон ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториос хүссэн үед нь өгч байх ёстой.

Түүнчлэн ДМАЭМБ-ын лавлах лабораторийг вакцины холбогдох омог ашиглан вакцинжуулалтын дараах лавлагааны ийлдэс үйлдвэрлэж, баталгаатай бэлэн байлгахыг зөвлөдөг. Вакцины тохирц шалгах нь дараах хоёр зорилготой: нэгдүгээрт, урьдчилан сэргийлэх төлөвлөгөөт вакцинжуулалт эсхүл вакцины тохирцод ердийн вакцинжуулалттай ижил шаардлага тавиад байдаггүй яаралтай вакцинжуулалт явуулахад өвчин дэгдсэн тухайн нөхцөл байдалд хамгийн үр дүнтэй байх вакцины омог сонгох үндэслэл бүрдүүлэх; хоёрдугаарт, эсрэгтөрөгчийн стратегийн нөөцөд хадгалж байгаа вакцины омгийн тохирох байдалд байнга хяналт-шинжилгээ хийж байх зэрэг болно.

4. Вакцины тохирц шалгах арга

Хээрийн омог болон вакцины вирусийн ийлдэс судлалын үзүүлэлтийн хамаарлыг (r хэмжээ) ВСУ, ЕЛИЗА, ХХУ-аар тодорхойлж болно. Нэмж хээрийн өсгөврийн эсрэг ийлдэс шаардлагатай болдог зэрэгцээ хоёр шалгах шинжилгээ (r_2) хийхээс илүү вакцины эсрэг ийлдэс ашиглан дангаар нь шалгах шинжилгээ (r_1) хийхийг зөвлөдөг. Вирус-эсрэг биеийн харилцан үйлчлэлийг тогтоодог бусад аргыг бодвол лабораторийн (*in-vitro*) орчинд хийх саармагжуулах урвал нь вакцины үйлчлэлээр амьтанд (*in-vivo*) тогтох хамгаалалтыг илүүтэй таамаглан тогтоох боломжтой. Шатрын хөлгөн титрлэлт эсхүл бусад хэлбэр загвар бүхий ВСУ-ыг тухайн лаборатори өөрийн хуримтлуулсан туршлагадаа тулгуурлан явуулна. ЕЛИЗА урвал нь хээрийн омгийг илрүүлэхэд хэрэглэж болох баригч болон илрүүлэгч эсрэг биеийн олдцоос хамаарах ба ВСУ-ыг бодвол үр дүн нь илүү тогтвортой давтагддаг учраас идэвхгүйжүүлсэн вирус ашиглан явуулж болно. ХХУ-ыг ВСУ эсхүл ЕЛИЗА аргаар цаашид шинжлэх омгийг сонгох зорилго бүхий илрүүлэлтийн аргаар ашиглаж болно. ВСУ-ын үр дүнгийн тогтвортой давтагдах чанарыг сайжруулахын тулд шинжилгээнд оруулах вирусийн шингэрүүлэлтийг олшруулж, вирусийн титрийг логистик регрессийн аргаар үнэн зөв тодорхойлох боломжтой болно.

ВСУ эсхүл ЕЛИЗА-ын аль нэгнээр шинжилгээ хийхэд вакцинжуулалтын дараа вакцины анхны тун болон/эсхүл сэргээх тун тарьснаас хойш тус тус 21-30 хоногийн дотор наад зах нь таван үхрээс авсан ийлдсийг хэрэглэнэ. Вакцины омгийн эсрэг үүссэн эерэг биеийн титрийг ийлдэс бүрд тогтооно. Ийлдсийг нэг бүрчлэн эсхүл хариу урвалын түвшин багатайг нь хасаад бусдыг нь нийлүүлсэн байдлаар шинжилж болно (Mattion нар, 2009).

4.1. Хээрийн өсгөвөр, вакцины омог хоорондын хамаарал

Зөвлөдөг стандарт арга нь ВСУ юм. Тохирох урвалж нь байвал ЕЛИЗА урвалыг энд хэрэглэж болох ба илрүүлэх шинжилгээнд бас ашиглаж болно. ВСУ эсхүл ЕЛИЗА аргаар цаашид шинжлэх омгийг сонгох зорилготой илрүүлэлтийн аргаар ХХУ-ыг ашиглаж болно.

4.1.1. Хоёр хэмжээст (шатрын хөлгөн) саармагжуулах урвалаар вакцины тохирц шалгах

Энэ шинжилгээнд вакцины омгийн эсрэг гарган авсан эсрэг ийлдэс ашиглана. Вакцины гомолог омгийн 100 TCID₅₀% эсрэг энэ ийлдсийн титрийг хээрийн өсгөврийн ижил тунгийн эсрэг титртэй харьцуулж вакцины омгийн тогтоох дархлааны хээрийн вирусээс хамгаалах хүрээг тоймлон тогтооно. Шинжилгээнд 100 мкл бүрдээ 100 TCID₅₀ шинжлэх вирус агуулах вирус/ийлдсийн холимгийг ашиглана.

4.1.1.1 Арга зүй

ВСУ-тай адилхан арга ажиллагаатай: (Б.2.1 *Вирус саармагжуулах*).

Нэмэлт биологийн урвалж: үхэрт вакцин тарьсны дараах 21-30 хоногт авсан нэг цэнт ийлдэс (56°C-д 45–60 минут идэвхгүйжүүлсэн; гомолог вакцины омог; шинжлэх вирус; вакцины омогтой ижил ийлдсэн хэвшлийн хээрийн өсгөвөр.

- i) 24 цагийн дотор эс эмгэгшүүлэх нөлөө (ЭНН) 100% хүрч дасах хүртэл нь хээрийн өсгөврийг эсийн өсгөвөрт зорчуулна. Зорчуулалтыг аль болохоор цөөн хийнэ. Дасгасны дараа вирусийн титрийг ($\log_{10}$ TCID₅₀/мл) төгсгөлийн цэгийн титрлэлтээр тодорхойлно.
- ii) Шалгах шинжилгээ болон вакцины вирус бүрийн хувьд вакцины ийлдсийн эсрэг вирусээр шатрын хөлгөн титрлэлт, түүнчлэн вирусийн урвуу титрлэлтийг хийнэ. Эсийг нэмж 37°C-д 48-72 цагийн турш инкубацласны дараа ЭЭН-г үнэлнэ.
- iii) Вакцины вирус болон хээрийн өсгөврийн эсрэг вакцины ийлдсийн эсрэг биеийн титрийг вирусийн тун бүрд Спирман-Карберийн аргаар тооцоолно. Вакцины ийлдсийн вирус тус бүрийн 100 TCID₅₀-ийн эсрэг титрийг регрессийн аргаар тогтооно. Дараа нь хээрийн өсгөвөр, вакцины омог хоорондын хамаарлыг 'r' гэсэн утгаар дараах байдлаар илэрхийлнэ:

$$r1 = \frac{\text{хээрийн вирусийн эсрэг лавлагаа ийлдэсний урвуу арифметик титр}}{\text{вакцины вирусийн эсрэг лавлагаа ийлдэсний урвуу арифметик титр}}$$

4.1.1.2 Үр дүнгийн үнэлгээ

Солбицох урвалын шинжилгээний үр дүнг үнэлэх: саармагжилт явагдсан тохиолдолд r1 утга 0.3-аас дээш бол хээрийн өсгөвөр вакцины омогтой ихээхэн төсөөтэйг харуулдаг бөгөөд энэ омгийг ашиглаж хийсэн вакцин нь хээрийн өсгөврөөр халдвар хийхэд түүний эсрэг хамгаалалт тогтоох магадлал бий. Гэхдээ энэхүү хамгаалалт нь вакцинаар үүссэн эсрэг бие солбицон урвалд орох чанар, эсрэг биеийн хариу урвалын хүчдэл аль алианаас хамаарна. Эсрэг биеийн хариу урвалын хүчдэлд вакцины идэвх, олгосон тунгийн тоо нөлөөлнө.

r1 утга нь 0.3-аас доош вакциныг хэрэглэх эсэхийг дараах хүчин зүйлийг харгалзан шийдвэрлэнэ. Үүнд: вакцины илүү сайн тохирцтой омог ашиглах боломж, вакцины дархлаа төрүүлэх идэвх, энэ идэвхийг нэмэгдүүлж гетеролог хариу урвал үүсгэх боломж, сэргээх тун нэмж хэрэглэх боломж, түүнчлэн өвчинтэй тэмцэх арга хэмжээг зоо ариун цэврийн бусад арга хэмжээтэй хавсруулдаг эсхүл вакцинжуулалтын үр дүнгээс хамаардаг болгон өргөжүүлэх боломж зэрэг хүчин зүйлийг харгалзан үзнэ. Хэдийгээр хамгаалах чанартай хэрхэн хамааралтайг тогтооход солбицон-хамгаалах шинжилгээгээ хийх шаардлагатай болдог ч вакцины идэвх, тохирцын хам нөлөөллийг хээрийн вирусийн эсрэг вакцины эсрэг биеийн ийлдэс судлалын титрээр тогтооно.

Үүнээс гадна шаардлага хангасан хээрийн өсгөврийг вакцины шинэ омог болгохоор дасгаж болно.

Шалгалтын шинжилгээг ямагт нэгээс дээш удаа давтана. Омог хоорондын ялгааг харуулж чадах 'r' утгын үнэмшил нь давтан хийсэн шалгалтын тооноос хамаарна. Практикт гурваас доошгүй давталтыг санал болгодог.

4.1.2. Нэг-хэмжээст саармагжуулах урвалаар тодорхойлсон хамгаалалтын таамаг хувиар (ХТХ) илэрхийлэх вакцины тохирц

Өмнөд Америкт ашиглаж байгаа вакцины омогт тохирсон ХТХ-ийн хамаарлыг хүснэгтлэн тогтоосон байдаг тул энэ бүс нутагт ХТХ утгад суурилсан вакцины тохирцыг өргөн хэрэглэдэг байна. Энэ шинжилгээнд вакцины омгийн (эхний болон сэргээх вакцинжуулалт) эсрэг гаргасан эсрэг ийлдэс хэрэглэнэ. Вакцины омгийн тогтоох дархлааны хээрийн вирусээс хамгаалах хүрээг тоймлон тогтоох үүднээс гомолог вакцины омгийн ийлдэс/вирусийн холимгийн 100 TCID₅₀/100 мкл-ийн эсрэг болон хээрийн өсгөврийн ижил тунгийн эсрэг ийлдсийн титрийг харьцуулж үзнэ.

4.1.2.1 Арга зүй

ВСУ-тай адилхан арга ажиллагаатай (Б.2.1 *Вирус саармагжуулах*).

Нэмэлт биологийн урвалж: үхэрт вакцин тарьсны дараах 21-30 хоногийн ба/эсхүл сэргээх-вакцин тарьсны дараах 21-30 хоногийн нэг цэнт ийлдэс (56°C-д 45–60 минут идэвхгүйжүүлсэн); вакцины гомолог омог; шинжлэх вирус; вакцины омогтой ижил ийлдсэн хэвшлийн хээрийн

өсгөвөр. Олон цэнт вакцин хэрэглэдэг нутагт төлөвлөгөөт вакцинжуулалтад нийтлэг хэрэглэдэг вакцины эсрэг ийлдсийн бүрдэл хэрэглэхийг зөвлөдөг.

- i) 24 цагт ЭЭН 100% хүрч дасах хүртэл нь хээрийн өсгөврийг эсийн өсгөвөрт зорчуулна. Зорчуулалтыг аль болохоор цөөн хийнэ. Дасгасны дараа төгсгөлийн цэгийн титрлэлтээр вирусийн титрийг ($\log_{10}$ TCID₅₀/мл) тодорхойлно.
- ii) Шалгалтын болон вакцины вирус бүрд тогтоосон тооны вирусийн эсрэг биеийн титрлэлтийг (вирусийн 100 TCID₅₀/ ийлдэс/вирусийн холимог 100 мкл), түүнчлэн ажлын вирусийн эргэх титрлэлтийг хийнэ. Ийлдэс/вирусийн холимог ба эргэх титрлэлтийн вирусийг 37°C-д 60 минут инкубацласны дараа нь урьдчилан ургуулсан эсийн дан үе бүхий бичил хавтанд тарина. Ийлдсийн шингэлэлт бүрээс дөрвөн үүрэнд тарих ба ийлдсийн зургаагаас доошгүй шингэлэлтийг хэрэглэнэ. Бичил хавтанг 37°C-д CO₂ хийн орчинд 48 цагийн турш инкубацласны дараа ЭЭН-г үнэлнэ.
- iii) Вакцины вирус болон хээрийн өсгөврийн эсрэг вакцины ийлдсийн эсрэгбиеийн титрийг Спирман-Карберийн аргаар тооцоолно. Дараа нь вирус тус бүрийн 100 TCID₅₀ эсрэг вакцины ийлдсийн эсрэг биеийн титрийг тогтоож мл тутамд илэрхийлнэ. Нэг шинжлэгдэхүүний ХТХ-ийг урьдчилж тогтоосон хамаарлын хүснэгт ашиглан саармагжуулах титр тус бүрээр нь тодорхойлох ба харин ХТХ-ийн дунджийг ийлдсийн бүлэг (вакцинжуулсан болон сэргээх вакцинжуулалт хийсэн) тус бүрээр гаргана. Вакцины омгийн дархлааны хамгаалах хүрээг ХТХ утгаар илэрхийлнэ.

4.1.2.2 Үнэлэх

- i) Үр дүнг үнэлэх

Үр дүнг үнэлэхэд вакцины вирусийн 10,000 BID₅₀ эсрэг *in-vitro* титр болон *in-vivo* халдварын хамгаалалтын хоорондын хамаарлыг тогтоосон байх шаардлагатай. Өмнөд Америкт шүлхий өвчинтэй тэмцэх, устгах хөтөлбөр хэрэгжүүлсэн Панафтозагийн туршлагаас үзвэл сэргээх вакцинжуулалт хийсэн амьтдын ХТХ-ийн дундаж утга 75%-тай байвал тохирцыг нь шалгаж үзсэн хээрийн омгоор үүссэн өвчний дэгдэлттэй тэмцэх арга хэмжээнд тухайн шалгасан вакцины омгийг бусад зохистой практик арга хэмжээний хамт хэрэглэвэл тохиромжтой болохыг харуулж байна (O1, A24, C3-ын хамаарлын хүснэгтийг Панафтозагаас хүсвэл бэлэн байгаа).

4.1.3. Вакцины тохирцыг ЕЛИЗА урвалаар шалгах

г1 утга эсхүл ХТХ-ийг тооцоолох замаар вакцины тохирцыг шалгахад Б.2.3 дугаар хэсэгт тодорхойлсон шингэн фазат саатуулагч ЕЛИЗА урвалыг хэрэглэхийг зөвлөдөг.

4.1.3.1 Арга зүй

Шингэн фазат саатуулагч ЕЛИЗА урвалтай адилхан арга ажиллагаатай (Б.2.3 шингэн фазат саатуулагч ЕЛИЗА).

Нэмэлт биологийн урвалж: үхэрт вакцин тарьсны дараах 21-30 хоногийн ба/эсхүл сэргээх-вакцин тарьсны дараах 21-30 хоногийн нэг цэнт ийлдэс (56°C-д 45–60 минут идэвхгүйжүүлсэн); вакцины гомолог омог; шинжлэх вирус; вакцины омогтой ижил ийлдсэн хэвшлийн хээрийн өсгөвөр. Олон цэнт вакцин хэрэглэдэг нутагт төлөвлөгөөт вакцинжуулалтад нийтлэг хэрэглэдэг вакцины эсрэг ийлдсийн бүрдэл хэрэглэхийг зөвлөдөг.

4.1.3.2 Үнэлгээ

- i) г1 үр дүнг үнэлэх

Шингэн фазат саатуулагч ЕЛИЗА урвалын тухайд г1 утга 0.4-өөс дээш бол хээрийн өсгөвөр вакцины омогтой ихээхэн төсөөтэйг илтгэдэг бөгөөд энэ омгийг ашиглаж хийсэн вакцин нь хээрийн өсгөврөөр халдвар хийхэд түүний эсрэг хамгаалалт тогтоох магадлал бий. Гэхдээ энэхүү хамгаалалт нь вакцинаар үүссэн эсрэг бие солбицон урвалд орох чанар, эсрэг биеийн хариу урвалын хүчдэл аль алианаас хамаарна. Эсрэг биеийн хариу урвалын хүчдэлд вакцины идэвх, олгосон тунгийн тоо нөлөөлнө.

г1 утга нь 0.4-өөс доош вакциныг хэрэглэх эсэхийг дараах хүчин зүйлийг харгалзан шийдвэрлэнэ. Үүнд: вакцины илүү сайн тохирцтой омог ашиглах боломж, вакцины дархлаа төрүүлэх идэвх, энэ идэвхийг нэмэгдүүлж гетеролог хариу урвал үүсгэх боломж, нэмж сэргээх тун хэрэглэх боломж, түүнчлэн өвчинтэй тэмцэх арга хэмжээг зоо ариун цэврийн бусад арга хэмжээтэй хавсруулдаг эсхүл вакцинжуулалтын үр дүнгээс хамаардаг болгон өргөжүүлэх боломж зэрэг хүчин зүйлийг харгалзан үзнэ. Хэдийгээр хамгаалах чанартай хэрхэн хамааралтайг тогтооход солбицон-хамгаалах шинжилгээгээ

хийх шаардлагатай болдог ч вакцины идэвх, тохирцын хам нөлөөллийг хээрийн вирусийн эсрэг вакцины эсрэг биеийн ийлдэс судлалын титрээр тогтооно.

ii) ХТХ үр дүнг боловсруулах

Үр дүнг боловсруулахад вакцины вирусийн 10,000 BD_{50} эсрэг *in-vitro* титр болон *in-vivo* халдварын хамгаалалтын хоорондын хамаарлыг тогтоосон байх шаардлагатай. Өмнөд Америкт шүлхий өвчинтэй тэмцэх, устгах хөтөлбөр хэрэгжүүлсэн Панафтозагийн туршлагаас үзвэл сэргээх вакцинжуулалт хийсэн амьтдын ХТХ-ийн дундаж утга 75%-тай байвал тохирцыг нь шалгаж үзсэн хээрийн омгоор үүссэн өвчний дэгдэлттэй тэмцэх арга хэмжээнд тухайн шалгасан вакцины омгийг бусад зохистой практик арга хэмжээний хамт хэрэглэвэл тохиромжтой болохыг харуулж байна (O1, A24, C3-ын хамаарлын хүснэгтийг Панафтозагаас хүсвэл бэлэн байгаа).

4.1.4. Вакцины тохирцыг ХХУ-аар шалгах

ХХУ-ыг хуруу шилэнд тавихыг эрхэмлэх хэрэгтэй ба ВСУ эсхүл ЕЛИЗА урвалаар шинжлэх шаардлагатай омгийг сонгох зорилго бүхий илрүүлэх шинжилгээнд ашиглана. Урвалыг Б.1.2.4. хэсэгт тодорхойлсны дагуу явуулна. Нэмэлт биологийн бэлдмэлд вакцины омгийн эсрэг усан гахайн хэт дархлаат ийлдэс орно. Ийлдсийн эсрэг биеийн титрийг гомолог вирус, хээрийн омгийн эсрэг тогтооно. Өмнө тодорхойлсны дагуу утгыг тооцоолно:

$$r1 = \frac{\text{хээрийн вирусийн эсрэг лавлагаа ийлдсийн урвуу арифметик титр}}{\text{вакцины вирусийн эсрэг лавлагаа ийлдсийн урвуу арифметик титр}}$$

Үр дүнг үнэлэх: $r1$ утга 0.25 эсхүл түүнээс их бол хээрийн өсгөвөр нь вакцины омогтой хангалттай төстэй гэж үзэх нь нийтлэг байдаг. ХХУ-аар тогтоон ангилсан үр дүнг баталгаажуулахын тулд сонгосон омгуудыг нь ВСУ эсхүл ЕЛИЗА урвалаар шинжлэх хэрэгтэй.

4.2. Вакцин үйлдвэрлэхэд тохирох эсэхийг шалгах

Хээрийн нөхцөлд хэрэглэхэд хамгийн тохиромжтой вакцины омгийг сонгон олох зорилгоор өсгөвөр гаргахдаа “r” утгыг ашиглаж болохгүй. Ялангуяа зарим вакцины омгийн тохирц хангалтгүй гэж үзвэл ийм вакцины омгоор хийсэн вакцины тохирох эсэхийг халдвараас гетеролог солбицон-хамгаалах шалгалтыг В.4.3. “тодорхой вакцин хэрэглэж хээрийн (гетеролог) вирусээр халдварлуулсан амьтныг таних шинжилгээ” хэсэгт тодорхойлсны дагуу хийн нотлон харуулж болно. Шүлхий өвчний вирусийн эсрэг биегүй, наад зах нь долоон үхрийг тухайн нутагт хэрэглэж байгаа вакцины ердийн тунгаар вакциндана. Дараа нь тэдгээрийг 28-30 хоногийн хооронд өмнөхтэй ижил нөхцөлд хоёр дахь сэргээх тунгаар тарьж долоогоос цөөнгүй үхэр бүхий хоёрдугаар бүлэгт ижил вакциныг ижил тун, замаар олгоно. 30 хоногийн дараа хоёр бүлгийн үхэр, хяналтын вакцинжуулаагүй хоёр үхэрт зохих ёсоор титрийг тогтоосон хээрийн шинэ омгийн нийт 10,000 BD_{50} -тай тэнцэх тунгаар халдвар хийнэ. Хяналтын хоёр үхэр тус бүрийн гурваас доошгүй хөлийн өлмийд гэмтэл үүссэн бол үр дүнг баталгаатай гэж үзнэ. Эцсийн үр дүнг бүлэг тус бүр дэх үхрийн нийт тооноос хамгаалагдсан үхрийн (хөлийн ул үзүүрийн гэмтэлгүй) тоогоор эсхүл бүлэг тус бүр дэх үхрийн нийт тоог 100% гэж үзээд хамгаалалтын хувийг гаргах замаар гаргана. Нэгэнт вакцинжуулсан үхрийн бүлэгт хамгаалалтын хувь 50%-иас бага, хоёр удаа вакцинжуулсан бүлгийнх 75%-иас бага байвал илүү тохиромжтой вакцины омгоор солихыг зөвлөдөг.

Вакцины омогт дархлааны хамгаалалтын шүтэлцээний судалгааг хийчихсэн бол ХТХ аргыг хэрэглэх боломжтой. ХТХ аргыг эпидемиологийн ажиглалт, хээрийн идэвхтэй тандалттай хамтруулан хэрэглэхэд ач холбогдолтой болох нь дэлхийн зарим бүс нутагт батлагдсан байна. Энэ ХТХ арга нь вакцинжуулалтын дараах эсрэг ийлдсийн бүрдлийн урвалжит чанарыг ВСУ эсхүл Елиза аргыг ашиглан тодорхойлж, гомолог вакцины омгийн 10000 BD_{50} халдварын эсрэг хамгаалалтын эсрэг биеийн титрийг харуулах шүтэлцээний хүснэгтийг боловсруулах замаар ийлдэс судлалын титрийн өвчнөөс хамгаалах магадлалын хамаарлыг тогтооно.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

AHL R., HAAS B., LORENZ R.J. & WITTMANN G. (1990). Alternative potency test of FMD vaccines and results of comparative antibody assays in different cell systems and ELISA. Report of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease (Session of the Research Group of the Standing Technical Committee) Lindholm, Denmark (AGA: EUFMD/RG/90); FAO, Rome, Italy, pp 51–60.

ALONSO F.A., CASAS OLASCOAGA R.C., ASTUDILLO V.M., SONDAHL M.S., GOMES I. & VIANNA FILHO Y.L. (1987). Updating of foot-and-mouth disease virus strains of epidemiological importance in South America. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 53, 11–18.

ALONSO A., GOMES M.D., RAMALHO A.K., ALLENDE R., BARAHONA H., SONDAHL M. & OSÓRIO F. (1993). Characterization of foot-and-mouth disease virus by monoclonal antibodies. *Viral Immunol.*, 6, 219–228.

AUGE DE MELLO P., GOMES I. & BAHNEMANN H.G. (1989). The vaccination of young cattle with an oil adjuvant foot- and-mouth disease vaccine. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, 55, 3–14.

BAHNEMANN H.G. (1990). Inactivation of viral antigens for vaccine preparation with particular reference to the application of binary ethylenimine. *Vaccine*, 8, 299–303.

BERGMANN I.E., MALIRAT V., NEITZERT E., PANIZUTTI N., SANCHEZ C. & FALCZUK A. (2000). Improvement of serodiagnostic strategy for foot and mouth disease virus surveillance in cattle under systematic vaccination: a combined system of an indirect ELISA-3ABC with an enzyme-linked immunoelectrotransfer blot. *Arch. Virol.*, 145, 473–489.

BERGMANN I.E., NEITZERT E., MALIRAT V., ORTIZ S., COLLING A., SANCHEZ C. & CORREA MELO E. (2003). Rapid serological profiling by enzyme-linked immunosorbent assay and its use as an epidemiological indicator of foot- and-mouth disease viral activity. *Arch. Virol.*, 148, 891–901.

BROCCHI E., BERGMANN I.E., DEKKER A., PATON D.J., SAMMIN D.J., GREINER M., GRAZIOLI S., DE SIMONE F., YADIN H., HAAS B., BULUT N., MALIRAT V., NEITZERT E., GORIS N., PARIDA S., SORESENSEN K. & DE CLERCQ K. (2006). Comparative evaluation of six ELISAs for the detection of antibodies to the non-structural proteins of foot-and-mouth disease virus. *Vaccine*, 24, 6966–6979.

BROCCHI E., DE SIMONE F., BUGNETTI M., GAMBA D. & CAPUCCI L. (1990). Application of a monoclonal antibody-based competition ELISA to the measurement of anti-FMDV antibodies in animal sera. Report of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease (Session of the Research Group of the Standing Technical Committee) Lindholm, Denmark, Appendix 14; FAO, Rome, Italy.

CALLAHAN J.D., BROWN F., CSORIO F.A., SUR J.H., KRAMER E., LONG G.W., LUBROTH J., ELLIS S.J., SHOULARS K.S., GAFFNEY K.L., ROCK D.L. & NELSON W.M. (2002). Use of a portable real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay for rapid detection of foot-and-mouth disease virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 220, 1636–1642.

CAMPOS R.M., MALIRAT V., NEITZERT E., GRAZIOLI S., BROCCHI E., SANCHEZ C., FALCZUK A.J., ORTIZ S., REBELLO M.A. & BERGMANN I.E. (2008). Development and characterization of a bovine serum evaluation panel as a standard for immunoassays based on detection of antibodies against foot-and-mouth disease viral non-capsid proteins. *J. Virol. Methods*, 151, 15–23.

CHENARD G., MIEDEMA K., MOONEN P., SCHRIJVER R.S. & DEKKER A. (2003). A solid-phase blocking ELISA for detection of type O foot-and-mouth disease virus antibodies suitable for mass serology. *J. Virol. Methods*, 107, 89–98.

COTTAM E.M., WADSWORTH J., SHAW A.E., ROWLANDS R.J., GOATLEY L., MAAN S., MAAN N.S., MERTENS P.P.C., EBERT K., LI Y., RYAN E.D., JULEFF N., FERRIS N.P., WILESMITH J.W., HAYDON D.T., KING D.P., PATON D.J. & KNOWLES N.J. (2008). Transmission pathways of foot-and-mouth disease virus in the United Kingdom in 2007. *PLoS Pathog.*, 4 (4), e1000050.

DE DIEGO M., BROCCHI E., MACKAY D. & DE SIMONE F. (1997). The use of the non-structural polyprotein 3ABC of FMD virus as a diagnostic antigen in ELISA to differentiate infected from vaccinated cattle. *Arch. Virol.*, 142, 2021–2033.

DOEL T.R. & PULLEN L. (1990). International bank for foot-and-mouth disease vaccines: stability studies with virus concentrates and vaccines prepared from them. *Vaccine*, 8, 473–478.

FERRIS N.P. & DAWSON M. (1988). Routine application of enzyme-linked immunosorbent assay in comparison with complement fixation for the diagnosis of foot-and-mouth and swine vesicular disease. *Vet. Microbiol.*, 16, 201–209.

FERRIS N.P. & DONALDSON A.I. (1992). The World Reference Laboratory for Foot and Mouth Disease: a review of thirty-three years of activity (1958–1991). *Rev. sci. tech. Off. int. epiz.*, 11, 657–684.

FERRIS N.P., NORDENGRABH A., HUTCHINGS G.H., REID S.M., KING D.P., EBERT K., PATON D.J., KRISTERSSEN T., BROCCHI E., GRAZIOLI S. & MERZA M. (2009). Development and laboratory validation of a lateral flow device for the detection of foot-and-mouth disease virus in clinical samples. *J. Virol. Methods*, 155, 10–17.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO) (1984). Emerging Diseases of Livestock. Vol. 1. The Diseases and their Diagnosis, Geering W.A., ed. FAO, Rome, Italy, 43–51.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO) (1997). Potency assessment of inactivated viral vaccines. In: FAO Animal Production and Health Series No 35. Vaccine Manual. The Production and Quality Control of Veterinary Vaccines for use in Developing Countries, Mowat N. & Rweyemamu M., eds. FAO, Rome, Italy, 395–409.

GOLDING S.M., HEDGER R.S., TALBOT P. & WATSON J. (1976). Radial immunodiffusions and serum neutralisation techniques for the assay of antibodies to swine vesicular disease. *Res. Vet. Sci.*, 20, 142–147.

GORIS N. & DE CLERCQ K. (2005a). Quality assurance/quality control of foot and mouth disease solid phase competition enzyme-linked immunosorbent assay – Part I. Quality assurance: development of secondary and working standards. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 24, 995–1004.

GORIS N. & DE CLERCQ K. (2005b). Quality assurance/quality control of foot and mouth disease solid phase competition enzyme-linked immunosorbent assay – Part II. Quality control: comparison of two charting methods to monitor assay performance. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 24, 1005–1016.

GORIS N., MARADEI E., D'ALOIA R., FONDEVILA N., MATTION N., PEREZ A., SMITSAART E., NAUWYNCK H.J., LA TORRE J., PALMA E. & DE CLERCQ K. (2008). Foot-and-mouth disease vaccine potency testing in cattle using homologous and heterologous challenge strains: precision of the "Protection against Podal Generalisation" test. *Vaccine*, 26, 3432–3437.

- HAMBLIN C., BARNETT I.T.R. & HEDGER R.S. (1986). A new enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus. I. Development and method of ELISA. *J. Immunol. Methods*, 93, 115–121.
- HAMBLIN C., KITCHING R.P., DONALDSON A.I., CROWTHER J.R. & BARNETT I.T.R. (1987). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus. 3. Evaluation of antibodies after infection and vaccination. *Epidemiol. Infect.*, 99, 733–744.
- JULEFF N., WINDSOR M., REID E., SEAGO J., ZHANG Z., MONAGHAN P., MORRISON I.W. & CHARLESTON B. (2008). Foot-and-mouth disease virus persists in the light zone of germinal centres. *PLoS One*, 3 (10), e3434.
- KÄRBER G. (1931). Beitrag zur kollektiven behandlung pharmakologischer reihenversuche. *Archive für Experimentelle Pathologie Pharmakologie*, 162, 480–483.
- KITCHING R.P. & DONALDSON A.I. (1987). Collection and transportation of specimens for vesicular virus investigation. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 6, 263–272.
- KNOWLES N.J. & SAMUEL A.R. (2003). Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease virus. *Virus Res.*, 91, 65–80.
- KNOWLES N.J., WADSWORTH J., BACHANEK-BANKOWSKA K. & KING D.P. (2016). VP1 sequencing protocol for foot and mouth disease virus molecular epidemiology. *Rev. sci. tech. Off.int. Epiz.*, 35, 741–755.
- LARSKA M., WERNERY U., KINNE J., SCHUSTER R., ALEXANDERSEN G. & ALEXANDERSEN S. (2009). Differences in the susceptibility of dromedary and Bactrian camels to foot-and-mouth disease virus. *Epidemiol. Infect.*, 137, 549–554.
- LOMBARD M. & FUESSEL A.E. (2007). Antigen and vaccine banks: technical requirements and the role of the European antigen bank in emergency foot and mouth disease vaccination. *Rev. sci. tech. Off.int. Epiz.*, 26, 117–134.
- MACKAY D.K., BULUT A.N., RENDLE T., DAVIDSON F. & FERRIS N.P. (2001). A solid-phase competition ELISA for measuring antibody to foot-and-mouth disease virus. *J. Virol. Methods*, 97, 33–48.
- MACKAY D.K.J., FORSYTH M.A., DAVIES P.R., BERLINZANI, A., BELSHAM G.J., FLINT M. & RYAN M.D. (1997). Differentiating infection from vaccination in foot-and-mouth disease using a panel of recombinant, non-structural proteins in ELISA. *Vaccine*, 16, 446–459.
- MARADEI E., LA TORRE J., ROBILOLO B., ESTEVES J., SEKI C., PEDEMONTE A., IGLESIAS M., D'ALOIA R. & MATTION N. (2008). Updating of the correlation between IpELISA titers and protection from virus challenge for the assessment of the potency of polyvalent aphthovirus vaccines in Argentina. *Vaccine*, 26, 6577–6586.
- MATTION N., GORIS N., WILLEMS T., ROBILOLO B., MARADEI E., BEASCOECHEA C.P., PEREZ A., SMITSAART E., FONDEVILA N., PALMA E., DE CLERCQ K. & LA TORRE J. (2009). Some guidelines for determining foot-and-mouth disease vaccine strain matching by serology. *Vaccine*, 27, 741–747.
- MCCULLOUGH K.C., DE SIMONE F., BROCCHI E., CAPUCCI L., CROWTHER J.R. & KIHU U. (1992). Protective immune response against foot-and-mouth disease. *J. Virol.*, 66, 1835–1840.
- MINISTRY OF AGRICULTURE, FISHERIES AND FOOD (1986). Foot-and-mouth disease. Ageing of lesions. Her Majesty's Stationery Office, London, UK.
- NEIZERT E., BECK E., AUGÉ DE MELLO P., GOMES I. & BERGMANN I.E. (1991). Expression of the aphthovirus RNA polymerase gene in *Escherichia coli* and its use together with other bioengineered non-structural antigens in detection of larger persistent infections. *Virology*, 184, 799–804.
- PAIBA G.A., ANDERSON J., PATON D.J., SOLDAN A.W., ALEXANDERSEN S., CORTEYN M., WILSDEN G., HAMBLIN P., MACKAY D.K. & DONALDSON A.I. (2004). Validation of a foot-and-mouth disease antibody screening solid-phase competition ELISA (SPCE). *J. Virol. Methods*, 115, 145–158.
- PARIDA S., FLEMING L., GIBSON D., HAMBLIN P.A., GRAZIOLI S., BROCCHI E. & PATON D.J. (2007). Bovine serum panel for evaluating foot-and-mouth disease virus non-structural protein antibody tests. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 19, 539–544.
- PAY T.W.F. (1984). Factors influencing the performance of foot-and-mouth disease vaccines under field conditions. In: *Applied Virology*, Kurstak E. ed., Academic Press Inc., New York, USA, 73–86.
- PERIOLO O., SEKI C., GRIGERA P., ROBILOLO B., FERNANDEZ G., MARADEI E., D'ALOIA R. & LA TORRE J.L. (1993). Large-scale use of liquid-phase blocking sandwich ELISA for the evaluation of protective immunity against aphthovirus in cattle vaccinated with oil adjuvanted vaccines in Argentina. *Vaccine*, 11, 754–776.
- REID S.M., FERRIS N.P., HUTCHINGS G.H., SAMUEL A.R. & KNOWLES N.J. (2000). Primary diagnosis of foot-and-mouth disease by reverse transcription polymerase chain reaction. *J. Virol. Methods*, 89, 167–176.
- REID S.M., FERRIS N.P., HUTCHINGS G.H., ZHANG Z., BELSHAM G.J. & ALEXANDERSEN S. (2001). Diagnosis of foot-and-mouth disease by real-time fluorogenic PCR assay. *Vet. Rec.*, 149, 621–623.
- REID S. M., GRIERSON S.S., FERRIS N.P., HUTCHINGS G. H. & ALEXANDERSEN S. (2003). Evaluation of automated RT-PCR to accelerate the laboratory diagnosis of foot-and-mouth disease virus. *J. Virol. Methods*, 107, 129–139.
- ROEDER P.L. & LE BLANC SMITH P.M. (1987). The detection and typing of foot-and-mouth disease virus by enzyme-linked immunosorbent assay: a sensitive, rapid and reliable technique for primary diagnosis. *Res. Vet. Sci.*, 43, 225–232.

SHAW A.E., REID S.M., EBERT K., HUTCHINGS G.H., FERRIS N.P. & KING, D.P. (2007). Protocol: Implementation of a one-step real-time RT-PCR protocol for diagnosis of foot-and-mouth disease. *J. Virol. Methods*, 143, 81–85.

SKINNER H.H. (1960). Some techniques for producing and studying attenuated strains of the virus of foot and mouth disease. *Bull. OIE*, 53, 634–650.

SORENSEN K.J., MADSEN K.G., MADSEN E.S., SALT J.S., NQUINDI J. & MACKAY D.K.J. (1998). Differentiation of infection from vaccination in foot-and-mouth disease by the detection of antibodies to the non-structural proteins 3D, 3AB and 3ABC in ELISA using antigens expressed in baculovirus. *Arch. Virol.*, 143, 1461–1476.

STREBEL K., BECK E., STROHMAIER D. & SCHALLER H. (1986). Characterisation of foot-and-mouth disease virus gene products with antisera against bacterially synthesised fusion proteins. *J. Virol.*, 57, 983–991.

VANGRYSPERRE W. & DE CLERCQ K. (1996). Rapid and sensitive polymerase chain reaction based detection and typing of foot-and-mouth disease virus in clinical samples and cell culture isolates, combined with a simultaneous differentiation with other genomically and/or symptomatically related viruses. *Arch. Virol.*, 141, 331–344.

VIANNA FILHO Y.L., ASTUDILLO V., GOMES I., FERNANDEZ G., ROZAS C.E.E., RAVISON J.A. & ALONSO A. (1993). Potency control of foot-and-mouth disease vaccine in cattle. Comparison of the 50% protective dose and protection against generalisation. *Vaccine*, 11–14, 1424–1428.

*
* *

ЖИЧ: Шүлхий 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>).

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

ЖИЧ: 1990 ОНД АНХ, 2022 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

ХӨХТӨН АМЬТНЫ СҮРЬЕЭ ӨВЧИН

(MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX ХАЛДВАР)

А. УДИРТГАЛ

Хөхтөн амьтны сүрьеэ өвчин нь *Mycobacterium tuberculosis* иж бүрдэл (МТИБ)-д ордог эмгэг төрүүлэгчээр амьтан, хүнд үүсдэг архаг явцтай, зангилаа тогтох онцлогтой өвчин юм. МТИБ-ийн бичил биетүүд нь Mycobacteriaceae овогт хамаарах ба Грам эерэг, хүчилд тэсвэртэй бацилл юм. МТИБ-ийн бичил биетний ангилал байнга өөрчлөгдөж байдаг. Геномын сүүлийн үеийн нарийвчилсан шинжилгээгээр МТИБ-ийн бүх гишүүн *M. Tuberculosis*- гэсэн нэг зүйлд хамаарах ба үүнд *M. africanum*, *M. bovis*, *M. caprae*, *M. microti*, *M. pinnipedii* нь *M. Tuberculosis*-ын гетеротип адилтгал (хувилбар); харин *M. canettii*, *M. mungi*, *M. orygis* нь *M. tuberculosis*-ын омогт тооцогдоно. Уламжлан хэрэглэж ирсэн нэр томьёоны уялдааг хадгалахын тулд энэ бүлэгт дээрх зэрэглэн ангилсан нэршлийн оронд олон нийтэд илүү нийтлэг танигдсан нэршлийг ашигласан болно. Тиймээс энд *M. tuberculosis*-ын хувилбар *bovis* гэхийн оронд *M. Bovis*, *M. tuberculosis*-ын хувилбар *caprae*-ийн оронд *M. caprae* гэсэн нэршлийг урьдын адил хэрэглэв.

МТИБ-д ордог бичил биетний зарим нь тодорхой эзэн амьтанд холбогддог талаар цөөнгүй нотолгоо байдаг ч эдүгээ бүх хөхтөн амьтныг сүрьеэд мэдрэмтгий гэж үзэж байгаа бөгөөд сүрьеэ үүсгэгчийн иж бүрдэлд багтах аль ч бичил биетэн халдварлахад ямар ч эзэн амьтанд бараг адилхан өвчин үүсэхэд хүргэж байна. Тэжээвэр болон зэрлэг амьтанд эмгэг төрүүлэгч үндсэн зүйл нь *M. bovis*, *M. caprae*, *M. microti*, *M. orygis*, *M. pinnipedii* юм. МТИБ-д ордог аливаа бичил биетэнд (БЦЖ вакцины омгоос бусад) хүн өртвөл зоонозын халдвар авах боломжтой. Африкт *M. canettii* гагцхүү хүнд бүртгэгдсэн бөгөөд эх үүсвэрийг нь хараахан тогтоож чадаагүй байгаа зэрлэг амьтны болзошгүй халдвараас дамжин тархсан гэж үздэг байна. *Mycobacterium mungi*-ыг судалт мангуст (*Mungos mungo*), *M. suricattae*-ыг сурикат (*Suricata suricatta*)-аас тус тус ялгасан боловч тэдгээрийг бусад эзэн амьтнаас хараахан олж тодорхойлоогүй байна. Хулганаар дамжин халдварласнаас *Mycobacterium microti* ихэвчлэн муурт оношлогдоно. Түүнчлэн *Mycobacterium microti* зэрлэг бодонд их тархсан байна. Ихэвчлэн хүнд оношлогддог *Mycobacterium tuberculosis sensu stricto* заан болон хүнд хань бараа болдог жижиг амьтанд, тэднээс эргээд хүнд халдварладаг байна. МТИБ-д ордог *M. Bovis*, *M. caprae*, болон *M. tuberculosis* нь эзэн амьтны хүрээ өргөн, нийтийн эрүүл мэндийн нөлөөтэй учраас ноцтой хувилбаруудад тооцогдоно.

Энэ өвчин дэлхий даяар тархалттай. Хамгийн сүүлийн үеийн мэдээг ДМАЭМБ-ын Дэлхийн мал, амьтны эрүүл мэндийн мэдээллийн системээс (WAHO WAHIS) авна уу¹. Олон улс орны мал сүрэг сүрьеэ өвчнөөр тайванд тооцогддог. Мал, амьтны сүрьеэ өвчний идэвхтэй тандалт, тэмцэх бусад арга хэмжээ хэрэгжүүлдэг зарим улсад уг өвчин зөвхөн хаа нэгтээ бүртгэгдэж байна. Африк, Ази, Латин Америкийн болон Ойрх Дорнодын ихэнх улсад энэ өвчин эндемик тархалттай, бас далайцтай тэмцэж чаддаггүй хэвээрээ ажээ. Хэд хэдэн улсад зэрлэг амьтны сүрьеэ өвчний байгалийн голомт тэмдэглэгдсэн бөгөөд чөлөөтэй амьдардаг эсхүл ан олзворын зэрлэг амьтдаас МТИБ-д ордог бичил биетнийг ялган авсан байна. Байгалийн голомтыг хадгалж байдаг гэж сэжиглэдэг эзэн амьтнаас үхэр, бусад малд халдварласан тохиолдол Канадын тодорхой бүс нутаг (хандгайнаас, *Cervus canadensis*), Пиринеин хойг (зэрлэг гахай, *Sus scrofa*, болон хэд хэдэн зүйлийн бугаас), Ирланд болон Англи (Европ доргоноос, *Meles meles*), Шинэ Зеланд (өтгөн сүүлт поссумаас, *Trichosurus vulpecula*), АНУ-ын тодорхой бүс нутаг (цагаан сүүлт буга, *Odocoileus virginianus*)-т тус тус бүртгэгдсэн байна. Зэрлэг амьтанд МТИБ эргэлдэж байгаа бүс нутагт халдвар дамжуулагч мэрэгч, хөхтөн жижиг амьтнаас эхлээд махан идэштэн, туурайтан хүртэл олон эзэн амьтан бий. Хүний сүрьеэ өргөн тархсан, хүмүүс нь мал, амьтантай ойрхон харьцдаг бүс нутагт мал, амьтны халдварын эзэн үүсвэр нь хүн болох ба *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. orygis* хүнээс ялгарч мал, амьтанд дамжин халдварласан тохиолдол бүртгэгджээ.

Төрөл бүрийн зүйлийн мал, амьтны дунд МТИБ-ийн бичил биетний тархалт бүс нутгийн болон газар зүйн олон янз байдлаас хамаарч байгаа нь улам бүр нотлогдсоор байна. Жишээ нь Африкт үхрийн сүрьеэ өвчний шалтгааны дийлэнх, Баруун Европ, Америкт ихээхэн хувь нь *M. bovis* болж байхад Төв Европын улсуудад үхрийн сүрьеэгийн гол шалтгаан *M. caprae* болж байна. Үүнтэй адилхан Өмнөд Азид үхрийн сүрьеэг *M. tuberculosis*, *M. orygis*, *M. caprae* голчлон үүсгэж байгаагийн нотолгоо нэмэгдсээр байна.

Сүрьеэ бол ихэвчлэн архаг явцтай, эмнэл зүйн шинж тэмдэг нь хэдэн сараас хэдэн жилийн дараа илэрдэг өвчин юм. Халдвартай амьтан удаан хугацаагаар хэвийн байдалд орж байгаад хэдэн жилийн дараа эсхүл дархлаа дарангуйлагдсан үед дахин идэвхжиж болно. Мал, амьтанд цочмог эсхүл цочмогдуу халдвар тохиолдох нь ховор, хэрэв тохиолдвол дархлаа сулрах гэх мэт өөр эмгэгтэй хавсарсан байх магадлалтай.

Халдварыг ихэвчлэн амьсгал, хоол тэжээлийн замаар эсхүл салст бүрхэвч эсхүл гэмтэлтэй арьсаар халдвартай зүйлтэй шууд хүрэлцсэнээр авна. Халдвар авах эрсдэл халдварласан тун, зам, эсхүл эмгэг төрүүлэгчийн тоо, эзэн амьтны болон мал аж ахуй эрхлэхтэй холбоотой хүчин зүйлээс хамаарна. Дархлаа суларсан, хээлтэй, өлдсөн амьтны адилаар өсвөр мал халдварт илүү мэдрэмтгий гэж үздэг.

¹ <https://www.woah.org/en/what-we-do/animal-health-and-welfare/disease-data-collection/>

Халдвартай агаар дуслуар амьсгалах нь мал, амьтанд МТИБ-ийн бичил биетэн дамжин халдварлах үндсэн зам гэж үздэг ч бохирдсон сүү (ялангуяа нялх амьтанд), тэжээл, ус, мөн түүнчлэн халдвартай шүүдэс, шээс, үтрээний гоождос, үрээр дамжин халдварлах нь тохиолдоно. Амьсгалаар орсон бациллийг уушгины цулцангийн макрофаг залгиурдан устгана. Халдварын тун, зам, эмгэг төрүүлэгч болон эзэн амьтны онцлог гэх мэт хүчин зүйлээс хамаарч эмгэг төрүүлэгч идэвхтэй халдвар үүсгэлгүй устах эсхүл макрофагууд халдварыг бүрэн зайлуулж болох юм. Халдвар арилаагүй байгаа нөхцөлд бичил биетэн эргээд тайван байдалд орох эсхүл идэвхтэй үржинэ. Бичил биетэн идэвхтэй үржиж эзэн амьтнаас халдварыг барьж хязгаарлах хариу урвал зогссон үед лимфоид гаралтай олон төрлийн эсээр хүрээлэгдэж үхсэн, сөнөрсөн макрофаг бүхий голомтолсон эсхүл тархмал гэмтэл үүснэ. Эдгээр нь хожим олон бөөмт аварга эстэй нийлж үхжилийн аарцан эсхүл кальцижсан төвтэй, ширхэглэг гэртэй “сүрьеэ” гэгдэх зангилааг үүсгэнэ.

Эдгээр зангилаат гэмтэл хэмжээгээрээ янз бүр, ихэнхдээ гэржсэн байна. Үхэр болон бусад хөхтөн амьтанд үүссэн зангилаа аарц шиг, аарцархуу-кальцижих маягтай эсхүл кальцижсан байж болно. Илүү түргэн явцтай өвчилсөн бугын төрлийн эсхүл бусад амьтанд сонгомол зангилааны оронд идээгээр дүүрсэн буглаанууд үүснэ. Бараг аль ч эрхтэн тогтолцоо гэмтэж болох боловч амьсгалаар халдвар авсан амьтанд сүрьеэгийн зангилаа ихэвчлэн уушги болон цээжний тунгалгийн зангилаанд ажиглагдана. Нөгөөтээгүүр хоол тэжээлийн замаар халдвар авсан бол хэвлийн хөндийн эрхтэн, чацархайн тунгалгийн зангилаа халдварын эх үүсвэр болох илүү магадлалтай. Зарим амьтанд, үүний дотор өвчин нэлээд лавширсан үед халдвар өргөн хэмжээнд түгж болох ба эд эрхтнээр тархсан жижиг голомт бүхий түгмэл сүрьеэ үүсгэнэ.

Идэвхтэй сүрьеэ өвчний үед тунгалгийн зангилаа бүлгээрээ гэмтэх нь нийтлэг байдаг. Зарим амьтанд үүссэн сүрьеэгийн гэмтэл байршмал хэлбэртэй болж өвчин архагших, халдвар орогноход хүргэнэ. Дархлаа суларсан зарим амьтанд эсхүл халдвар хүндэрсэн үед тунгалгийн замаар эсхүл цусаар халдвар тарж болзошгүй. Үүний үр дүнд халдвар биеэр тархаж эсхүл уушги, элэг, бөөр, дэлүү, дэлэн, ходоод гэдэсний зам, төв мэдрэлийн тогтолцоо зэрэг олон эрхтэн тогтолцооны зангилаат гэмтэл бүхий түгмэл сүрьеэ өвчин үүсгэнэ. Халдвар хүндэрсэн ийм тохиолдолд эмчилгээ хийлгүй орхивол үхэлд хүргэх нь гарцаагүй.

Хөхтөн амьтны сүрьеэ өвчинд холбогдох өвөрмөц хэв шинжит эсхүл онцгой ялгарах эмнэл зүйн шинж тэмдэг байхгүй. Өвчин ердийн үед удаан явцтай өрнөж халдвар авсан амьтан халдварыг ямар ч ил шинж тэмдэггүйгээр дамжуулан тараасаар байна. Үхэрт хамгийн түгээмэл ажиглагддаг эмнэл зүйн шинж тэмдэгт амьдын жин эрчимтэй буурах, сульдах, тэжээлийн дуршил буурах, биеийн халуун бага багаар нэмэгдэх эсхүл сэлгэн халуурах, ханиалгах, тунгалгийн зангилаа үрэвсэн эмгэгших орно.

Ихэвчлэн тунгалгийн өнгөц зангилаа томорно. Халдвар хүндэрсэн тохиолдолд тунгалгийн томорсон зангилаа хагарч шингэн гоожно. Залгиурын арын тунгалгийн зангилаа бас гэмтэж болох ба гүн байрлалтай тунгалгийн зангилаа томорсноос амьсгал, ходоод гэдэсний замын эрхтэнд цусны судас, тунгалгийн суваг дарагдаж болзошгүй. Амьсгалын эрхтэн эмгэгшвэл голдуу нойтон, тасалдангуй ханиалга илрэх ба энэ нь хүйтэн эсхүл амьтан ядарсан үед илүү зовууртай болж өвчин лавшрахын хэрээр амьсгал давчдан түргэснэ. Ходоод гэдэсний үйл ажиллагаа, хөдөлгөөн хямарч чацаг алдах, эсхүл хааяа баас хатах нь ажиглагдана. Улаан буга, бугын төрлийн бусад амьтан, тэмээний овгийн амьтанд өвчний явц үхэртэй харьцуулахад олон эрхтнийг хамарсан, голдуу түргэн байна. Тэмээний болон адууны төлийн амьтанд ходоод гэдэсний үйл ажиллагааны хямралын шинж тэмдэг илүүтэй илэрнэ. Заанд өвчний төгсгөлийн шат хүртэл шинж тэмдэг илрэхгүй.

Амьд амьтанд сүрьеэ өвчний оношилгоог үүсгэгчийг шууд илрүүлэх, эсхүл арьсны сүрьеэлүүрийн сорил (ACC), гамма интерфероны ялгарлын шинжилгээ (ГИЯШ), эсрэг биеийн шинжилгээг ашиглан халдварын эсрэг эзэн амьтанд үүссэн дархлааны хариу урвалыг илрүүлэх шууд бус арга замаар хийнэ. Бичний багийн амьтан, хүнд хань бараа болдог жижиг амьтан зэрэг зарим амьтанд рентгенээр харах, хэт авиа хэрэглэх аргыг бусад шинжилгээний нэмэлт болгон хэрэглэнэ. Халдвар архаг шинж байдалтай, эмнэл зүйн тодорхой шинж тэмдэггүй учраас сүрьеэ өвчний нотолгоог ихэвчлэн мал төхөөрөлтний дараа хийх үзлэг тандалтаар эсхүл задлан шинжилгээ хийх үед бие бүтцийн өвөрмөц хувирлыг ялган тогтоох замаар бүрдүүлнэ. Арьсны сүрьеэлүүрийн сорил тавихад урвал үзүүлсэн малын тодорхой хэсэгт задлан шинжилгээ хийхэд ил харагдах гэмтэл илрэхгүй байж болох учраас халдварыг баталгаажуулах үүднээс төхөөрөлтний үеэр хийх үзлэг тандалтаар мөгөөрсөн хоолойн, голчийн, бусад тунгалгийн зангилааны сорьц тогтмол цуглуулна.

Ихэнхдээ эдийн сорьц, нэвчдэс, сэжиг бүхий бусад шингэн эсхүл шүүрэл, эсхүл зааны хошууны зайлаадсаас өсгөвөр гаргаж бичил амь судлалын аргаар сүрьеэ өвчний үүсгэгчийг шууд илрүүлнэ. Шүүрэл, эдийн дээжид хүчилд тэсвэртэй өвөрмөц бацилл эсхүл төв хэсэг нь үхжиж аарц шиг болсон, олон цөмтэй аварга эсийн бичил бүтцийн будагдах онцлогийг микроскопоор харж ялган таних замаар урьдчилсан онош тавьж болно. Гэвч микобактерийн тоо цөөн байдгаас хэдийгээр амьтан өвчтэй байсан ч микроскопоор дурандах аргаар ихэвчлэн сөрөг дүн үзүүлнэ. Микобактерийг хатуу эсхүл шингэн сонгомол тэжээлт орчинд ургуулж өсгөвөр гаргаад түүнийг баталгаажуулахад өвөрмөц нуклеин хүчил эсхүл бусад бичил биетний биомаркерыг ялган таних зэрэг арга хэрэглэнэ. Өсгөвөрлөх зэрэг шууд илрүүлэх арга нь сүрьеэ өвчнийг мал, амьтанд эцэслэн оношлох арга боловч хугацаа их зарцуулдаг, хийхэд төвөгтэй арга юм. Ийм учраас биологийн дээжид ДНХ шууд илрүүлэх полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ) зэрэг түргэн аргын хэрэглээ нэмэгдсээр байна.

Амьтнаас МТИБ-ийн бичил биетэнд үзүүлэх дархлааны хариу урвалыг тогтоох нь халдварын сэжигтэй амьтныг ялган илрүүлэхэд хамгийн өргөн хэрэглэгддэг шууд бус арга юм. Мал, амьтанд энэ өвчнийг илрүүлэх үндсэн арга нь АТС бөгөөд энэ нь МТИБ-ийн бичил биетний эсрэгтөрөгчид үзүүлэх хэт мэдрэгжилтийн саатмал хариу урвалыг *in vivo* нөхцөлд хэмжих арга болно. Энэ нь сайтар тодорхойлж тогтоосон *M. bovis* (PPD-B) омгийн гаралтай

цэвэршүүлсэн уургийн ханд (үхрийн сүрьеэлүүр)-ыг арьсан дотор тариад тарьсан хэсэг арьсанд үүссэн зузааралтыг хэмжих арга юм. Амьтны зүйлээс хамаарч тарих хэсгийг сонгоно. Мал, амьтан хүрээлэх орчны микобактерийн халдварт их өртдөг бүс нутагт PPD-B тарихад үүссэн болон *M. avium* омгоос (PPD-A) гаралтай цэвэршүүлсэн уургийн ханд (шувууны сүрьеэлүүр) тарихад үүссэн арьсны зузааны ялгаврыг урвалын өвөрмөц чанарыг сайжруулахад ашиглах ба гэвч ихэнхдээ тэр хэмжээгээр мэдрэх чанар нь буурна. Энэ аргын хэрэглээний түүх, түүнийг хэрэглэн шинжилгээ хийж эергийг ялгах аргаар энэ өвчинтэй амжилттай тэмцсэн хөтөлбөрийн хэрэгжилтийг харгалзан үзвэл АТС нь сүрьеэ өвчнийг оношлох болон худалдаа хийхийн өмнөх илрүүлэх шинжилгээнд чухалчлан хэрэглэх арга юм.

Халдварын эсрэг эсийн дархлааны хариу урвалыг хэмжих өөр нэг хувилбар нь *in vitro* нөхцөлд ГИЯШ-ний арга юм. Энэхүү шинжилгээгээр МТИБ-ийн бичил биетний гаралтай эсрэгтөрөгчийн өдөөлтөөр цусны эсээс ялгарах гамма интерфероныг хэмжинэ. Энэ шинжилгээг голдуу хуурамч эерэг урвалыг ялгаварлахад туслах аргаар хэрэглэх ба арьсны сорилтой харьцуулахад амьтантай дахин дахин харьцах шаардлагагүй, сорилын дүнг хүлээж цаг алдахгүй илүү хялбар арга юм. Гэвч ГИЯШ хийхэд цусны амьд эсийг тодорхой цаг баримтлан өдөөх шаардлагатай учраас зардал өндөр, төвөгтэй, ялангуяа алслагдсан, хангамж тааруу газар хэрэглэхэд хэцүү юм.

МТИБ-ийн халдварт өвөрмөц эсрэг бие нь уг халдварлах үйл явцын сүүлийн үе шатад нийлэгжин бий болох учир ийлдэс судлалын эсхүл эсрэг бие илрүүлэх бусад аргууд мэдрэх чанарын хувьд эсийн дархлааны хариу урвалыг тодорхойлсноос доогуур байдаг. МТИБ-ийн эсрэгтөрөгчийн эсрэг өвөрмөц эсрэг биеийг тодорхойлоход хамгийн өргөн хэрэглэдэг ийлдэс судлалын арга нь энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА) эсхүл хөндлөн нэвчилтийн түргэн арга юм. Эсрэг биеийн шинжилгээ нь сүрьеэ өвчтэй зэрлэг амьтны дархлааны хариу урвалыг илрүүлэн нотлоход онцгой ач холбогдолтой. Эрчимжсэн аж ахуйн мал, амьтан, түүнчлэн зарим буга, тэмээний овгийн амьтанд хийх арьсны сорилын мэдрэх чанарыг тогтоохын тулд энэ шинжилгээний эсрэгтөрөгчийг тодорхой тогтоосон цаг хугацаанд урьдчилан хэрэглэж үзэх хэрэгтэй.

Калмет-Герений бацилл (БЦЖ) вакциныг мал, зэрлэг амьтанд хэрэглэхэд зориулан үнэлгээ хийсэн байна. Зориудын халдвар хийсэн туршилт, хээрийн судалгааны томоохон шинжилгээний дүнг үндэслэн үзээд үхэрт БЦЖ вакцины шууд үр нөлөө дунд зэргийн төвшинд байгааг мэдээлжээ. Гэвч халдвар цааш дамжин тархахыг бууруулах вакцины шууд бус болзошгүй үр дүнг харгалзан үзвэл энэ өвчин эндемик тархалттай, шинжилгээ хийгээд эерэг урвалтай малыг устгах арга хэрэглэх нөхцөл бүрдээгүй бүс нутагт вакцинжуулалт хэрэгжүүлэхийг зөвлөх нь сүрьеэ өвчинтэй тэмцэх ажлыг эрс эрчимжүүлж болох юм.

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

МТИБ-д багтах ихэнх бичил биетэн хүнд халдварлана. Мал, амьтны сорьц, бактерийн өсгөвөр амьд микобактери агуулж болзошгүй тул тэдгээртэй харьцахдаа биологийн эрсдэлийн дүн шинжилгээгээр тогтоосон биохамгаалал, тусгаарлалтын зохих түвшинд гүйцэтгэнэ (1.1.4 Биоаюулгүй ажиллагаа ба биохамгаалал: *Мал эмнэлгийн лаборатори, амьтны байранд биологийн эрсдэлийн удирдлагын стандарт* бүлгийг үз). Үүнд: шаардлагатай газарт биоаюулгүйн шүүгээ ашиглахыг хамруулна.

Үхэрт сүрьеэ өвчний эмгэгшил маш өргөн хүрээнд тархтал ихэнхдээ эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрдэггүй. Ийм учраас Кох туберкулинийг 1890 онд зохион бүтээх хүртэл бодгаль амьтанд онош тогтоох, тандалтын болон өвчнийг устгах хөтөлбөр хэрэгжүүлэх боломжгүй байв. Сүрьеэгийн бациллийн өсгөврийн шүүгдсийг ариутган өтгөрүүлж бэлтгэсэн туберкулинийг арьсан дотор тарьж хэт мэдрэгжилтийн саатмал хариу урвалыг тодорхойлох нь сүрьеэ өвчний өмнө нь авсан болон одоо идэвхтэй халдварыг илрүүлэх шууд бус арга болсон юм. Хүнд хань бараа болдог жижиг амьтан, өвөрмөц/амьтны хүрээлэнгийн амьтны рентгенээр зургийг тогтмол авч эрт илрүүлэх оношилгоо хийдэг.

Эмнэл зүйн болон бие бүтцийн задлан шинжилгээний сорьцоос түрхэц эсхүл эдийн зүсмэг бэлтгэн будаж дурандан МТИБ-ийн бичил биетний ямар зүйл байгааг илрүүлж болох бөгөөд түүнийг өсгөвөрлөлтийн үндсэн тэжээлт орчинд өсгөвөрлөн баталгаажуулна. Сорьц авах сав цэвэрхэн, ариун байна. Сорьцыг ариун бус саванд авбал хүрээлэх орчны бохирдуулагч микобактери, бусад бичил биетэн түргэн үржиж МТИБ-ийн бичил биетнийг ялган танихад саад учруулна. Төрөл бүрийн сорьц авахад нэг удаагийн хэрэглээний 50 мл багтаамжтай хуванцар сав хэрэглэж болно. Лабораторид илгээх сорьцыг асгарахаас хамгаалан сайтар таглаж, тээвэрлэх явцад цохилт доргилт тэсвэрлэхээр найдвартай савлаж баглана. Хүнд халдварладаг өвчний сэжиг бүхий сорьцыг тээвэрлэхдээ 1.1.2. *Оношилгооны сорьц цуглуулах, тээвэрлэх, хадгалах* болон 1.1.3. *Биологийн материал тээвэрлэх* бүлэгт хураангуйлан оруулсан Олон улсын агаарын тээврийн холбоо (IATA)-оос гаргасан Аюултай бараа тээвэрлэх дүрмийг мөрдөнө. Сорьцыг 48 цагийн дотор лабораторид хүргэж чадвал МТИБ-ийн бичил биетнийг сэргээн өсгөвөрлөх боломжийг ихээхэн нэмнэ. Хэрэв илгээлт саатна гэж тооцвол бохирдуулагч бичил биетний ургалтыг зогсоох, микобактерийг хадгалах үүднээс сорьцыг хөргөгчид хийх, эсхүл хөлдөөнө. Орчны дулаан температурт эсхүл хөргөгчгүй үед эдийн дээжийг натрийн боратын ханасан уусмалд хийж зөвхөн 30 хоногоос илүүгүй хугацаанд хадгална.

Оношилгооны үндсэн арга, төрөл бүрийн ажлын зорилгод тэдгээрийн нийцэх байдлыг 1-р хүснэгтэд хураангуйлан оруулж дараагийн хэсгүүдэд тайлбарлав. Хүснэгтэд бүгдийг багтаагаагүй ч төрөл бүрийн эзэн амьтанд янз бүрийн зорилгоор хэрэглэхэд энд орсон аргын тохирох байдлыг харуулна.

Хүснэгт 1. Үхэр, ямаа, тэмээний овгийн амьтанд хэрэглэх оношилгооны арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүйг тогтоох	Бодгалийг шилжилт хөдөлгөөнд оруулахаас өмнө халдваргүйг тогтоох	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх	Сэжигтэй эсхүл эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах	Сүргийн халдварын тархалт тогтоох – талдалт	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгч илрүүлэх						
Хүчилд тэсвэртэй бактери будах, дурандах шинжилгээ	–	–	–	+	–	–
Бактери ялгах	++	–	++	+++	++	–
Бичил бие бүтцийн эмгэг судлал ба эсрэгтөрөгч илрүүлэх	+	–	+	+	–	–
Бодит цагийн ПГУ (дээжинд шууд)	++	–	++	+++	++	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
Арьсны хэт мэдрэгжилтийн сорил	+++ (+++/-)	+++ (+++/-)	+++ (+++/-)	++	+++ (+++/-)	–
ГИЯШ	++ (+++/-)	++ (+/-)	+++ (+++/-)	+	+++ (+++/-)	–
Эсрэг бие илрүүлэх ЕЛИЗА	+	+	+	–	+	–
Эсрэг бие илрүүлэх хэвтээ нэвчих арга	+	+	+	–	+	–

Түлхүүр үг:

+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
 ++ энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
 + = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
 – = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй;

Үхэрт зориулж хар өнгөөр тэмдэглэсэн тухайн арга үхэр, тэмээ, ямаанд хэрэглэх зорилгод нийцэх эсэх нь ялгаатай ба энэ ялгааг ямаанд улаан, тэмээнд цэнхэр өнгөөр тэмдэглэж оруулав.

ЕЛИЗА= Энзим холбоост дархлааны урвал;
 ГИЯШ = Гамма интерфероны ялгарлын шинжилгээ;
 ПГУ= Полимеразагийн гинжин урвал.

1. Үүсгэгч илрүүлэх, ялган таних

1.1. Дурандах шинжилгээ

Эмнэл зүйн сорьцоос бэлдсэн түрхэц, эдийн зүсмэгт хүчилд тэсвэртэй бичил биетэн будах Циль-Нильсений будгаар будаж дурандах аргаар *Mycobacterium* spp-ийг илрүүлж болно. Мөн хүчилд тэсвэртэй флюоресценц будаг хэрэглэж болно. Түүнчлэн дархлаат пероксидазагийн арга хангалттай сайн үр дүн үзүүлнэ. Гематоксилин-эозиноор будаж дурандах аргаар эдийн дээж шинжлэхэд халдварын эсрэг тухайн амьтны дархлааны хариу урвал байдлаар бичил бүтцийн түвшинд илрэх өвөрмөц өвөрмөц хэв шинжит хувирлаар (аарцан үхжил, шохойжилт, эпителиод эс, олон цөмт аварга эс, макрофаг) микобактериар үүсгэх өвчний урьдчилсан оношийг тогтоож болно. Илрэх арьсны гэмтэл нь ихэвчлэн түрхцээр сөрөг дүн үзүүлдэг тул МТИБ-ийн бичил биетнийг өсгөврөөр ялган авч болох ч бичил бүтцийн зүсмэгт хүчилд тэсвэртэй бичил биетэн илрэхгүй байж болно. Гэвч примат, муурны овгийн амьтан, суусрынхан овгийн амьтан (дорго), уутат амьтан (өтгөн сүүлт поссум)-д хүчилд тэсвэртэй бичил биетүүд олон тоогоор илэрнэ.

1.2. Өсгөвөр

Бактериологийн өсгөврөөс микобактерийг амжилттай ялган илрүүлэх нь мал төхөөрөх газарт авсан сорьцын чанар, авсан эдийн сорьцын төрөл, түүнийг лабораторид хүргэх үеийн чанарын хамгаалалт

(хөргөсөн эсхүл хөлдөөсөн), химийн бодисоор халдваргүйжүүлсэн арга, микобактери ургуулахаар сонгож авсан тэжээлт орчноос хамаарна.

Сүрьеэлүүр эсхүл гамма интерфероны шинжилгээгээр эерэг урвалтай амьтныг задлан шинжлэх явцад авсан эдийн сорьц МТИБ-ийн бичил биетнийг ялган авахад хамгийн сайн тохирно. Сүрьеэ өвчний үед илрэх хэвийн бус байдалтай тунгалгийн зангилаа болон торлог хөхөлжийн эрхтнээс шинжилгээ, өсгөвөрлөлтөд зориулж сорьц авна. Хэрэв эмгэг хувиралтай гэмтэл байхгүй бол дээрх зорилгоор толгойн болон амьсгалын ба/эсхүл тэжээл боловсруулах замын эрхтний замын тунгалгийн зангилаанаас сорьц авна. Сүрьеэ өвчтөйд сэжиглэж байгаа жижиг амьтан, амьтны хүрээлэнгийн амьтны тунгалгийн зангилаанаас биопси авах, амны хөндийн арчдас эсхүл мөгөөрсөн хоолойн зайлаадас авч шинжилгээ хийнэ.

Өсгөвөрлөх сорьцыг бэлтгэхдээ эдийн сорьцоос өөх гэх мэт илүүц зүйлийг авсны дараа жижиглэн хэрчиж нийлүүлээд эд няцлагч, эсхүл эд нунтаглагчид (уур, нухуур, хэрчигч гэх мэт) ариутгасан ФБУ-тай хамт хийгээд нэгэн жигд шингэн болгох ба дараа нь заавал бохирдолгүй болгоно. Бохирдолгүй болгох үе шатны зорилго нь эдийн сорьцод байгаа бусад бактерийг ургуулахгүй байхад оршино. Микобактерийн эсийн хананы шинж чанараас шалтгаалан бактери нь зарим төрлийн угаалгын бодист эсхүл рН-ийг огцом өөрчлөхөд тэсвэртэй байдаг байна. Төрөл бүрийн аргыг, тухайлбал 0.375–0.75%-ийн гексадецилпиридин-хлорид бүхий угаалгын нунтаг (НРС), 2–4%-ийн натрийн шүлт, 5% хурган чиний хүчил эсхүл 4% хүхрийн хүчил хэрэглэх аргыг тодорхойлсон байдаг. Микобактерийг үхүүлчихгүйн тулд эдийн сорьцыг бохирдолгүй болгогч бодисоор үйлчлэх хугацааг нарийн хянах нь чухал. Энэ хугацаа эдийн сорьцын болон бохирдолгүй болгогч бодисын хэмжээнээс хамаарч ихэвчлэн 10–20 минутын хооронд байна. Хүчил эсхүл шүлт хэрэглэсэн бол бохирдолгүй болгосны дараа сорьцыг тасалгааны хэмд саармаг рН-д оруулна. Цийдмэгийг хурилдуурдаж дээд хэсгийг зайлуулаад тунасан хэсгийг өсгөвөрлөх болон дурандах шинжилгээнд ашиглана.

Эхний өсгөврийн тунадсыг голдуу хатуу ба/эсхүл шингэн цомог орчинд тарина. Лүвэнштэйн-Еинсен, Колецосын суурь эсхүл Стоунбрик зэрэг өндөгтэй янз бүрийн тэжээлт орчин хэрэглэнэ. Эдгээр орчин пируват эсхүл глицериний аль нэгийг агуулна. Мөн Мидлбрук 7Н10 эсхүл 7Н11 зэрэг агар суурьтай хатуу орчин эсхүл цусан суурьтай агарын орчин хэрэглэж болно (Cousins нар, 1989, Gormley нар, 2014).

Зарим лаборатори өсгөвөрлөлтөд шингэн орчин тогтмол хэрэглэдэг. Шингэн орчин дахь ургалтыг флюороценцийн аргаар хэмжинэ. Микобактери ихэвчлэн шингэн орчинд түргэн ургах учир түүнийг харьцангуй богино хугацаанд илрүүлнэ. Гэвч шингэн орчин бохирдох нь их учраас колонийн хэлбэр зүйгээр анхны онош тавих боломжгүй болгодог сул талтай. Шингэн орчинд бактерийн ургалтыг баталгаажуулахад ПГУ ач холбогдолтой. Үүнээс гадна бохирдолгүй болгодог НРС гэх мэт зарим бодис шингэн орчинд тохирдоггүй болохыг харгалзан үзнэ.

Өсгөврийг д нүүрс хүчлийн хийтэй эсхүл хийгүй нөхцөлд 37°C-наад зах нь зургаан долоо хоног, боломжтой бол 10–12 долоо хоног (*M. microti*-ийн халдварын сэжигтэй бол 16 долоо хоног хүртэл) инкубацлана. Инкубацийн хугацаа хатуу эсхүл шингэн тэжээлт орчин аль нь байхаас хамаарна. Тэжээлт орчныг хатууруулчихгүйн тулд нягт таглагдах саванд хийнэ. Хэрэв хатуу орчныг ташуу цутгаж хэрэглэж байгаа бол инкубацийн хугацаанд өсгөвөржилтийг долоо хоног тутамд шалгана. Өсгөвөр харагдаж эхлэх үед түүнээс түрхэц бэлтгэн Циль-Нильсений аргаар будна.

Үүнээс гадна колониос ДНХ хандалж ялгаад микобактери эсхүл МТИБ-ийн бичил биетэнд өвөрмөц ямар ч ПГУ-ын аргаар шинжилж (1.3 Нуклеин хүчил илрүүлэн таних арга хэсгийг үз) болно. Хэрэглэж байгаа тэжээлт орчин, сүрьеэд өвөрмөц хувирал байсан эсэх, эдийн сорьц дахь бактерийн анхны тооноос хамаарч ихэвчлэн 3–6 долоо хоног инкубацлах хугацаанд *M. bovis* ургана.

Тэжээлт орчин их бохирдсон бол бохирдолгүй болгогч бодисоо сольж эсхүл бохирдуулагчгүй болгох төвшрүүлэг эсхүл хугацааг өөрчлөөд эдийн сорьцоос үлдсэн хэсгийг дахин өсгөвөрлөнө. Лабораторид ирүүлсэн сорьцын чанар муу байх нь бичил биетний өсгөвөржилтийг хязгаарлах гол шалтгаан учраас сайн чанарын сорьц хүлээн авахын төлөө идэвх санаачилга гаргана.

Ургах онцлог шинж, колонийн хэлбэр зүйгээр урьдчилсан онош тавьж болох боловч өсгөвөр бүрийг баталгаажуулах шаардлагатай. *M. bovis*-ийг ихэнхдээ МТИБ-ийн бусад бичил биетэн, тэр дундаа *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. caprae*, *M. microti*, *M. pinnipedii*-аас ялгаварлах шаардлагатай.

Mycobacterium avium эсхүл хүрээлэх орчны бусад микобактерийг үхэрт сүрьеэтэй төстэй илэрсэн эмгэгт хэсгээс ялган авч болно. Ийм тохиолдолд өвчин үүсгэгчийг мадаггүй ялган тогтоож холимог халдварыг ялгаварлах хэрэгтэй болно.

Хэдийгээр МТИБ-ийн бичил биетүүд удаан ургадгаас ихээхэн хугацаа зарцуулдаг боловч өсгөвөржилтийн болон биохимийн шинж чанарыг үндэслэн шинэ өсгөврийг урьдчилсан байдлаар ялган таньж болно. Пируват суурьтай хатуу орчинд *M. bovis*-ийн колони зөөлөн, цайвардуу (шаргал) өнгөтэй байна. Бичил биетэн 37°C-д удаан ургах ба 22°C эсхүл 45°C-д ургахгүй. П-нитробензоинт хүчил 500 мг/литр агуулсан тэжээлт орчинд өсгөвөрлөх замаар МТИБ-ийн бичил биетүүдийг сүрьеэгийн бус микобактериас ялгаварлах нэг арга зам бий. Энэ орчинд МТИБ-ийн бичил биетүүдийг ургахгүй харин бусад ихэнх сүрьеэгийн бус микобактери ургана.

Mycobacterium bovis-нь хүчилтөрөгч маш бага ашигладаг, өнгө өгдөггүй тиофен-2- карбоксилийн хүчлийн гидразин (TCH) болон изоникотоны хүчлийн гидразин (INH)-д мэдрэг байдаг онцлогтой. Эмэнд *Mycobacterium bovis*-ийн мэдрэг чанарыг Мидлбрукийн хатуу агарт орчин 7H10/7H11, өндөгтэй орчин эсхүл шингэн орчин (ECDC, 2018) ашиглан хийх янз бүрийн аргаар үнэлнэ. Өндөгтэй орчныг пируват нэмэхгүйгээр бэлтгэх ба пируват нь INH-ийг саатуулж TCH (INH-тэй адил үйлчлэлтэй)-д мөн адил үйлчлэн улмаар хуурамч эерэг (тэсвэртэй) дүн үзүүлнэ. *Mycobacterium bovis* омог нь пара амин салицилийн хүчил, стрептомицинд тэсвэртэй. Эмийн идэвхтэй байх төвшрүүлэг өндөг суурьтай болон агар суурьтай орчинд өөр байна. Ниацин үүсгэж нитратыг бууруулж байвал *M. bovis* сөрөг гэж үзнэ. Амидазын сорилд *M. bovis* нь уреазад эерэг, никотинамидаза, пиразинамидазад сөрөг байна.

1.3. Нуклеин хүчлийг таних арга

1.3.1. Полимеразагийн гинжин урвал

Өсгөврийг МТИБ-ийн түвшинд түргэн ялган танихын тулд 16S–23S rPHX-ийг онилон, IS6110 эсхүл IS1081 угсрах дараалал эсхүл эдгээртэй төстэй МТИБ-д өвөрмөц байг төлөөлж чадах дараалал ашиглан Полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ) хэрэглэж болно. МТИБ-ийн бичил биетнийг зүйлийн түвшинд ялган танихын тулд геном дахь “ялгарах өвөрмөц муж” байгаа эсэхийг, эсхүл тухайн зүйлийг тодорхойлогч (дан - нуклеотид) полиморфизм илрүүлэх молекул генетикийн арга хэрэглэнэ. Омгийг ялгаварлах түүнчлэн молекул эпидемиологийн шинжилгээнд туслах зорилготой сполиготайпинг аргаар эсхүл улам их хэрэглэгдэх болсон геномын бүрэн дараалал тогтоох аргаар хэвшлийг молекулын түвшинд тогтоож бичил биетний дэд зүйлийг ялган таньж болно.

Хүний эмнэл зүйн сорьцод (ихэнхдээ цэр) МТИБ-ийн бичил биетүүдийг илрүүлэхэд ПГУ-ыг тогтмол хэрэглэдэг бөгөөд мал, амьтны сүрьеэ өвчний оношилгоонд хэрэглэх нь улам бүр ихэссээр байна. Шинэ сорьц эсхүл бэхжүүлсэн эдэд МТИБ-ийн бичил биетүүдийг илрүүлэх худалдаанд гарсан хэд хэдэн цомог болон тухайн улс дотооддоо хөгжүүлсэн төрөл бүрийн аргад үнэлгээ хийсэн байна. Хамгийн чухал нь ДНХ хандалж ялгахдаа механик болон химийн аргаар задлах шатыг оруулжээ (Lorente-Leal нар, 2019). ПГУ-аар олшруулахаар онилсон нуклеин хүчлийн бай хэсэг нь МТИБ-ийн төрөл бүрийн зүйл бичил биетэн эсхүл тодорхой зүйл амьтанд өвөрмөц болохыг дээр өгүүлсний адилаар ялган таньж тодорхойлжээ. ПГУ-аар МТИБ-ийн бичил биетүүдийг ялган таних хамгийн нийтлэг бай хэсэг нь IS6110 эсхүл IS1081 (эсхүл хоёул) байдаг. Бодит цагийн ПГУ-д суурилан эдгээр хоёр бай хэсгийг илрүүлэх хэд хэдэн арга боловсруулсан бөгөөд эдгээр аргын үр дүнг өсгөвөрлөх эсхүл бичил бие бүтцийн эмгэг судлалын үр дүнтэй харьцуулахад маш сайн тохирч байсныг мэдээлсэн байна (Soucoul нар, 2014; Sanchez-Carvajal нар, 2021). Сайн баталгаажсан праймерийн болон пробын дарааллын нэг жишээ нь АНУ-ын ХААД-ны сүрьеэ өвчнийг тандах хөтөлбөр хэрэгжүүлэхэд хэрэглэсэн, IS1081 болон IS6110-ийг онилсон дараах дараалал юм (Dykema нар, 2016).

IS1081:

IS1081_F1 5'-GGC-TGC-TCT-CGA-CGT-TCA-TC;
IS1081_R1 5'-CGC-TGA-TTG-GAC-CGC-TCA-T;
IS1081_P1 5'-CTG-AAG-CCG-ACG-CCC-TGT-GC;

IS6110:

IS6110_F1 5'-CAG-GAC-CAC-GAT-CGC-TGA-TC;
IS6110_R1 5'-CTG-CCC-AGG-TCG-ACA-CAT-AG;
IS6110_P1 5'-CGT-CCC-GCC-GAT-CTC-GTC-CA,

Шинжлэгдэхүүнд онилж олшруулсан бүтээгдэхүүнийг бодит цагийн шинжилгээгээр пробтой нийлүүлэх аргаар илрүүлэх эсхүл гель электрофорезоор илрүүлж будах арга хэрэглэж байна. Худалдаанд гарсан цомгууд болон “дотооддоо хөгжүүлсэн” аргыг шинэ, хөлдөөсөн, эсхүл борын хүчилд хадгалаасласан эдэд хэрэглэн лаборатори дундын баталгаажуулалт хийхэд ихэнхдээ хангалтгүй үр дүн үзүүлсэн учраас тэдгээрийн нарийвчлалыг улам сайжруулахын тулд нэмэлт баталгаажуулалт хийх шаардлагатай байна. Бацилл цөөн тоогоор агуулж байгаа дээж хуурамч эерэг эсхүл хуурамч сөрөг дүн өгөх нь ихэнхдээ асуудал дагуулна.

Шинжилгээ хийхийн өмнө сорьц боловсруулах, тэр дундаа бохирдолгүй болгох, ДНХ ялгах арга ажиллагаа, полимераза энзим идэвхгүйжүүлэгчийг зайлуулах гэх мэт үйлдэл шинжилгээний үр дүнд багагүй нөлөөлнө. МТИБ-ийн бичил биетнийг молекул генетикийн аргаар найдвартай ялган тодорхойлох ажилд стандарт ажиллагааны заавар, хандлалт, олшруулалтад хэрэглэх дотоод, гадаад хяналт, солбицох бохирдлоос хамгаалах арга ажиллагааг мөрдөх, бодит цагийн ПГУ-д таглаатай цодон ашиглахыг чухалчлан зөвлөж байна.

1.3.2. ДНХ фингерпринтинг

Молекул эпидемиологийн зорилгоор МТИБ-ийн бичил биетнийг ялгаварлах төрөл бүрийн ДНХ-ийн хэвшил тогтоох аргыг боловсруулжээ (Guimaraes & Zimpel, 2020; Merker нар, 2017). Эдгээр

арга нь МТИБ-ийн бичил биетүүдийг ялган таних, гарал үүслийг мөшгөх, тэдгээрийн дамжин халдварлалт, тархалтыг тухайн сүрэг дотроос эхлээд дэлхий дахинаа мөшгөн тогтоох ач холбогдолтой. МТИБ-ийн бичил биетүүдийн генийн хэвшлийг тогтооход ПГУ-д суурилсан сполиготайпинг аргыг өргөн хэрэглэж байна (Kamerbeek нар, 1997). Энэ аргаар код агуулдаггүй ДНХ-ийн үл давтагдах мужаар зааглагдсан дараалсан давталттай богино дарааллыг янз бүрийн хэмжээгээр агуулдаг, хромосоомоор кодлогдсон локусыг олшруулна. Лабораторийн нөхцөлд *in-vitro* олшруулсан ДНХ-ийн омог-өвөрмөц “сполиготайп”-ийн дарааллыг олон тооны спейсер олигонуклеотидтэй эрлийзжүүлсний дараа тодорхойлох ба дижитал кодоор илэрхийлнэ. Сполиготайпыг ялган таних, албан ёсны нэр өгөхөд стандарт арга зүй, нэршлийг хэрэглэх, тэдгээрийн шинж чанарын хоорондын нийцлийг цахимаар хайн олж авч болох өгөгдлийн сантай болох нь тухайн омгийг мөшгөн тогтоох, эпидемиологийн судалгаа хийхэд лаборатори хооронд сполиготайпыг харьцуулах ихээхэн боломж бий болно² (Souvin нар, 2019). МТИБ-ийн генетик хэвшлийг тогтоох аргын ялгаварлах чанарыг сайжруулахын тулд сполиготайпинг аргыг голдуу микобактерийн ДНХ-ийн давтагддаг, тархмал нэгжүүд (MIRU-MTDN) болон янз бүрийн богино ДНХ-ийн давтагдлыг тогтоох (VNTR-МБДТ) аргатай хослон хэрэглэж байна. Эдүгээ 24-локустай MIRU-VNTR ПГУ-ыг *M. tuberculosis*-д хэрэглэж байгаа (Supply нар, 2006) ба харин шинжилгээний ялгаварлан тогтоох чанарыг үлэмж сайжруулахын хамт зардал, цаг хугацаа хэмнэх үүднээс энэ аргыг *M. bovis* and *M. caprae*-ийн тухайд ДНХ-ийн тодорхой нэг өвөрмөц мужийн локустай хамгийн оновчтой байдлаар хамтруулж хэрэглэхийг зөвлөдөг юм.

1.3.3. Геномын бүрэн дараалал тогтоох

МТИБ-ийн бүх бичил биетний геномын дарааллыг тогтоосон ба эпидемиологийн судалгаа, түүнчлэн МТИБ-ийн дамжин халдварлах хэлхээ холбоо, хөдлөл зүй, хувьслыг ойлгож мэдэх үүднээс генийн хэвшил тогтоох, өсгөврүүдийг хооронд нь ялгаварлах өдөр тутмын ажилд геномын бүрэн дараалал тогтоох аргыг хэрэглэх нь улам бүр нэмэгдсээр байна (Guimaraes & Zimpel, 2020).

2. Хэт мэдрэгшлийн сорил

2.1. Арьсны сүрьеэлүүрийн сорил

Арьсны сүрьеэлүүрийн сорил (АСС) нь төрөл бүрийн хөхтөн амьтан, үүний дотор үхэр, хонь, ямаа, бугын төрлийн амьтанд сүрьеэ өвчнийг илрүүлэх стандарт арга юм. Энэ сорил нь сүрьеэлүүр гэгдэх цэвэршүүлсэн уургийн ханд (туберкулин)-ыг арьсан дотор тариад тарьсан хэсгийн арьсанд хэт мэдрэгжилтийн саатмал урвалын нөлөөгөөр үүссэн зузааралтыг тодорхой хугацааны зайтайгаар хэмжих арга юм (жишээ нь үхэрт 72 цагт).

АСС-ын оронд рентген шинжилгээ хийдэг болсон учир түүнийг нохой, муур зэрэг жижиг амьтанд зөвлөдөггүй.

АСС-ыг хүзүүний дан сорил (ХДС) эсхүл сүүлний угийн сорил (СУС)-ын аль нэг хэлбэрээр, үхрийн сүрьеэлүүрийг дангаар нь хэрэглэх арьсны дан сорил (АДС)-оор, эсхүл үхрийн сүрьеэлүүр хэрэглэхэд үүссэн арьсны зузааралтыг шувууны сүрьеэлүүр хэрэглэхэд үүссэнтэй харьцуулдаг хүзүүний харьцуулах сорил (ХХС)-оор гүйцэтгэж болно. АДС хэрэглэхэд ХХС-ыг бодвол илүү мэдрэмтгий, харин ХХС нь илүү өвөрмөц байдаг. ХХС-ыг орчны микобактериар эсхүл МТИБ-ийн бичил биетүүдээс өөр, эсрэгтөрөгчийн хувьд солбицон урвалд орох бичил биетнээр мэдрэгжсэн байж болох амьтны мэдрэгжилтийг тогтооход хэрэглэнэ (Good нар, 2018).

Саяхнаас эсрэгтөрөгч нь тодорхой арьсны сорил (ЭТАС) боловсруулсан нь түүний мэдрэх чанарыг ХХС-той, өвөрмөц чанарыг АДС харьцуулахад нэмэгдэж АДС болон ХХС-ын зарим сул талыг арилгахуйц болжээ. ЭТАС-ыг халдвар авсан амьтныг БЦЖ вакцин тарьсан амьтнаас ялгаварлахад мөн хэрэглэж болох юм (Srinivasan нар, 2019).

Үхэр, хонь, ямаа, бугын төрлийн амьтанд хүзүүний дан сорил (ХДС), хүзүүний харьцуулах сорилыг (ХХС) хүзүүний хажуу дунд хэсэгт, харин сүүлний угийн сорилыг (СУС) сүүлний угийн нугалаасны дотор талын арьсанд (гэвч энэ нь бугын төрлийн амьтанд тохирохгүй) хийнэ. Сүрьеэлүүрт хэт мэдрэгжилт сүүлний уг хэсгээс илүү хүзүүний тус газар тод илэрнэ. Гэсэн хэдий ч олон улс оронд үхрийн сүрьеэ тандах, тэмцэж устгах ажилд ХХС болон СУС-ыг амжилттай хэрэглэжээ.

Сүрьеэлүүрийн арьсны сорилыг үхэр болон бугын төрлийн амьтнаас бусад зүйлийн амьтанд сайтар баталгаажуулаагүй байна. Үүнтэй холбоотойгоор үхэрт ХДС, ХХС, СУС-ыг хэрэглэх, үр дүнг үнэлэх аргыг бусад зүйлийн амьтанд хэрэглэхэд адилхан арга гэж ихэвчлэн үздэг. Зарим зүйл амьтанд эсрэгтөрөгч тарих хэсэг, хэт мэдрэгжилтийн урвалыг үнэлэх хугацааг өөрөөр тогтоож болно. Жишээ нь гахайд сүрьеэлүүрийг чихний угт тариад хэт мэдрэгжилтийн урвалыг 48 эсхүл 72 цагт үнэлнэ. Бичний

² www.mbovis.org; www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT2/index.jsp

багийн амьтанд “хуучин сүрьеэлүүр”-ийг дээд зовхинд тарина (доор дурдсаныг, түүнчлэн 3.10.10. Хүнээс бусад приматаас дамжин халдварлах өвчин бүлгийг үз).

МТИБ-ийн бичил биетэнд өртсөн амьтан сүрьеэлүүрт хэт мэдрэг байвал идэвхтэй халдвартай байгаа амьтныг халдвараас ангижраад байгаа амьтнаас арьсны сүрьеэлүүрийн сорилын эерэг үр дүнгээр ялгаварлаж чадахгүй. Иймээс сорилыг тухайн нөхцөл байдлаас хамааруулан үнэлнэ.

Халдварын дараах 3-6 долоо хоногт хэт мэдрэгжилтийн саатмал урвал илрэхгүй байж болох ба саяхан халдвар авсан эсхүл дархлаа нь суларсан бодгаль амьтан хуурамч эерэг урвал үзүүлж болно. Иймээс “сүрьеэгийн халдвараар тайван сүрэг” гэж зарлахын тулд тухайн сүргийн бүх мал, амьтанд 6-8 долоо хоногийн зайтай дараалан хийсэн арьсны хэд хэдэн сорилын дүн шаардагдана. Зарим тохиолдолд архаг халдвартай, өвчин нь хүндэрсэн амьтанд огт хариу урвал илрэхгүй эсхүл маш бага хариу урвал өгөх тохиолдол гарч болно. Үүнээс гадна сүрьеэлүүрийг дахин давтан, ялангуяа 6 долоо хоногоос бага зайтай хэрэглэвэл амьтан мэдрэгжхээ больж жинхэнэ эерэг нь орхигдож магадгүй юм. Хуурамч сөрөг гэж сэжиглэх ийм тохиолдолд ийлдэс судлалын эсхүл тодорхой эсрэгтөрөгчийн эсрэг эсээр дамжин илрэх дархлааны хариу урвалын шинжилгээг өөр хувилбар арга болгон эсхүл баталгаажуулах шинжилгээ болгон ашиглаж болно. ХДС, СУС, ХХС-ыг хэн хэрэглэх нь тухайн улсын дүрэм журам, шинжилгээ хийх ерөнхий нөхцөл, зорилгоос хамаарна. Өвчин эндемик тархалттай улсад тандах шинжилгээ хийх эсхүл тэмцэх арга хэмжээ хэрэгжүүлж эхлэх үед өвөрмөц чанараар өндөр ХХС-ыг голдуу ашигладаг. Өвчин нэгэнт батлагдсан тохиолдолд халдвартай амьтан үлдээхгүйн тулд мэдрэх чанар өндөр арга хэрэглэхийг эрхэмлэнэ. Орчны микобактери ихтэй бүс нутагт ХХС мөн ач холбогдолтой, Үүний эсрэгээр мэдрэх чанар өндөр ХДС эсхүл СУС-ыг ихэвчлэн, хэрэв өвчний гаралт бага бол халдвараас тайван болохыг баталгаажуулахад хэрэглэнэ.

2.2. Шинжлэх арга зүй

2.2.1. Сүрьеэлүүрийг арьсан дотор тарих

Сорил тавих ажилтан амьтанд сорил тавих талаар тусгайлан сурч дадлагажсан, зөвшөөрөл авсан байна. Эсрэгтөрөгч хэрэглэхийн өмнө тарих хэсгийн үсийг хайчилж цэвэрлэнэ. Хүзүүний хажуу дунд хэсэгт сүрьеэлүүр тарихын өмнө тарих хэсгийн арьсны зузааныг штангенциркулээр хэмжиж тарих хэсэгт тэмдэг тавина.

Миллиметрийг хуваах нь бодит нарийвчлал болохгүй учраас арьсны зузааны хэмжээг бүтэн миллиметрээр бүртгэнэ. Хүн болон багаж сольсноос үүдэх хэмжлийн зөрүү гаргахгүйн тулд тарихын өмнө болон тодорхой хугацааны дараа арьсны зузааныг нэг хүн нэг штангенциркуль ашиглан хэмжинэ.

Эсрэгтөрөгч соруулсан хуваарьтай тариурын богино зүүг үзүүрийн налууг нь гадагш харуулан ташуу хатгаад сүрьеэлүүрийг арьсны гүн үед тогтоосон хэмжээгээр найдвартай хийнэ. Энэ ажилд тохиргоо хийж сайтар тордсон олон тунгийн тариур эсхүл олон удаа тарих автомат тариур хэрэглэхийг чухалчилна. Нимгэн, эмзэг арьстай буга, хонь, ямаа, бусад амьтанд заримдаа нарийхан сүвтэй зүү (жишээ нь 25G) сонгон хэрэглэдэг. Үхрийн болон шувууны сүрьеэлүүр аль алины идэвхийг лавлагааны сүрьеэлүүртэй харьцуулан биологийн аргаар тогтооно. Сүрьеэлүүрийг хамгийн багадаа 2000 ОУН-ээр эзлэхүүнийг 0.2 мл-ээс хэтрүүлэлгүйгээр хэрэглэнэ. Тарьсан хэсэгт харах, дарахад вандуй шиг жижиг хаван үүссэн байвал зөв тарьсан гэж үзнэ.

ХХС хийх тохиолдолд алдаа гарахаас сэргийлж шувууны сүрьеэлүүрийг ямагт дээд талд нь үхрийн сүрьеэлүүрийг доод тал нь хоорондоо 15 см орчим зайтай байхаар тарина. Хүзүүний нэг талд хоёр тарилт хийх талбай хүрэлцдэггүй өсвөр эсхүл жижиг биетэй амьтанд хүзүүний хоёр талын хажуугийн гурав хуваасны дунд хэсгийн голд ижил байршилд тарина.

СУС хийхэд богино зүүний үзүүрийн налууг гадагш харуулан сүүлний угийн нугалрах хэсгийн хажуу талын үсэн бүрхүүлийн хөвөө болон доод талын дунд хэсэгт ташуу хатгаад сүрьеэлүүрийг арьсны гүн үед хийнэ. Тарьсан хэсгийг ойроос сайтар шалгах, болгоомжтой барилахад хэвийн бүс өөрчлөлт мэдрэгдэнэ.

Тарьсан хэсгийн арьсны зузаан нэмэгдсэн эсэхийг $72(\pm 4)$ цагийн зайтай эсхүл амьтны зүйлээс хамааруулан тогтоосон цагт хэмжинэ.

2.2.2. Үхэрт хийсэн сорилын дүнг унших

Тарьсан хэсгийн эмнэл зүйн шинж тэмдэг, эсрэгтөрөгч хэрэглэсний дараах арьсны зузаан нэмэгдсэн хэмжээг үндэслэн арьсны сорилын дүнг үнэлнэ. Урьдчилан тогтоосон босго хэмжээнээс арьсны зузаан илүү гарсан амьтныг эерэг урвал үзүүлсэнд тооцно. Дараах зааварчилгааг тухайн нутгийн нөхцөл, хэрэгжиж байгаа зохицуулалтаас хамааруулан янз бүрээр хэрэглэнэ. Жишээ нь орон нутгийн болон тухайн улсын энэ өвчинтэй тэмцэх

хөтөлбөрийг эрчимжүүлэх үүднээс арьсанд ямар нэг байдлаар барилагдаж байгаа урвалыг эерэгт тооцохыг зөвшөөрдөг, тэр дундаа СУС-д ихэвчлэн зөвлөдөг нэлээд чанга үнэлгээ бий.

2.2.2.1. Хүзүүний дан сорил (ХДС)

Хүзүүний дан сорил хийхдээ үхрийн сүрьеэлүүрийг нэг удаа тарих ба урвалыг хэрэв хаван нь 2 мм эсхүл түүнээс бага бол сөрөг гэж үзэх нь нийтлэг байдаг. Арьсны зузааралт 2 мм-ээс 4 хүртэл мм байвал тодорхойгүй, харин 4 мм, түүнээс дээш бол эерэг гэж үзнэ.

ΔВ	Үр дүнгийн үнэлгээ
≤ 2mm	Сөрөг
> 2 and < 4mm	Дүгнэлт хийх боломжгүй
≥ 4mm	Эерэг

Хүзүүний дан сорилын дүн тодорхойгүй нөхцөлд 6 долоо хоногийн дараа хоёр дахь удаа сорил тавина. Дахин хийсэн сорилын дүн тодорхойгүй нөхцөлд эерэг урвалд тооцно.

Ялангуяа эрсдэл өндөр популяци эсхүл хавьталтай байсан амьтны урвалын үр дүнг илүү хатуу үнэлэхийг зөвлөдөг.

2.2.2.2. Хүзүүний харьцуулах сорил (ХХС)

ХХС-ын дүнг үнэлэхэд үхрийн сүрьеэлүүр хэрэглэхэд арьсны зузаан 2 мм-ээс бага нэмэгдсэн бол ихэвчлэн сөрөг гэж үзнэ. Тухайн улсын журам зохицуулалтаас хамаараад ихэвчлэн үхрийн сүрьеэлүүр хэрэглэхэд нэмэгдсэн арьсны зузааралт шувууны сүрьеэлүүр хэрэглэсэн газар үүссэн урвалынхаас 4 мм-ээс илүү байвал эерэг гэж тооцно. Хэрэв үхрийн сүрьеэлүүр хэрэглэхэд үзүүлсэн урвал 2 мм ба түүнээс дээш, шувууны сүрьеэлүүр хэрэглэсэн урвалаас 4 мм эсхүл түүнээс бага байвал тус урвалыг тодорхойгүй гэж үзнэ. Дүгнэлт хийх боломжгүй урвалтай амьтныг 6 долоо хоногийн дараа давтан шинжилнэ. Хэрэв үхрийн сүрьеэлүүр хэрэглэхэд нэмэгдсэн арьсны зузаан шувууны сүрьеэлүүр хэрэглэхэд нэмэгдсэн хэмжээнээс бага эсхүл тэнцүү бол тухайн амьтныг сөрөг гэж үзнэ.

ХХС-оор дүгнэлт хийх боломжгүй амьтанд 6 долоо хоногийн дараа дахин буюу хоёр дахь шинжилгээ хийнэ. Эерэг урвалтай эсхүл тодорхойгүй урвалтай гарсан амьтныг эерэг гэж үзэн сүргээс тусгаарлана. Халдвартай нь тодорхой сүргийг сүрьеэ өвчнөөс ангижруулах ажлыг эрчимжүүлэх үүднээс тодорхойгүй буюу дүгнэлт хийх боломжгүй урвал үзүүлсэн амьтныг нэмж 6 сар хүлээн мэдрэгжилт арилахыг хүлээлгүйгээр урвалын дүнг эерэгт тооцож болох илүү хатуу үнэлгээ хэрэглэж болно.

Хүзүүний харьцуулсан сорилд үнэлгээ хийх

Эхний сорил			Үр дүн тодорхойгүй үед давтах сорил		
ΔВ (mm)	ΔВ – ΔА (mm)	Үр дүнгийн үнэлгээ	ΔВ (mm)	ΔВ – ΔА (mm)	Үр дүнгийн үнэлгээ
< 2	–	Сөрөг	< 2	–	Сөрөг
≥ 2	≤ 0	Сөрөг	≥ 2	≤ 0	Сөрөг
	> 0 ба ≤ 4	тодорхойгүй		> 0 ба ≤ 4	Эерэг
	> 4	Эерэг		> 4	Эерэг

2.2.2.3. Сүүлний угийн сорил (СУС)

Үхрийн сүрьеэлүүр тарьсан хэсэг ямар нэг байдлаар хавдах, мэдрэгжих, эсхүл арьс зузаарахыг стандарт үнэлгээгээр эерэг хариу урвал гэж үзнэ. Энэ үнэлгээ нь тухайн улсын тогтоосон журмын дагуу өөр өөр байх ба зарим улсад >3мм-ээс илүү нэмэгдвэл эерэг урвал гэж үзэх босго түвшин болгон хэрэглэнэ. Хариу урвалын түвшин адилгүй байж болох ба энэ нь халдварын төлөв байдлыг илтгэхгүй. Хариу урвал нь жижиг, хатуу, шошгоны хэмжээтэй, зарим нь нэлэнхий, хязгаарлагдмал эсхүл том хэмжээтэй байж болно. Жинхэнэ хариу урвал мөн эсэхэд эргэлзвэл сүрьеэлүүр тарьсан хэсгийн эсрэг тал хэвийн хэмжээнээс өөр байгаа эсэхийг барилах аргаар тогтооно. Аливаа өөрчлөлтийг тэмдэглэнэ. Барилах аргаар үнэлээгүй бол хүчингүйд тооцно.

АДС-ын нэгэн адилаар СУС-ыг илрүүлэх шинжилгээнд хэрэглэсэн бол хуурамч эерэг дүн гарч болно. СУС-оор эерэг гарвал эхний сорилоос хойш 10 хоногийн эсхүл 60 хоногийн дотор ХХС ашиглан хоёр дахь сорил тавина.

2.2.3. Бугын төрлийн амьтанд хийсэн сорилын үр дүнгийн үнэлгээ

Бугын төрлийн амьтанд (хандгай, цаа буга, цагаан сүүлт буга, япон буга, бусад) зөвхөн хүзүүний дунд хэсэгт сорил тавина. Бугын хүзүүний нэг талын хажууг гурав хуваасны дунд хэсэгт эхний тарилтыг толгойноос хойш 100 мм зайд, нөгөө тарилтыг түүнээс 130 мм зайд тус тус хийнэ. Жижигхэн биетэй буганы хүзүүний хоёр талд тарина.

Мэдрэг байдлыг багасгахын тулд арьсанд давтан хийх сорилыг 120 хоногийн зайтай хийнэ. Европын холбоонд ХДС, ХХС-ын үр дүнг үнэлэхдээ үхэрт үнэлдэгтэй адилхан арга хэрэглэдэг. АНУ-д ан олзворын зэрлэг бугын төрлийн амьтанд ХДС-ыг эхний шинжилгээнд харин ХХС-ыг нэмэлт шинжилгээнд хэрэглэхийг зөвлөдөг. Хэрэв ХДС-д урвал үзүүлбэл 120 хоногийн дараа давтан шинжлэх заалт бий.

2.2.4. Хонь, ямаанд хийсэн сорилын үр дүнгийн үнэлгээ

Хонь, ямаанд хийх арьсны сорил, үр дүнгийн үнэлгээний баталгаажилтыг үхэр, бугад хийсэн шиг сайн хийгээгүй (Роу нар, 2020 үз) ажээ. Арьсны сорилыг хонь, ямааны хүзүүний дунд хэсэгт байх эсхүл далны тус газар ХДС, эсхүл ХХС, эсхүл СУС ашиглан хийнэ. Ноосны чанарыг муутгахгүй байх үүднээс ноосгүй бусад хэсэг тухайлбал цавины дотор талд хийж болно. Хүзүүний талбай бага учраас хүзүүний хоёр талд сүрьеэлүүр тарьж ХХС тавина. ХДС, ХХС-ын дүнг үнэлэхдээ тухайн улсын тогтоосон журамд нийцүүлэн үхэрт үнэлдэгтэй ижил хэмжилт, үнэлгээний арга хэрэглэнэ.

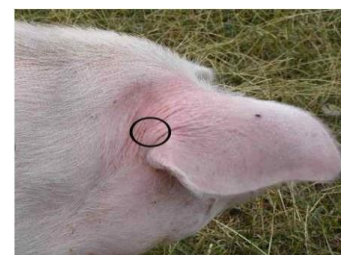
2.2.5. Тэмээний овгийн амьтанд хийсэн сорилын үр дүнгийн үнэлгээ

Арьсны сорилыг суга, хүзүү, далны өмнө талд хийнэ. Үхрийн болон шувууны сүрьеэлүүр нэгэн зэрэг ашиглах нөхцөлд биеийн хоёр талд нэг ижил газар (хүзүү, далны өмнө, суга) арьсан дотор тарина. Хоорондоо хангалттай зааглах зайтай бол хоёр сүрьеэлүүрийг биеийн нэг талд хүзүү, далны өмнөх хэсэгт тарьж болно. ХДС, ХХС-ын дүнг үнэлэхдээ тухайн улсын тогтоосон журамд нийцүүлэн үхэрт үнэлдэгтэй ижил хэмжилт, үнэлгээний арга хэрэглэнэ.

Тэмээний овгийн амьтанд хийсэн арьсны сорил үхэрт хийсэнтэй харьцуулахад мэдрэх болон өвөрмөц чанараар доогуур байгааг тогтоожээ. Европын холбоонд энэ аргыг ийлдэс судлалын аргын хавсарга байдлаар ашиглахыг зөвлөдөг.

2.2.6. Гахайд хийсэн сорилын үр дүнгийн үнэлгээ

ХХС-д эсрэгтөрөгч тус бүрийг 2000 ОУН тунгаар хэрэглэхийг зөвлөдөг. Гахайд хариу урвал маш тод илэрч болох ба сүрьеэлүүрийн төвшрүүлгийг ихдүүлбэл арьсанд үхжил үүснэ. Толгой чихний дундах ховил дахь чихний угийн сул арьсанд таривал зохистой. Шувууны сүрьеэлүүрийг зүүн чихний, үхрийн сүрьеэлүүрийг баруун чихний уг хэсэгт тарина. Урвалыг 48 эсхүл 72 цагийн дараа уншина. Үр дүнг тухайн улсын тогтоосон журамд нийцүүлэн ХХС-ыг үхэрт үнэлдэгтэй адил аргаар эсхүл барилах аргаар хийнэ.



2.2.7. Ховор болон амьтны хүрээлэнгийн амьтанд хийсэн сорилын үр дүнгийн үнэлгээ

Бичний багийн амьтанд *M. tuberculosis* эсхүл *M. bovis*-ийг илрүүлэхийн тулд “Хөхтний хуучин сүрьеэлүүр”-ийг дээд зовхины дунд хэсэгт дотор талаас нь ирмэг рүү ойртуулж тарина. Сорилыг давтахаар бол нөгөө зовхинд хийнэ. Тарьснаас хойш 24, 48, 72 цагийн дараа урвалыг уншина. 1 ба 2 дугаар зэргийн урвалыг сөрөг, 3 дугаар зэргийг тодорхойгүй, 4 ба 5 зэргийг эерэг гэж үзнэ. 3.10.10. Хүнээс бусад приматаас дамжин халдварлах өвчин бүлгийг мөн үзнэ үү.

Зэрэг	Урвал
0	Урвалгүй
1	Сүрьеэлүүр тарьснаас зовхиноос цус шүүрч хөхөрсөн
2	Зовхины дотор тал янз бүрээр улайсан
3	Улайж эсхүл улайхгүйгээр дунд зэрэг хавдсан
4	Зовхи улайж эсхүл улайхгүйгээр илт хавдаж унжсан
5	Зовхи ямар нэг хэмжээгээр хавдаж үхэжсэн, зовхи хагас эсхүл бүтэн аньсан

Өсгөвөрөөр эерэг мөртлөө арьсанд тарьсан сүрьеэлүүрт хуурамч эерэг урвал үзүүлэх нь их учраас энэ аргыг заанд хэрэглэхийг зөвлөдөггүй.

2.3. Эсрэгтөрөгч нь тодорхой арьсны сорил

M. bovis хээрийн өсгөвөр болон БЦЖ вакцины омгийн гол эсрэгтөрөгч бүрдүүлэгч хэсгийг ялган таних, шинж чанарыг тогтооход чиглэсэн судалгааны ажил арьсны сорил болон цусны шинжилгээний аргыг боловсруулахад хүргэсэн бөгөөд эдгээр арга нь молекул түвшинд тодорхойлсон эсрэгтөрөгчийн хариу урвалыг илрүүлэхэд суурилна (Middleton нар, 2021). Тодорхой эсрэгтөрөгч ашиглах оношилгооны эдгээр арга өөрөө дангаараа эсхүл арьсны сүрьеэлүүрийн ердийн сорил гэх мэт бусад аргатай хослон оношилгооны мэдрэх чанар, өвөрмөц чанарыг сайжруулах, мөн түүнчлэн *M. bovis*-оор халдварласан амьтныг вакцинжуулсан эсхүл орчны микобактерийн халдвар авсан амьтнаас ялгаварлахад хэрэглэх боломжтой (Srinivasan нар, 2019).

3. Цусанд суурилсан лабораторийн шинжилгээ

Арьсанд сүрьеэлүүрийн сорилоос гадна МТИБ-д амьтны үзүүлэх эсийн эсхүл шингэний дархлааны хариу урвалыг цусанд хэмжих хэд хэдэн аргыг боловсруулжээ. Өртөг өндөр, хэрэглэхэд төвөгтэй учраас заавал лабораторид хийдэг эдгээр шинжилгээг ихэвчлэн халдвар авсан амьтны илрүүлэлтийг (зэрэгцээ шинжилгээ) сайжруулах эсхүл арьсны сорилын үр дүнг баталгаажуулахад (цуврал шинжилгээ) туслах шинжилгээ маягаар хэрэглэнэ. Арьсны сүрьеэлүүрийн сорил хэрэглэхэд эсрэг бие илрүүлэх зорилгоор хийдэг шинжилгээний мэдрэх чанар дээшилдэг нь тогтоогдсон бөгөөд хэрэв арьсны сорил тавьснаас 2-8 долоо хоногийн дараа ийлдэс авч шинжилбэл шинжилгээний нарийвчлал сайжирна. Гамма интерфероны ялгарлыг хэмжих шинжилгээ нь эсийн дархлааг тодорхойлдог бол шингэний дархлааг ЕЛИЗА, хөндлөн нэвчилтийн түргэн арга зэрэг ийлдэс судлалын аргаар тодорхойлно.

3.1. Гамма интерфероны ялгарлын шинжилгээ (ГИЯШ)

Өсгөвөрлөсөн бүхэл цусанд лимфоцит эсээс ялгарах гамма интерфероныг энэ аргаар тодорхойлно. Энэ арга нь өвөрмөц эсрэгтөрөгчтэй (сүрьеэлүүр) хамт 16-24 цаг өсгөвөрлөхөд мэдрэгжсэн лимфоцитээс ялгарах гамма интерфероныг хэмжихэд суурилна (Wood нар, 1990). Шинжилгээнд үхрийн болон шувууны сүрьеэлүүрээр идэвхжүүлснээр ялгарсан гамма интерфероныг харьцуулах арга хэрэглэнэ. Гамма интерфероны агууламжийг үхрийн гамма интерфероны эсрэг хоёр төрлийн ижил гарлын эсрэг бие ашигладаг сэндивич ЕЛИЗА ашиглан тодорхойлно. Цусны сорьцыг зөвшөөрсөн (жишээ нь 17–27°C) температурыг баримтлан лабораторид хүргээд аль болохоор удаалгүй, гэхдээ цус авсны дараагийн өдрийг өнгөрөөлгүйгээр шинжилнэ (Coat нар, 2007). Сүрьеэлүүрээр цус идэвхжүүлж байгаа нөхцөлд шинжилгээний нарийвчлал ямар байх талаар ялангуяа “өвөрмөц бус” урвал их илэрдэг нутагт зарим болгоомжлол бий. Гэвч ГИЯШ-ээр халдварыг эхний шатанд нь илрүүлэх чадвартай учраас ГИЯШ болон арьсны сорилыг зэрэгцүүлж хэрэглэснээр халдвартай олон тооны амьтныг бусад амьтанд, мөн түүнчлэн байгаль орчинд халдвар тараах эх үүсвэр болохоос нь урьтаж илрүүлэх боломж олгоно (Gormley нар, 2006). Микобактерийн ESAT-6 болон CFP-10 гэх зэрэг нэгэнт тодорхой болсон эсрэгтөрөгчийг хэрэглэх нь өвөрмөц чанарыг өндөрсгөх (Buddle нар, 2001) ба Англи, Шинэ Зеланд, Франц зэрэг хэд хэдэн улсад эдгээр эсрэгтөрөгчийг олон удаа хийх шинжилгээнд хэрэглэж байна.

Ийм эсрэгтөрөгч хэрэглэх нь БЦЖ вакцин тарьсан болон вакцинжуулаагүй амьтныг ялгах боломж олгоно. Дошгин, барих харьцахад хэцүү эсхүл аюултай амьтныг зөвхөн нэг удаа барьж сорьц аваад хийдэг ГИЯШ нь арьсны сорилыг бодвол давуу талтай. ГИЯШ нь Европын холбоо, Англи, АНУ, Шинэ Зеланд, Австрали зэрэг олон орны үндэсний хөтөлбөр хэрэгжүүлэхэд хэрэглэхээр батлагдаад байна. Шинэ Зеланд, Англид жишээ нь ГИЯШ нь олон удаа хийх (өвөрмөц чанарыг сайжруулах) болон зэрэгцүүлэн харьцуулж хийх (мэдрэх чанарыг сайжруулах) аль аль шинжилгээнд ашиглагдаж байна. Үхэр болон приматад зориулсан цомог худалдаанд гарсан ч тэд цөөн хэдэн зүйл амьтанд хэрэглэж болохоор баталгаажсан байна.

3.2. Өвөрмөц эсрэг бие илрүүлэх ийлдэс судлалын арга

Хорин нэгдүгээр зуунд амьтны сүрьеэг оношлоход ийлдэс судлалын шинжилгээ хэрэглэх нь ихсэж байна. ЕЛИЗА арга хамгийн өргөн хэрэглэгдэж байгаа ч ийлдэс судлалын өөр аргуудыг (хэвтээ нэвчих буюу түргэн сорил, олон эсрэгтөрөгч илрүүлэх дархлаа судлалын арга эсхүл мультиплекс хими люминесценцийн арга) боловсруулаад байна (Bezoz нар, 2014). Ийлдэс судлалын арга нь эсэд суурилсан оношилгооны аргад хавсарга болж халдвартай амьтныг илрүүлэх, тэжээвэр болон зэрлэг амьтны сүрьеэ өвчинтэй тэмцэхэд хэрэглэгдэх ач холбогдолтой нэмэлт арга болж байна (Casal нар, 2017; Thomas & Chambers, 2021). Тэмээний овгийн амьтанд ийлдэс судлалын аргыг арьсны сорил хийснээс хойш 15-30 хоногийн дараа хийх хавсарга шинжилгээ болгон хэрэглэхийг зөвлөдөг. Эдгээр аргын давуу тал нь хэрэглэхэд энгийн, өртөг бага, ГИЯШ-тэй харьцуулахад зохион байгуулалтын ажил бага шаарддаг, тухайлбал эсрэгтөрөгчөөр идэвхжүүлэлт хийх шаардлагагүй, сорьцыг шинжлэхийн өмнө удаан хугацаанд хадгалж болдог оршино. Эдгээр арга нь ялангуяа эсийн дархлааны аргад зохих түвшний хариу урвал үзүүлдэггүй амьтныг илрүүлэхэд ихээхэн ач холбогдолтой. MPB83, MPB70, ESAT-6, CFP-10 зэрэг өвөрмөц эсрэгтөрөгчийг хамтатган хэрэглэх нь ийлдэс судлалын аргын мэдрэх болон өвөрмөц чанарыг нэмэгдүүлдэг нь тогтоогджээ (Thomas & Chambers, 2021).

Сүүлийн жилүүдэд зэрлэг (зэрлэг бодон, буга, дорго) болон тэжээвэр амьтанд (үхэр, хонь, ямаа, гахай, альпака) төрөл бүрийн арга зүйгээр эсрэг бие илрүүлэх шинэ аргууд арьсны сорилыг бодвол илүү сайн үр дүн өгч байгаа нь харагдаж байна. Үүний жишээ нь үхрийн сүрьеэлүүрээс баригч хроматографийн аргаар салгасан олон уургийн P22 гэж нэрлэсэн иж бүрдэлд суурилсан P22 ЕЛИЗА эсхүл хавтангийн үүрний ханыг эсрэгтөрөгчөөр бүрэх болон конъюгат болгон хэрэглэсэн МРВ83 уургийг ашиглан МРВ83-ын эсрэг өвөрмөц эсрэг биеийг давхар таньж илрүүлэх ЕЛИЗА юм (Cardoso-Toset нар, 2017; Casal нар, 2017; Infantes-Lorenzo нар, 2019).

МТИБ-ийн халдварыг зэрлэг амьтанд илрүүлэхэд ийлдэс судлалын арга чухал юм. МРВ83 уураг болон СРР10/ESAT-6 уурагт суурилсан хэвтээ нэвчих арга нь тэжээвэр амьтны халдвар илрүүлэхэд, ялангуяа зэрлэг амьтан, амьтны хүрээлэнгийн амьтанд хэрэглэхэд хялбар, үр дүн удалгүй гардаг ач холбогдолтой байна. Энэ аргын мэдрэх чанар хязгаарлагдмал боловч эсэд суурилсан арга хэрэглэх боломжгүй, арьсны сорилын үр дүн найдваргүй нь тогтоогдсон газарт хэрэглэхэд ач холбогдолтой байна (Greenwald нар, 2009; Lyashchenko нар, 2008; Thomas & Chambers, 2021).

ДМАЭМБ-аас сүрьеэ өвчнийг оношлох, тэмцэхэд бусад аргатай хавсарга болгон хэрэглэх үхрийн ийлдэс болон сийвэн ашигладаг хэд хэдэн аргад үнэлгээ хийсэн байна. Дэлгэрүүлж ДМАЭМБ-ын оношилгооны цомгийг бүртгэх хэсгийг үзнэ үү³.

В. ВАКЦИН, ОНОШИЛГООНЫ БИОБЭЛДМЭЛД ТАВИХ ШААРДЛАГА

1. Вакцин

Энд хэсэгт болон 1.1.8. *Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэлийн зарчим* бүлэгт мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх ерөнхий шинжтэй зааварчилгааг оруулсан бөгөөд түүнд тухайн улсын болон бүс нутгийн шаардлагыг нэмж болно.

Эдүгээ *M. bovis*-ийн халдварын эсрэг хэрэглэдэг цорын ганц вакцин нь *M. bovis*-ийн амьд сулруулсан омгоор бэлтгэсэн Кальметт-Герений бацилл (БЦЖ) вакцин юм. Бусад хэд хэдэн вакциныг туршсан боловч аль нь ч БЦЖ вакцинаас илүү хамгаалалт тогтоож чадаагүй байна (Vordermeier нар, 2016).

БЦЖ вакцин үхэр, бусад мал, түүнчлэн чөлөөтэй амьдрах болон ан олзворын зэрлэг амьтанд аюулгүй болох нь тогтоогджээ. Вакцины үр нөлөө янз бүрийн түвшинд байдгийг үхэрт хийсэн зориудын болон үйлдвэрлэлийн туршилтаар тогтоосон байна. Ийнхүү янз бүр байгаа нь вакцины найрлага, амьтны нас, вакцин олгосон арга зам, орчны микобактерид өртөх байдал зэрэг хүчин зүйлээс шалтгаална. БЦЖ вакцины тогтоодог хамгаалалт нь вакцинжуулсан амьтан сүрьеэгийн халдварт мэдрэмтгий чанар нь буурдаг, мөн түүнчлэн эмгэгших, халдвар тараах чанар нь вакцинжуулалтын үр дүнд багасдагаас халдвар цааш дамжих нь буурдаг оршино.

Системтэйгээр нягталж шалгах ажил болон мета судалгааны дүн шинжилгээгээр үхэрт хийсэн зориудын халдварын эсрэг БЦЖ вакцины шууд үр нөлөө хүнд ажиглагдсантай төстэй буюу ердөө (~25%) дундаж түвшинд байгаа нь харагджээ (Srinivasan нар, 2021). Гэвч бодит байдал дээр БЦЖ вакцин хэрэглэсний шууд болон шууд бус үр дүнг харгалзан үзэж хийсэн дүн шинжилгээгээр сүрьеэ өвчний тархалт халдварын анхны түвшнээс хамаарч энэ өвчнөөр албан ёсоор тайван болох түвшинд хүртэл дорвитой буурсан, сүүлийн 50 жилд сүрьеэ өвчний тохиолдлын хуримтлагдсан нийлбэрийн 50-95% нь эдгэрсэн нь харагдаж байна. Ийм учраас үхрийн сүрьеэ өвчин эндемик тархалттай нутагт БЦЖ вакцин хэрэглэх нь энэ өвчинтэй тэмцэх ажлыг хурдасгах, ялангуяа одоохондоо үхрийн сүрьеэ өвчинтэй тэмцэх үр дүнтэй хөтөлбөр хэрэгжээгүй бүс нутагт саалийн эрчимжсэн аж ахуйн нөхцөлд эртнээс хэрэгжүүлэхэд тус болно.

Вакцинжуулснаас хойш 1-2 жилд хамгаалалтын түвшин сул байдаг ч хоёр жилийн дараах дархлаа суларсан үед нь давтан вакцинжуулахад хамгаалалт сэргэдгийг туршилтаар тогтоожээ. Халдвартай үхэрт БЦЖ вакцин тарихад халдвар сэдэрхгүй. (Buddle нар, 2016).

БЦЖ вакцины омог, тэр дундаа Дани 1331, Пастер 1173Р2, орос омгийг 10^4 - 10^6 КҮН-ээр арьсан дор тарина. Вакцин хэрэглэх нь арьсны сүрьеэлүүрийн сорил, дархлаа судлалын бусад аргын үр дүнд сөргөөр нөлөөлж болох тул молекул түвшинд судласан сүрьеэлүүрийг оношилгооны эсрэгтөрөгч болгон ашиглах хэрэгтэй. БЦЖ вакцин тарьсан малыг *M. bovis*-ын халдвар авсан малаас ялгах боломж олгох, ялангуяа гамма интерфероны сорилд (Vordermeier нар, 2016) эсхүл арьсны сорилын урвалж (Srinivasan нар, 2019) болгон ашиглах ДИВА гэгдэх эсрэгтөрөгчийг хөгжүүлэхэд томоохон дэвшил гарсан бөгөөд энэ эсрэгтөрөгч нь БЦЖ вакцины зарим омогт байдаггүй эсхүл экспресслэгддэггүй *M. Bovis*-ын генийн мужийг кодогдог генийн бүтээгдэхүүнийг ашиглахад тулгуурлажээ. Үүнээс үүдэн ДИВА шинжилгээний аргыг баталгаажуулж түүнийг хэрэглэх эрх зүйн орчин бүрдүүлснээр үхэр болон бусад зүйл амьтныг БЦЖ вакцинаар вакцинжуулах ажил хэрэгжих боломжтой болно.

Түүнчлэн БЦЖ вакциныг зэрлэг амьтны халдварын голомтод *M. bovis*-ын тархалтыг бууруулахад хэрэглэж болно. Англит БЦЖ вакциныг доргоны булчинд $2-8 \times 10^6$ КҮН-ээр тарьж вакцинжуулах түр зөвшөөрөл авсан байна. БЦЖ вакцинжуулалтын үр дүнд байгалийн нөхцөлд дорго *M. bovis*-ын халдвар авах нь буурч вакцинжуулсан бүлэгтэй хамт байгаа вакцинжуулаагүй ганьс халдвар авах эрсдэл буурсан (Carter нар, 2012) ба зарим тохиолдолд үхрийн

³ <https://www.woah.org/en/what-we-offer/veterinary-products/diagnostic-kits/the-register-of-diagnostic-kits/>

сүрьеэгийн тохиолдол цөөрдгийг (Martin нар, 2020) хээрийн судалгаа харуулжээ. БЦЖ вакциныг өтгөн сүүлт поссум болон Европ доргонд дотуур олгоод *M. bovis*-ын байгалийн халдварт өртүүлэхэд чамлахааргүй хамгаалалт үүсгэж байсныг хээрийн судалгаа харуулсан байна (Gormley нар, 2017; Tompkins нар, 2009). Өтгөн сүүлт поссум болон Европ доргонд БЦЖ вакциныг амаар олгоход БЦЖ омог баасаар түр гадагшилж байсан хэдий ч аюулгүй болох нь харагджээ (Perrett нар, 2018).

2. Сүрьеэлүүрийн үйлдвэрлэл

Сүрьеэлүүрийг шөлөн дээр өрөмтөж ургах МТИБ-ийн шингэн өсгөврийг халаах аргаар идэвхгүйжүүлж бэлтгэнэ. Халааж өтгөрүүлдэг хуучин сүрьеэлүүрийн оронд гурван хлорт цууны хүчил (ГХЦХ) эсхүл аммонийн сульфатаар тунадасжуулж бэлтгэсэн эдгээр сүрьеэлүүрийн өвөрмөц идэвх өндөр юм. Эсийн ханын өвөрмөц бус хэсгийг зайлуулах нэмэлт шүүлтийн шат нь сүрьеэлүүрийн өвөрмөц чанарыг сайжруулна. Үүнээс гадна үхрийн сүрьеэлүүрийг бага зардлаар их хэмжээгээр үйлдвэрлэхийн тулд глицеринтэй шөл дээр “гоёмсгоор” өрөмтөж ургадаг AN5 нэртэй мутант *M. bovis* -ыг сонгон авсан байна.

M. bovis AN5 омгоор үйлдвэрлэсэн сүрьеэлүүрийг үхэрт арьсанд тарьж хэрэглэсэн дүнг өмнө нь сүрьеэ өвчнийг устгах цогц ажилд хэрэглэж байсан *M. tuberculosis* омгийн өсгөврөөс бэлтгэсэн “хүний” сүрьеэлүүртэй харьцуулахад илүү өвөрмөц байна.

БЦЖ вакцин хэрэглэдэггүй бүс мужид арьсан дотор тарьдаг сорил болон/эсхүл ИГЯШ-д ашиглахыг чухалчилдаг урвалж болох үхрийн сүрьеэлүүрийг ХДС-д, эсхүл шувууны сүрьеэлүүрийг ХХС-д хослуулан хэрэглэхийг Газрын амьтны өвчний оношилгоо, вакцины энэхүү гарын авлагад стандартчиллын ашиг сонирхлын үүднээс үргэжлүүлэн зөвлөх болно. Эдгээр аргын дэлгэрэнгүйг Б.2 Хэт мэдрэгжилтийн сорил, Б.3.1 Гамма интерфероны шинжилгээ хэсгээс үзнэ. Тухайн улсын болон орон нутагт хийх тандах судалгаанд хэрэглэх аливаа сүрьеэлүүрийг лавлагааны тогтоосон стандарттай харьцуулан баталгаажуулна.

2.1. Эх омгийн менежмент

Сүрьеэлүүрийн чанар нь ESAT-6, CFP-10, Rv3615c зэрэг Т эсийн доминант эсрэгтөрөгчийг үүсгэх чадвартай, мөн түүнчлэн глицеринтэй шөл дээр ургадаг чадвартай омог шиг үйлдвэрлэлийн омгийн чадвараас ихээхэн хамаардаг тул хоруу чанартай, шинж чанарыг сайтар судалж тогтоосон бусад омог үхрийн сүрьеэлүүрийн үйлдвэрлэлд тохирч болно. Гэвч үйлдвэрлэл, чанарын шалгалтыг олон улсын түвшинд стандартчилах, уялдуулах ашиг сонирхлын үүднээс үхрийн сүрьеэлүүр үйлдвэрлэхэд *M. bovis* AN5 эсхүл *M. bovis* Vallee гэсэн сайтар судалж тогтоосон омгийг зөвлөдөг. 70 гаруй жил ашиглагдсан эдгээр омгийн шинж чанарыг сайтар тогтоожээ. Эдгээр омгийн гарал үүслийн болон холбогдох түүхийн мэдээлэл, үүний дотор лавлах лабораториос (жишээ нь AN5-ыг Веибрижээс нийлүүлсэн цагаас хойш) аваад хийсэн зорчуулалтын тоо, сполиготайп, бүтэн генийн дарааллын (боломжтой бол) бүртгэл мэдээллийг хадгална. Эх омгийн өсгөврөөр ашиглагдаж байгаа *M. bovis* омог бичил биетний бохирдолгүй болохыг харуулах хэрэгтэй.

2.2. Өсгөврөлөх арга

Үйлдвэрлэлд ашиглах өсгөврийн эх үүсвэр нь хатуу тэжээлт орчинд ургуулсан анхдагч өсгөвөр бол бичил биетнийг хөвмөл өсгөвөр эсхүл өсгөвөр дээр өрөмтөж ургахад дасгах шаардлагатай (жишээ нь Ватсон ридийн тэжээлт орчин зэрэг шингэн тэжээлт орчинтой өсгөврийн колбод төмсний ариутгасан хэрчим хийх). Өсгөвөр шингэн тэжээлт орчин дээр өрөмтөж ургадаг болж дасах тохиолдолд үндсэн эх омгийн хөлдөөн хатааж хадгалах бэлдцийг үйлдвэрлэхэд түүнийг ашиглаж болно. Шаардлага хангах сүрьеэлүүр үйлдвэрлэхэд хэрэг болох чадварыг бүх эх омогт туршин судлах аргаар шалгана.

Үйлдвэрлэлийн сайн дадлын зааварчилгааны дагуу үхрийн сүрьеэлүүрийн чанарыг тогтмол баталгаатай байлгахын тулд шинж чанарыг сайтар тогтоосон үйлдвэрлэлийн эх омогт зориулсан үндсэн болон ажлын эх омгоос бэлтгэх эх омгийн бэлдцийн системийг бий болгож -70°C, түүнээс доош температурт хадгална. Үйлдвэрлэлд ашиглах тэжээлт орчинд ургуулах ажлын эх омог нь үндсэн эх омгоос дөрвөөс илүүгүй зорчуулсан байх ёстой. Ажлын эх омог үхрийн сүрьеэлүүр үйлдвэрлэхэд шаардагдах чанараа гээдэг учраас түүнийг тодорхой хугацааны дараа ажлын шинэ эх омгоор солино.

2.3. Үйлдвэрлэх арга, явцын хяналт

Үхрийн сүрьеэлүүр үйлдвэрлэхэд ажлын эх омгийг өсгөврийн Ру колбонд хийсэн глицеринтэй шөлөнд (тархи сархиатах эмгэг үүсгэгчгүй нь баталгаажсан) тарих ба шингэн тэжээлт орчны дээд талаар өрөм тогтох үед өрмийг хувааж эцсийн бүтээгдэхүүнийг *M. bovis*-ын бус уургаар бохирдуулахгүйн тулд Дорсет-Хенлей гэх мэт үйлдвэрлэлийн нийлэг тэжээлт орчин хийсэн олон тооны пенициллин колбод тарилт хийнэ.

Ойролцоогоор 60 хоног үргэлжлэх өсгөвөрлөлтийн явцад өсгөвөржилтийг өдөр бүр шалгаж хэвийн бус өсгөвөр, жишээ нь өнгө нь хувирсан, бохирдсон шинжтэй, эсхүл тунасан нь илэрвэл тэдгээрийг эцсийн бүтээгдэхүүний чанарт нөлөөлөхөөс урьтаж гаргаж авна. Хэвийн бус эдгээр өсгөврийг автоклавдсаны дараа устгана.

Улмаар өсгөврийг 98–100°C-д 2-3 цаг халааж идэвхгүйжүүлээд эсийн үлдэгдлийг эхлээд том хэсгийг нь бүдүүн шүүлтүүрээр, төгсгөлд нь Зеитцийн ЕК1 зэрэг нарийн шүүлтүүрээр дараалан шүүж тунгалагшуулна. Төрөл бүрийн шүүлтүүрийг хамтруулж хэрэглэх, тэдгээрийн шүүх чадал, түүнчлэн шүүлтүүр бүрийн дугаар нь шүүх зүйлийн эзлэхүүнээс маш их хамаарах ба уусдаггүй материалыг аль болохоор шүүж зайлуулах нь эцсийн бүтээгдэхүүний өвөрмөц чанарыг сайжруулах чухал үе шат юм.

Шүүдэс дэх уургийг гурван хлорт цууны хүчлээр (үйлдвэрлэгчээс хамаарч эсхүл аммоны сульфат) тунадасжуулна. Улмаар тунадсыг дараалан угаах, хурилдуурдах шатны дараа 0.04% ж/э фенол агуулсан глюкоз-фосфатын изотоник буферт шүлтээр боловсруулж саармаг рН (6.5–7.0) бүхий усанд уусдаг уураг болгоно.

Эцсийн бүтээгдэхүүн эсхүл “баяжмал” дахь уургийн төвшрүүлгийг Кьелдалийн аргаар тодорхойлж голдуу нийт азот эсхүл ГХЦХ тунадасжуулсан азот гэж илэрхийлнэ.

Эцсийн бүтээгдэхүүний идэвх, өвөрмөц чанарыг үхрийн сүрьеэлүүр, шувууны сүрьеэлүүрийн олон улсын стандарт ашиглан усан гахайд тодорхойлно.

Идэвхийн шалгалтын дүнгээс хамаарч 0.04% ж/э фенол агуулсан глюкоз-фосфатын изотоник буферээр (рН 6.5–7.0) шингэлж худалдаанд гаргах бүтээгдэхүүний арьсан дотор тарих хамгийн бага тун 2000 ОУН байхаар эцсийн шингэлэлт хийнэ. Эдүгээ арьсны сорилын хамгийн оновчтой байх мэдрэх чанарыг худалдаанд гаргасан олон тооны үхрийн сүрьеэлүүрийн нэг тунд 2500 эсхүл 3000 ОУН идэвхтэй байхаар тооцолсон байна.

Үхрийн сүрьеэлүүрийн уургийн эцсийн төвшрүүлгийг аль болохоор 1.0 мг/мл-д ойрхон байлгах нь сүрьеэлүүрийн өвөрмөц чанарыг хангахад чухал бөгөөд уургийн төвшрүүлэг өндөр бүтээгдэхүүн өвөрмөц чанараар сул байдаг учраас олон улс орон уургийн дээд төвшрүүлгийг сүрьеэлүүрт тавих шаардлагын нэг хэсэг болгон зааж өгсөн байдаг.

2.4. Цувралын хяналт

Сорьц нь Европын фармакопей эсхүл түүнтэй адилтган тогтоосон стандартад заасан сүрьеэлүүр үйлдвэрлэх албан ёсоор хүлээн зөвшөөрөгдсөн стандартад нийцсэн байна.

2.4.1. Ариун чанар

Ариун чанарыг ерөнхийдөө олон улсын зааварчилгааг баримтлан шалгана (1.1.9 *Мал эмнэлгийн зориулалтаар хэрэглэх биологийн материалын ариун чанар, бохирдолгүй болохыг шалгах* бүлгийг үз).

2.4.2. Аюулгүй чанар

Шалгаж байгаа сүрьеэлүүрээс 0.5 мл-ийг өмнө нь энэ шалгалтын дүнд нөлөөлөх ямар нэг зүйлээр боловсруулалтад ороогүй, тус бүр 250 г-аас доошгүй жинтэй хоёр усан гахайн арьсан дор тарина. 7 хоногийн дотор ямар нэг хэвийн бус нөлөө үзүүлэхгүй байх ёстой.

Сүрьеэлүүрт амьд микобактери байгаа эсэхийг шалгахын тулд сүрьеэлүүрийг эцэслэн савлахын өмнөхөн эсхүл эцсийн савлагаатай байхад нь сорьц авна. 10 мл-ээс доошгүй сорьц авч наад зах нь гурван усан гахайн хэвлийн хөндийд хувааж тарина. Сорьцыг ахиухан буюу 50 мл авч дараа нь хурилдуурдах эсхүл мембран шүүлтүүрээр үлдэц аливаа микобактерийг шүүж өтгөрүүлэх нь илүү тохиромжтой. Усан гахайг 42 хоногоос доошгүй хугацаанд ажиглаж дараа нь үхүүлээд бие бүтцийн эмгэг хувирлыг шалгана. Ямар нэг гэмтэл байвал микроскопоор шалгах ба өсгөвөр хийнэ.

2.4.3. Мэдрэгжүүлэх нөлөө

Мэдрэгжүүлэх нөлөөг шалгахад өмнө нь энэ шалгалтын дүнд нөлөөлөх ямар нэг зүйлээр боловсруулаагүй гурван усан гахай сонгон авч тус бүрийн арьсан дотор 5000 ОУН-тэй тэнцэх үхрийн сүрьеэлүүр 0.1 мл хэмжээгээр гурван удаа тарина. Усан гахай бүрийг гуравдахь тарилтаас хойш 15-21 хоногийн дараа, туршилтад сонгон авсан ижил сүрьеэлүүрээр өмнө нь тарилт хийгээгүй хяналтын гурван усан гахайн хамт арьсан дотор ижил тунгаар тарина. 24-48 цагийн дараа шалгахад хоёр бүлэг усан гахайн үзүүлэх урвал онцын ялгаагүй байх ёстой.

2.4.4. Идэвх

1980-аад онд Дэлхийн эрүүл мэндийн байгууллага (ДЭМБ) олон улсын шинэ стандартыг боловсруулж өмнөх орон нутгийн стандарттай дүйцэх 32,500 ОУН/мг нэгжийг тогтоож өгсөн байна. Энэ шинэ стандартыг үхрийн сүрьеэлүүрийн олон улсын стандарт (ЮОУС) гэж нэрлэх

болжээ. Мал эмнэлгийн албад, худалдааны бүтээгдэхүүн үйлдвэрлэгчид энэ стандартыг ИБУИНХУ-ын Биологийн стандарт, хяналтын үндэсний хүрээлэнгээс авч өөрийн бүтээгдэхүүний цуврал нь олон улсын стандартад нийцэж байгааг баталгаажуулах зорилгоор улсынхаа болон байгууллагынхаа лавлагааны стандартад тохируулга хийж болно. Одоогоор ҮОУС-ын нийлүүлэлт хязгаарлагдмал байгаа учраас ДМАЭМБ-аас олон улсын стандарт үхрийн сүрьеэлүүр 2 (ISBT- 2) шиг лавлагааны шинэ урвалж үйлдвэрлэх, тохируулга хийх олон улсын хамтын ажиллагааны судалгаа эхлүүлээд байна. Энэ урвалжийн баталгаажуулалт дуусахаар ДМАЭМБ зарлах болно.

Үхрийн сүрьеэлүүр үйлдвэрлэдэг улс үхрийн сүрьеэлүүрт зориулсан ажлын стандарт болгох үндэсний лавлагааны бэлдмэлийг гаргаж авах хэрэгтэй. Эдгээр үндэсний стандарт бэлдмэлийг үхрийн сүрьеэлүүрт зориулсан олон улсын албан ёсны стандарттай (BIS/ISBT-2) харьцуулан усан гахайд туршилт хийж тохируулга, залруулга хийнэ.

2.4.4.1 Үхрийн сүрьеэлүүрийг стандартчилах

а) Амьд *M.bovis*-оор мэдрэгжүүлсэн усан гахай

Үхрийн сүрьеэлүүрийн сорьцын идэвхийг үхрийн сүрьеэлүүрийн лавлагааны бэлдмэлтэй харьцуулах буюу, нэг бол олон улсын стандарттай эсхүл үндэсний лавлагааны стандарттай харьцуулан *M. bovis* AN5 зэрэг үйлдвэрлэлийн омгоор халдварлуулсан усан гахайд тодорхойлно.

Шинжилгээ хийхийн өмнө амьтны үүлдэр, түүнийг ханган нийлүүлэгч, халдварлуулах тун, халдварын үргэлжлэх хугацаа зэрэг хувьсагч хүчин зүйлийг харгалзан үзсэн шалгалт шинжилгээний удирдамжийг нягтлан баталгаажуулна. Үүнд: эдгээр хувьсагч хүчин зүйлийн хослол, хэрэглэж байгаа сүрьеэлүүрийн дараалсан шингэлэлтийн тооцоолсон идэвхийн үр дүнд 8 мм-ээс багагүй, 25 мм-ээс томгүй голчтой гүвдрүү үүссэн байвал шалгах шинжилгээ баталгаатай болсон гэж үзнэ. Халдвар үүсгэх тун цуврал бүрд тэдгээрийн хоруу чанараас хамааран ихээхэн ялгаатай байх тул шинэ цуврал бүрийг сайтар шалгаж амьтны тавлаг байдлыг алдагдуулахаас болон ажиллагсдын эрүүл мэндэд учрах эрсдэлийг нэмэгдүүлэх бацилли ялгаруулсаар байдаг идэвхтэй хэлбэрийн сүрьеэ өвчин гаргахаас сэргийлнэ.

Тус бүр нь 400-600 г жинтэй, наад зах нь 8 цагаан усан гахайг бага тунгаар буюу, жишээ нь *M. bovis* AN5 гэх мэт үйлдвэрлэлийн омогтой гомолог амьд бациллын 0.0001 мг нойтон масс тунгаар шинжилгээ эхлэхийн өмнөх 4 долоо хоногос доошгүй хугацаанд халдварлуулна. Натрийн хлоридийн 9 г/литр уусмалаас 0.5 мл авч түүнд бациллыг уусган сэргээгээд гуяны дотор талын булчингийн гүнд тарина.

Идэвхийг шалгах тохиромжтой загвар удирдамж: Үхрийн сүрьеэлүүрийн хоёр сорьцын идэвхийг дээр дурдсан халдварлуулах хоёр загвараар 8 эсхүл 9 усан гахайд стандарт сүрьеэлүүртэй харьцуулан тооцоолж гаргана. Ингэхдээ үхрийн сүрьеэлүүр тус бүрийн 2 сорьц, стандартыг хоорондоо тав дахин зайтай гурван шингэлэлтээр бэлтгэнэ. Сүрьеэлүүрийн бэлдмэлийг 0.005 г/литр полисорбат 80-ыг агуулсан изотоник фосфатын буфержүүлсэн давсны уусмалд (рН 6.5–7.5) шингэлнэ. Хамгийн тохиромжтой төвшрүүлэг нь арьсанд үүсгэх урвал зөвшөөрөгдөх хязгаарт (8–25 мм) сайн харагдаж байхаар сонгосон байх хэрэгтэй. Жишээ нь сүрьеэлүүрийн уургийн 0.001, 0.0002, 0.00004 мг нь сүрьеэлүүрийн олон улсын стандартын 32, 6.4, 1.28 ОУН -тэй тохирч байхаар хэрэглэнэ. Тарих эзлэхүүн 0.2 мл байна.

Нэг шинжилгээнд: шалгах хоёр сүрьеэлүүрийг стандарт сүрьеэлүүртэй харьцуулан найман усан гахайд тус бүрийн арьсан дотор найман тарилт хийж балансжуулсан бүрэн бус LSD загвар (Latin square design) ашиглана.

Ердийн нөхцөлд сүрьеэлүүр тарьснаас хойш 24 цагийн дараа урвалыг унших ба нэмээд дахин уншина гэвэл 48 цагийн дараа уншиж болно. Янз бүрийн голчтой улайсан хэсгийг штангенциркульээр хэмжиж миллиметрийн аравны нэг хэсгээр илэрхийлэн тэмдэглэнэ. Үр дүнд Финейгийн (1978) заасны дагуу зэрэгцээ шугамын шинжилгээнд зориулсан стандарт статистикийн арга ашиглан статистик үнэлгээ хийнэ. Зэрэгцээ шугамын дүн шинжилгээний статистикийн программ Комбистатыг Европын фармакопей эсхүл EDQM -аас авч болно.

Шалгасан хоёр сүрьеэлүүрийн харьцангуй идэвхийг тэдгээрийн 95%-ийн үнэмшлийн хязгаар, бэлдмэл тус бүрийн *log* тун-хариу урвалын муруйны налалт (*log* тунг нэмэгдүүлэх нэгж бүрд ногдох дундаж урвалын өсөлт) болон зэрэгцлэлээс хазайх F харьцаагаар тооцно.

Европын фармакопейд зааснаар үнэмшлийн хязгаар ($p=0.95$) тооцоолсон идэвхийн 50 хувиас багагүй, 200 хувиас ихгүй байснаас бусад тохиолдолд шалгалтыг хүчингүйд тооцно. Тооцоолсон идэвх нь заасан идэвхийн 66 хувиас багагүй, 150 хувиас ихгүй байна. Заасан идэвх 20000 ОУН/мл-ээс багагүй байна.

б) Үхүүлсэн *M.bovis*-оор мэдрэгжүүлсэн усан гахай

M. bovis-оор халдварлуулсан усан гахайг маллах биохамгаалал бүхий байгууламж байхгүй лабораторид халааж идэвхгүйжүүлсэн эсрэгтөрөгч ашиглан усан гахайг мэдрэгжүүлэх замаар идэвхийг шалгах өөр хувилбар голдуу хэрэглэдэг. Мэдрэгжүүлэгч эсрэгтөрөгч ялгаатай байдаг учраас үр дүнг хоёр загварын хооронд шууд харьцуулах боломжгүй. Хоёр загвараар шалгасан сүрьеэлүүрийн идэвхийг лаборатори хоорондын харьцуулалтаар үнэлэхийг зөвлөдөг.

Амьд AN5 омог ашигладаг шинжилгээний адилаар тухайн загварт ашиглаж байгаа мэдрэгжүүлэх тун болон үхрийн сүрьеэлүүрийн шингэлэлтийн идэвх хоёрыг оновчтой хослуулах үүднээс “халааж идэвхгүйжүүлсэн” сүрьеэлүүрийн идэвхийн шинжилгээнд баталгаажуулалт хийнэ.

Шинжилгээг дараах байдлаар хийнэ: сүрьеэлүүрийн үйлдвэрлэлд ашигладаг нэг ижил омгийн сүрьеэлүүрийг халааж идэвхгүйжүүлсэн *M. bovis*-оор мэдрэгжүүлсэн усан гахайд стандарт үхрийн сүрьеэлүүртэй харьцуулан 20, 10, 5, 2.5 ОУН орчим дөрвөн шингэлэлтээс бүрдэх найман цэгийн био шинжилгээ хийнэ. Тарих эзлэхүүн 0.1 мл байна. Энэ шинжилгээнд шалгах үхрийн хоёр сүрьеэлүүрийг олон улсын/тухайн улсын стандарт үхрийн сүрьеэлүүртэй харьцуулан найман усан гахайд арьсан дотор Латин талбайн загвар ашиглан найман тарилт хийнэ. Усан гахайг шинжилгээ эхлэхээс 5-7 долоо хоногийн өмнө *M. bovis*-ын бациллээр мэдрэгжүүлнэ. Халааж идэвхгүйжүүлсэн бациллийг буферт уусган сэргээгээд эрдэс тосон хүчлүүрээр цийдмэг болгоно. Хоёр гуяны дотор талын булчингийн гүнд 0.5 мл-ээр тарина.

2.4.5. Өвөрмөц чанар

Өвөрмөц чанарын шалгалтыг дараах байдлаар явуулна: шалгах үхрийн гурван сүрьеэлүүрийг шувууны стандарт сүрьеэлүүртэй харьцуулан (эсхүл шувууны гурван сүрьеэлүүрийг үхрийн стандарт стандарт сүрьеэлүүртэй харьцуулах) гетеролог аргаар мэдрэгжүүлсэн усан гахайд сүрьеэлүүр бүрийг 25 дахин зайтай 2 шингэлэлтээр дөрвөн цэгийн аргаар шинжилнэ. Шалгах сүрьеэлүүрийн уургийн 0.03 мг болон 0.0012 мг нь ойролцоогоор 975 ОУН ба 39 ОУН-тэй тус тус тэнцэх ба эдгээр тун нь арьсан дээр мэдэгдэж уншигдахаар урвал өгдөг учраас сонгосон тун болно.

Стандартын тарих тун нь 0.001 мг, 0.00004 мг буюу бага байна. Нэг шинжилгээгээр шалгах гурван сүрьеэлүүрийг стандарт сүрьеэлүүртэй харьцуулан найман усан гахайд тус бүрийн арьсан дотор Латин талбайн аргын балансжуулсан бүрэн загвар ашиглан найман тарилт хийнэ. Үр дүнг унших болон статистик үнэлгээ хийх нь идэвхийн шалгалт хийдэгтэй адилхан боловч шаардлага хангах сүрьеэлүүр нь гомолог аргаар мэдрэгжүүлэлт хийсэн стандартаас 10%-иас хэтрэхгүй биологийн идэвхтэй байх ёстойг үр дүнг боловсруулахдаа анхаарна.

2.4.6. Тогтвортой чанар

Сүрьеэлүүрийг үйлдвэрлэлд тавих тогтоосон стандартыг хангасан нөхцөлд 2°C-8°C-д гэрлээс хамгаалан хадгалах ба сүрьеэлүүр үйлдвэрлэх зөвшөөрөлд заасан хүчинтэй хугацааны дотор ашиглаж болно. Удаан хугацаагаар хадгалах бол сүрьеэлүүрийг шингэлэлгүй, өтгөрүүлсэн хэлбэрээр харанхуй газар хадгална.

2.4.7. pH хяналт

pH 6.5 - 7.5 -д байх ёстой

2.4.8. Уургийн агууламж

Уургийн агууламжийг В.2.3 Явцын хяналт – хэсэгт заасны дагуу тодорхойлно.

2.4.9. Хадгалалт

Хадгалалтын явцад үхрийн шингэн сүрьеэлүүрийг гэрлээс хамгаалж 5 ±3°C-д байлгана. Шингэн бүтээгдэхүүнийг хөлдөөхөд чанараа алдана. Гэвч хөлдөөн хатаасан бэлдмэл бэлтгэж дулаан

температурт, гэхдээ 25°C-ээс хэтрээгүй нөхцөлд гэрлээс хамгаалан хадгалж болно. Өндөр температурт эсхүл нарны шууд тусгалд удаан байлгаж болохгүй.

2.4.10. Хадгалааслагч

Сүрьеэлүүрт нэмж болох бичил биетний эсрэг хадгалааслагч эсхүл өөр бодис тус бүтээгдэхүүний аюулгүй чанар, үр дүнг алдагдуулах гэдгийг тогтоосон байх ёстой.

Фенолын зөвшөөрөгдөх хамгийн дээд хэмжээ нь 0.5% (ж/э), глицеринийх 10% (э/э) байна.

2.4.11. Сэрэмжүүлэг

Зохих ёсоор шингэлсэн сүрьеэлүүрийг хүн эсхүл амьтны арьсанд тарьсан хэсэгт урвал үүсэж магадгүй. Хэт мэдрэг хүнд ч хүнд хэлбэрийн тархмал урвал тохиолдох нь маш ховор, ноцтой бус байна. Сүрьеэлүүрт мэдрэг гэдгээ мэддэг хүн учирч болох эрсдэлийг түүнтэй харьцахын өмнө үнэлнэ.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

BUDDLE B.M., RYAN T.J., POLLOCK J.M., ANDERSON P. & DE LISLE G.W. (2001). Use of ESAT-6 in the interferon-gamma test for diagnosis of bovine tuberculosis following skin testing. *Vet. Microbiol.*, **80**, 37–46.

BUDDLE B.M., SHU D., PARLANE N.A., SUBHARAT S., HEISER A., HEWINSON R.G., VORDERMEIER H.M. & WEDLOCK D.N. (2016). Vaccination of cattle with a high dose of BCG vaccine 3 weeks after experimental infection with *Mycobacterium bovis* increased the inflammatory response, but not tuberculous pathology. *Tuberculosis*, **99**, 120–127.

CARDOSO-TOSET F., LUQUE I., CARRASCO L., JURADO-MARTOS F., RISALDE M.A., VENTEO A., INFANTES-LORENZO J.A., BEZOS J., RUEDA P., TAPIA I., GORTÁZAR C., DOMÍNGUEZ L., DOMÍNGUEZ M. & GOMEZ-LAGUNA J. (2017). Evaluation of five serologic assays for bovine tuberculosis surveillance in domestic free-range pigs from southern Spain. *Prev. Vet. Med.*, **137**

CARTER S.P., CHAMBERS M.A., RUSHTON S.P., SHIRLEY M.D., SCHUCHERT P., PIETRAVALLE S., MURRAY A., ROGERS F., GETTINBY G., SMITH G.C., DELAHAY R.J., HEWINSON R.G. & MCDONALD R.A. (2012). BCG vaccination reduces risk of tuberculosis infection in vaccinated badgers and unvaccinated badger cubs. *PLoS One*, **7**:e49833. doi: 10.1371/journal.pone.0049833.

CASAL C., INFANTES J.A., RISALDE M.A., DÍEZ-GUERRIER A., Domínguez M., Moreno I., Romero B., de Juan L., Sáez J.L., Juste R., Gortázar C., Domínguez L. & Bezos J. (2017). Antibody detection tests improve the sensitivity of tuberculosis diagnosis in cattle. *Res. Vet. Sci.*, **112**, 214–221.

COAD M., HEWINSON R.G., CLIFFORD D., VORDERMEIER H.M. & WHELAN A.O. (2007). Influence of skin testing and blood storage on interferon-gamma production in cattle affected naturally with *Mycobacterium bovis*. *Vet. Rec.*, **160**, 660–662.

COURCOUL A., MOYEN J.-L., BRUGERE L., FAYE S., HENAULT S., GARES H. & BOSCHIROLI M.-L. (2014). Estimation of sensitivity and specificity of bacteriology, histopathology and PCR for the confirmatory diagnosis of bovine tuberculosis using latent class analysis. *PLoS One*, **9**(3): e90334. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090334>.

COUSINS D.V., FRANCIS B.R. & GOW B.L. (1989). Advantages of a new agar medium in the primary isolation of *Mycobacterium bovis*. *Vet. Microbiol.*, **20**, 89–95.

COUVIN D., DAVID A., ZOZIO T. & RASTOGI N. (2019). Macro-geographical specificities of the prevailing tuberculosis epidemic as seen through SITVIT2, an updated version of the *Mycobacterium tuberculosis* genotyping database. *Infect. Genet. Evol.*, **72**, 31–43. doi: 10.1016/j.meegid.2018.12.030.

DYKEMA P.E., STOKES K.D., BECKWITH N.R., MUNGIN J.W., XU L., VICKERS D.J., REISING M.M., BRAVO D.M., THOMSEN B.V. & ROBBE-AUSTERMAN S. (2016). Development and validation of a direct real-time PCR assay for *Mycobacterium bovis* and implementation into the United States national surveillance program. *PeerJ PrePrints*, **4**:e1703v1 <https://doi.org/10.7287/peerj.preprints.1703v1>

ECDC (2018). European Centre for Disease Prevention and Control. Handbook on tuberculosis laboratory diagnostic methods in the European Union – Updated 2018. Stockholm: ECDC; 2018.

FINNEY D.J. (1978). Statistical Methods in Biological Assay, Third Edition. Charles Griffin, London, UK.

GORMLEY E., CORNER L.A.L., COSTELLO E. & RODRIGUEZ-CAMPOS S. (2014). Bacteriological diagnosis and molecular strain typing of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium caprae*. *Res. Vet. Sci.*, **97** Suppl:S30-43. doi: 10.1016/j.rvsc.2014.04.010.

GORMLEY E., DOYLE M.B., FITZSIMON S.T., MCGILL K. & COLLINS J.D. (2006). Diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle by use of the gamma-interferon (Bovigam) assay. *Vet. Microbiol.*, **112**, 171–179.

GORMLEY E., NÍ BHUACHALLA D., O'KEEFFE J., MURPHY D. & ALDWELL F.E. (2017). Oral vaccination of free-living badgers (*Meles meles*) with Bacille Calmette Guérin (BCG) vaccine confers protection against tuberculosis. *PLoS One*, **12**, e0168851.

GREENWALD R., LYASHCHENKO O., ESFANDIARI J., MILLER M., MIKOTA S., OLSEN J.H., BALL R., DUMONCEAUX G., SCHMITT D., MOLLER T., PAYEUR J.B., HARRIS B., SOFRANKO D., WATERS W.R. & LYASHCHENKO K.P. (2009). Highly accurate antibody assays for early and rapid detection of tuberculosis in African and Asian elephants. *Clin. Vaccine Immunol.*, **16**, 605

GUIMARAES A.M.S. & ZIMPEL C.K. (2020). *Mycobacterium bovis*: From Genotyping to Genome Sequencing. *Microorganisms*, **8**, 667. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050667>

INFANTES-LORENZO J.A., MORENO I., ROY A., RISALDE M.A., BALSEIRO A., DE JUAN L., ROMERO B., BEZOS J., PUENTES E., AKERSTEDT J., TESSEMA G.T., GORTÁZAR C., DOMÍNGUEZ L. & DOMÍNGUEZ M. (2019). Specificity of serological test for detection of tuberculosis in cattle, goats, sheep and pigs under different epidemiological situations. *BMC Vet. Res.*, **15**, 70.

KAMERBEEK J., SCHOULS L., KOLK A., VAN AGTERVELD M., VAN SOOLINGEN D., KUIJPER S., BUNSCHOTEN A., MOLHUIZEN H., SHAW R., GOYAL M. & VAN EMBDEN J. (1997). Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. *J. Clin. Microbiol.*, **35**, 907–914.

LORENTE-LEAL V., LIANDRIS E., CASTELLANOS E., BEZOS J., DOMÍNGUEZ L., DE JUAN L. & ROMERO B. (2019). Validation of a Real-Time PCR for the Detection of *Mycobacterium tuberculosis* Complex Members in Bovine Tissue Samples. *Front. Vet. Sci.*, **6**, 61. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00061>.

LYASHCHENKO K.P., GREENWALD R., ESFANDIARI J., CHAMBERS M.A., VICENTE J., GORTAZAR C., SANTOS N., CORREIA-NEVES M., BUDDLE B.M., JACKSON R., O'BRIEN D.J., SCHMITT S., PALMER M.V., DELAHAY R.J. & WATERS W.R. (2008). Animal-side serologic assay for rapid detection of *Mycobacterium bovis* infection in multiple species of free-ranging wildlife. *Vet. Microbiol.*, **132**, 283–292.

MARTIN S.W., O'KEEFFE J., BYRNE A.W., ROSEN L.E., WHITE P.W. & MCGRATH G. (2020). Is moving from targeted culling to BCG-vaccination of badgers (*Meles meles*) associated with an unacceptable increased incidence of cattle herd tuberculosis in the Republic of Ireland? A practical non-inferiority wildlife intervention study in the Republic of Ireland (2011–2017). *Prev. Vet. Med.*, **179**, 105004.

MERKER M., KOHL T.A., NIEMANN S. & SUPPLY P. (2017). The Evolution of Strain Typing in the *Mycobacterium tuberculosis* Complex. In: *Strain Variation in the Mycobacterium tuberculosis Complex: Its Role in Biology, Epidemiology and Control*. Advances in Experimental Medicine and Biology, vol. 1019. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-64371-7_3

MIDDLETON S., STEINBACH S., COAD M., MCGILL K., BRADY C., DUIGNAN A., WISEMAN J., GORMLEY E., JONES G.J. & VORDERMEIER H.M. (2021). A molecularly defined skin test reagent for the diagnosis of bovine tuberculosis compatible with vaccination against Johne's Disease. *Sci. Rep.*, **11**, 2929. doi: 10.1038/s41598-021-82434-7. PMID: 33536465; PMCID: PMC7859399.

PERRETT S., LESELLIER S., ROGERS F., WILLIAMS G.A., GOWTAGE S., PALMER S., DAILEY D., DAVÉ D., WEYER U., WOOD E., SAIGUERO F.J., NUNEZ A., REEN N., CHAMBERS M.A. (2018). Assessment of the safety of Bacillus Calmette-Guérin vaccine administered orally to badgers (*Meles meles*). *Vaccine*, **36**, 1990–1995.

ROY A., INFANTES-LORENZO J.A., DE LA CRUZ M.L., DOMÍNGUEZ L., ÁLVAREZ J. & BEZOS J. (2020). Accuracy of tuberculosis diagnostic tests in small ruminants: A systematic review and meta-analysis. *Prev. Vet. Med.*, **182**, 105102.

SANCHEZ-CARVAJAL J.M., GALÁN-RELAÑO Á., RUEDAS-TORRES I., JURADO-MARTOS F., LARENAS-MUÑOZ F., VERA E., GÓMEZ-GASCÓN L., CARDOSO-TOSET F., RODRÍGUEZ-GÓMEZ I.M., MALDONADO A., CARRASCO L., TARRADAS C., GÓMEZ-LAGUNA J. & LUQUE I. (2021). Real-Time PCR Validation for *Mycobacterium tuberculosis* Complex Detection Targeting IS6110 Directly From Bovine Lymph Nodes. *Front. Vet. Sci.*, **8**, 643111. doi: 10.3389/fvets.2021.643111.

SRINIVASAN S., CONLAN A.J.K., EASTERLING L.A., HERRERA C., DANDAPAT P., VEERASAMI M., AMENI G., JINDAL N., RAJ G.D., WOOD J., JULEFF N., BAKKER D., VORDERMEIER M. & KAPUR V. (2021). A Meta-Analysis of the Effect of Bacillus Calmette-Guérin Vaccination Against Bovine Tuberculosis: Is Perfect the Enemy of Good? *Front. Vet. Sci.*, **8**, 637580. doi: 10.3389/fvets.2021.637580.

SRINIVASAN S., JONES G.J., VEERASANE M., STEINBACH S., HOLDER T., ZEWUDE A., FROMSA A., AMENI G., EASTERLING L., BAKKER D., JULEFF N., GIFFORD G., HEWINSON R.G., VORDERMEIER H.M. & KAPUR V. (2019). A defined antigen skin test for the diagnosis of bovine tuberculosis. *Sci. Adv.*, **5**, eaax4899.

SUPPLY P., ALLIX C., LESJEAN S., CARDOSO-OELEMANN M., 2006). Proposal for standardization of optimized mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Clin. Microbiol.*, **44**, 4498–4510.

THOMAS R. & CHAMBERS M. (2021). Review of Methods Used for Diagnosing Tuberculosis in Captive and Free-Ranging Non-Bovine Species (2012–2020). *Pathogens*, **10**, 584.

TOMPKINS D.M., RAMSEY D.S.L., CROSS M.L., ALDWELL F.E., DE LISLE G.W. & BUDDLE B.M. (2009). Oral vaccination reduces the incidence of bovine tuberculosis in a free-living wildlife species. *Proc. Royal Soc. B: Biol. Sci.*, **276**, 2987–2995.

VORDERMEIER H.M., JONES G.J., BUDDLE B.M., HEWINSON R.G. & VILLARREAL-RAMOS B. (2016). Bovine Tuberculosis in Cattle: Vaccines, DIVA Tests, and Host Biomarker Discovery. *Annu. Rev. Anim. Biosci.*, **4**, 87–109. doi: 10.1146/annurev-animal-021815-111311.

WOOD P.R., CORNER L.A. & PLACKETT P. (1990). Development of a simple, rapid in vitro cellular assay for bovine tuberculosis based on the production of gamma interferon. *Res. Vet. Sci.*, **49**, 46–49.

ЖИЧ: Үхрийн сүрьеэ 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>).

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

ЖИЧ: 1990 ОНД АНХ, 2022 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

ГАЛЗУУ ӨВЧИН

(ГАЛЗУУ ӨВЧНИЙ ВИРУС, БУСАД ЛИССАВИРУСИЙН ХАЛДВАР)

А. УДИРТГАЛ

Галзуу өвчин амьтны мэдрэлийн тогтолцоог гэмтээдэг *Mononegavirales* багийн *Rhabdoviridae* овгийн *Lyssavirus* (*Лиссавирус*) төрлийн вирусээр үүсгэгдэх (Kuhn нар, 2021; Walker нар, 2022) ба бүх сүүн тэжээлтэнд дамжин халдварлана. Галзуу өвчний улмаас 10 минут тутамд ойролцоогоор 1 хүн буюу жилд 60,000 хүн нас бардаг байна. Энэ вирус хүнд халдварладаг учраас халдварын сэжигтэй хүнээс авсан аливаа материалтай харьцахдаа Дэлхийн эрүүл мэндийн байгууллагын тогтоосон аюулгүй ажиллагааны холбогдох журмыг баримтална (ДЭМБ, 2018). Лиссавирус эсхүл сэжигтэй амьтны материалтай харьцаж ажилладаг лаборатори өөрийн улсын био аюулын тусгаарлалт болон биохамгааллын дүрэм журам, түүнчлэн биологийн эрсдэлийн дүн шинжилгээгээр тогтоосон биоаюулгүй байдал, тусгаарлалтын зохих журмыг мөрдөнө (1.1.4: *Биоаюулгүй байдал ба биохамгаалал: Мал эмнэлгийн лаборатори, мал, амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандарт* бүлгийг үз).

Галзуу өвчний вирус (ГӨВ) нь генетикийн болон эсрэгтөрөгчийн хувьд холбоотой бусад лиссавирусийн зүйлийг багтаадаг Лиссавирусийн төрөл доторх "Галзуу өвчний лиссавирус"-ийн зүйлийг ангилал зүйн хувьд төлөөлнө (ICTV, 2017)¹. ГӨВ дэлхий дахинд тархсан бөгөөд амьтан, хүний галзуу өвчний бүртгэгдсэн тохиолдлын дийлэнх олонхыг бүрдүүлнэ. Бусад лиссавирус газар зүйн тархац, эзэн амьтны хувьд илүү хязгаарлагдмал бөгөөд тэдгээрийн ихэнхийг нийтийн болон амьтны эрүүл мэндэд нөлөө багатай сарьсан багваахайнаас ялган авчээ. Хэдий тийм ч шалгаж үзсэн бүх лиссавирус эмнэл зүйн хувьд ГӨВ-ээр үүсгэгдсэнээс ялгарахааргүй өвчин үүсгэдэг байна.

Лиссавирусийг эмгэг үүсгэх, дархлаа төрүүлэх чанараараа ялгаатай наад зах нь гурван өөр фило бүлэгт хуваадаг (Kuzmin нар, 2010). Гэхдээ галзуу өвчний вируст вакцин нь генетикийн хувьд ялгаатай бүх лиссавирусийн эсрэг солбицон-хамгаалалт хангалттай түвшинд үүсгэдэггүй. Урьдчилан сэргийлэх зорилгоор болон халдварт өртсөний дараа сэргийлэх зориулалтаар галзуу өвчний эсрэг ердийн вакцин тарихад лиссавирусийн 2 ба 3 дугаар удам зүйн бүлгийн эсрэг солбицох-хамгаалалт маш бага, заримдаа огт үүсэхгүй байсан байна (Badrane нар 2001; Brookes нар, 2005; Hanlon нар, 2005). Халдвартай эсхүл халдварын сэжигтэй материалтай харьцан ажилладаг бүх ажилтанд урьдчилан сэргийлэх дархлаажуулалт хийхийг ДЭМБ-аас зөвлөдөг (WHO, 2013).

Тэжээвэр болон зэрлэг амьтанд галзуу өвчин туссаныг тодорхой илтгэх эмнэл зүйн шинж тэмдэг эсхүл эмгэг бие бүтцийн хувиралт байдаггүй учир түүнийг лабораторийн шинжилгээнд тулгуурлан оношилно. Ийлдсэнд эсрэг биеийн урвал хожуу илэрдэг, өвчилсөн амьтны үхлийн хувь өндөр байдаг учраас амьд байх үеийн оношилгоонд ийлдэс судлалын арга хэрэглэдэггүй ч түүнийг вакцинжуулалтын дараах дархлааны хариу урвалыг үнэлэх болон эпидемиологийн нөхцөл байдлыг судлахад хэрэглэх нь маш их ач холбогдолтой.

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Галзуу өвчнийг оношлох шинжилгээний арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүйг 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
Үүсгэгчийг илрүүлэх, ялган таних						
ФЭБШУ (эсрэгтөрөгч илрүүлэх)	+++	—	+++	+++	+++	—
ИГХТС (эсрэгтөрөгч илрүүлэх)	+++	—	+++	+++	+++	—
Эсийн өсгөвөр халдварлуулах сорил (вирус ялгах)	—	—	+++	+++	+++	—

¹ https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/

ХХВЯА (вирус ялгах)	–	–	+	+	+	–
Ердийн УТ-ПГУ (РНХ илрүүлэх)	+++	–	+++	+++	+++	–
Бодит цагийн УТ- ПГУ (РНХ илрүүлэх)	+++	–	+++	+++	+++	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ВСУ	–	+++	+++	–	–	+++
ЕЛИЗА	–	–	+++	–	–	+++

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 транскрипт полимеразгийн гинжин урвал;
 ФЭБШУ = флюоресцент эсрэг биеийн шууд урвал;
 ИГХТС = иммуногистохимийн шууд түргэн сорил;
 ХХВЯА =хулганад халдвар хийж вирус ялгах арга;
 ВСУ = вирус саармагжуулах урвал.

1. Үүсгэгчийг илрүүлэх, ялган таних

Галзуу өвчний шинж тэмдэг өвөрмөц бус, амьтан бүрд харилцан адилгүй илэрдэг учраас эмнэл зүйн ажиглалт нь зөвхөн галзуу өвчинд сэжиглэх боломж олгоно. Өвчний вирус эсхүл түүний бүрэлдэхүүний зарим өвөрмөц хэсгийг лабораторийн шинжилгээгээр ялган таних нь галзуу өвчнийг найдвартай оношлох ганц арга нь юм.

Галзуу өвчний вирус идэвхээ түргэн алддаг тул оношилгоонд зориулан бэлтгэж хөргөсөн сорьцыг лабораторид хамгийн шуурхай хүргэх замаар илгээнэ. Тээвэрлэлтийг “галзуу өвчнийг оношлох хэлхээ”-ний нэг хэсэг гэж үзэн олон улсын зааварчилгааг мөрдөн гүйцэтгэнэ.

Үр нөлөө, өвөрмөц чанар, найдвартай байдлаараа ялгаатай лабораторийн хэд хэдэн арга хэрэглэгдэнэ. Эдгээр аргыг үндсэндээ амьтны тархины эдэд хэрэглэдэг ч бусад эрхтэнд (жишээ нь шүлсний булчирхай) хэрэглэхэд мэдрэх ба өвөрмөц чанар нь янз бүр юм. Тархинд галзуу өвчний вирус ялангуяа харааны төвгөр, тархины гүүр, уртавтар тархи хэсэгт элбэг байна. Тархины эд, тэр дундаа тархины баганаас шинжилгээний сорьц авна (Bingham & van der Merwe, 2002). Флюоресцент эсрэг биеийн шууд урвал (ФЭБШУ) бол галзуу өвчнийг оношлоход хамгийн өргөн хэрэглэдэг арга юм.

1.1. Тархины эд цуглуулах

Галзуу өвчний сэжигтэй тохиолдлын үед төв мэдрэлийн тогтолцооны эрхтэн эдтэй болгоомжтой харьцах шаардлагатай. Ямагт хувийн хамгаалах хэрэгсэл (бээлий, нүүр болон амны хаалт) өмсөх ба тоосонцор, мананцар үүсэхээс хамгаалахад анхаарна. Гэмтэл, бохирдол авахаас сэргийлэн хурц иртэй багаж хэрэгсэл, хайч, хутгыг болгоомжтой хэрэглэнэ.

Задлан шинжилгээний өрөөнд амьтны гавлын ясыг нээж тархийг аваад ялангуяа тархины гүүр, Аммоны эвэр, харааны төвгөр, тархины бор гадарга, бага тархи, уртавтар тархийг хамруулан шаардлага хангах сорьцыг авах нь хамгийн зохистой. Гавлын ясыг нээлгүйгээр тархины зарим хэсгээс сорьц авдаг өөр хувилбарыг хэрэглэж болно. Энэ аргыг доор буюу Б.1.1.1 *Дагзны том нүхээр тархины сорьц авах* болон Б.1.1.2 *Нүдний ухархайн араас тархины сорьц авах* хэсэгт тайлбарлав.

1.1.1. Дагзны (нугасны) том нүхээр тархины сорьц авах

Юм уух 5 мм-ийн хуванцар соруур, 2 мл-ийн нэг удаагийн хуванцар соруур эсхүл 1-2 мл-ийн хуванцар тариурыг дагзны том нүхээр нүдийг чиглүүлэн шургуулна. Сорьцыг Аммоны эврийн суурь, бага тархи, тархины бор гадарга, уртавтар тархинаас авна. Юм уух соруур хэрэглэж байгаа бол соролтоор тархины эд гадагш цацагдахаас сэргийлж түүнийг хуруугаараа чимхэж барина.

1.1.2. Нүдний ухархайн араас тархины сорьц авах

Энэ аргаар (Montano Hirose нар, 1991) нүдний ухархайн арын хананд гуурс хэлбэрийн цоологчоор нүх гаргаж уг нүхээр биопсийн тохирох зүүг оруулна. Сорьц авах тархины хэсэг нь өмнөх аргынхтай ижил байна.

1.2. Сорьц тээвэрлэх

Сэжигтэй материалыг газраар тээвэрлэхдээ олон улсын хэмжээнд аюултай ачаа газраар тээвэрлэх дүрэм журмыг баримтлан тээвэрлэнэ. Олон улсын хэмжээнд агаараар тээвэрлэх бол Олон улсын агаарын тээврийн холбооны “Аюултай ачаа тээвэрлэх журам”-ыг мөрдөнө. Эдгээр журмыг 1.1.3. “Биологийн материалыг тээвэрлэх” бүлэгт товчлон оруулав.

Хэрэв сорьцыг хөргөж эсхүл хөлдөөж илгээх боломжгүй бол хадгалааслах бусад аргыг хэрэглэж болно. Оношлох шинжилгээнд хэрэглэх аргаас хамаарч дараах хадгалааслагчаас сонгоно

i) Формалинд бэхжүүлсэн дээж

Формалинд бэхжүүлсэн дээжийг (Фосфатын буфержүүлсэн 10%-ийн давсны уусмалд [ФБУ]) ФЭБШУ, иммунгистохими, энгийн болон бодит цагийн ПГУ-аар шинжилж болох боловч шинэ дээж шинжлэхтэй харьцуулахад шинжилгээний мэдрэх чанар нь буурч болох учраас бэхжүүлэх аргыг өөрчлөн сайжруулах шаардлагатай (Warner нар, 1997). Формалинаар бэхжүүлэхэд вирус идэвхгүйжих тул вирус ялган авах боломжгүй болно.

ii) Глицерин/фосфатын буфержүүлсэн давсны уусмал

Тээвэрлэхэд зориулан оношилгооны сорьцыг глицерин 50%-иар агуулсан ФБУ-ын холимогт байлгаж үүсгэгчийн халдварлах чанарыг нэлээд хэд хоног уртасгаж болно. Глицерин/ФБУ нь бактерийн үйлчлэлийг удаашруулдаг тул сорьцыг муутгадаг хими, биологийн нөлөөллөөс хамгаалж өгнө. Галзуу өвчний вирус дулаанд мэдрэг учир энэ арга нь дээж дэх вирусийн хэмжээ буурахаас хамгаалж чадахгүй. Хэт халуун (30°C-аас дээш) нутгаар ердийн нөхцөлд тээвэрлэхэд ийм хамгаалалтын нөлөө хэдхэн өдрөөс хэтэрдэггүй. Ийм учраас глицерин/ФБУ-д хийсэн сорьцыг аль болохоор хөргүүрт хадгална. Глицерин/ФБУ-д вирус идэвхгүйжихгүй учраас ийм сорьцыг бүх аргаар шинжилж болно.

iii) Молекул түвшний шинжилгээнд зориулан хадгалааслах

Молекул түвшний шинжилгээний хувьд шүүлтүүрийн цаасанд шингээсэн нуклеин хүчил ялгах хайлуулагч буфер болон РНХ-ийн хадгалааслагч буфер хэрэглэж болно (Picard-Meyer нар, 2007). Эдгээр буфер нь галзуу өвчний вирусийн РНХ-ийг илрүүлэх, цаашлаад галзуу өвчний вирусийн омгуудын генетик шинж чанарыг тогтоох шинжилгээний сорьцод агуулагдах галзуу өвчний вирусийн РНХ-г хадгалахын зэрэгцээ сорьцыг биоаюулаас урьдчилан сэргийлэх тусгай арга хэмжээ авалгүйгээр орчны ердийн температурт тээвэрлэх боломж олгоно.

1.3. Лабораторийн оношилгоо

1.3.1. Галзуу өвчний вирусийн эсрэгтөрөгчийг иммунгистохимийн аргаар ялган таних

i) Флюоресцент эсрэг биеийн шууд арга (ФЭБША)

Галзуу өвчний оношилгоонд хамгийн өргөн хэрэглэдэг, ДМАЭМБ, ДЭМБ-ын зөвлөсөн арга бол ФЭБША юм. Энэ аргыг тархины дардас түрхцэд шууд хэрэглэнэ. Энэ аргыг эсийн өсгөвөрт эсхүл оношилгооны зорилгоор халдвар хийсэн хулганын тархины эдэд галзуу өвчний вирусийн эсрэгтөрөгч байгаа эсэхийг батлахад бас ашиглана. ФЭБША нь мэдрэх болон өвөрмөц чанараар маш өндөр (96% - 99% хооронд) бөгөөд аваад 2 цаг болоогүй шинэ дээж шинжлэхэд найдвартай үр дүн өгнө. Мэдрэх чанар нь дээж, түүний өөрийн задрах хугацаа (McElhinney нар, 2014) болон дээжийн төрлөөс (Barrat & Aubert, 1995) хамаарна.

Тархины багана, бага тархи орсон тархины эдийн нийлмэл сорьцоос дардас түрхцийг бэлтгэнэ. Хэрэв бага тархинаас авах боломжгүй бол Аммоны эврийг хөндлөн огтолж сорьц авч болно. Түрхцийг хүйтэн (-20°C), 100%-ийн дээд зэрэглэлийн ацетонд наад зах нь 20 минут бэхжүүлэх эсхүл тавиур шилийг барьж дөлөн дундуур 2-3 удаа өнгөрүүлэх замаар халуунаар бэхжүүлнэ. Түрхцийг агаарт хатаасны дараа тавиур шилийг ажлын төвшрүүлэгтэй болтол шингэлсэн флюоресцеин изотиоцианат (ФИТС)-ээр тэмдэглэсэн галзуу-эсрэг олон гарлын эсхүл ижил гарлын эсрэг биеийн конъюгатаар бүрхэж, чийгээ барьдаг хайрцагт 37°C-д 30 минут будна.

ФХЭБШУ-д хэрэглэх түрхцийг флюоресцент микроскоп, гэрлийн тохирох долгионы урт (490 нм, 510 нм) бүхий шүүлтүүр ашиглан харж өвөрмөц гэрэлтэлтийг шалгана.

Нуклеокапсид уургийн бөөгнөрлийг түүнтэй холбогдсон конъюгатын өвөрмөц флюоресцент гэрэлтэлтээр ялгаж танина. ФХЭБШУ-ын бэлдмэл тус бүрийг дадлагажиж туршлагажсан хоёр шинжлэгч тус тусдаа харж үр дүнг гаргахыг зөвлөдөг. Эсрэгтөрөгч бэхлэгдэх нуклеокапсид уургийн тогтвортой хэсэг нь худалдаанд гарсан орчин үеийн галзуу-эсрэг олон гарлын эсрэг биеийн конъюгатаар (тархины эдийн дээж шинжлэн оношлох зориулалттай) бүх лиссавирусийг ялган таних боломж олгодог бол галзуу-эсрэг ижил гарлын эсрэг биеийн конъюгат нь өөр өөр лиссавирусийг мэдэрч илрүүлэх чанараараа дутуу байж болно. Флюоресцент эсрэг биеийн конъюгатыг, ялангуяа тухайн улс дотооддоо хийсэн бол хэрэглэхийнхээ өмнө түүний өвөрмөц болон мэдрэх чанарыг бүрэн баталгаажуулсан байх ёстой.

Глицеринд хадгалсан дээжийг угаасны дараа, харин формалинд хадгалсан дээжийг уураг хайлуулах энзимээр боловсруулсны дараа ФХЭБШУ-аар шинжилж болно (Warner нар, 1997). Гэвч формалинаар бэхжүүлсэн эсхүл энзимээр боловсруулсан дээжийг ФХЭБШУ-аар шинжлэх нь шинэ дээж шинжлэхтэй харьцуулбал ямагт найдвар бага, илүү төвөгтэй байдаг (Barrat, 1992).

ФХЭБШУ-ын дүн эргэлзээтэй гарах эсхүл халдварт хүн өртсөн аливаа тохиолдолд дээжийг дахин шинжлэх эсхүл өөр сорьц авч ФХЭБШУ-аар шинжлэхийг зөвлөдөг. Энэ нь ялангуяа дээж муудсан эсхүл эргэлзээтэй үед чухал юм.

а) Арга зүй

- 1) Тархины эдийн хяналтын дардас түрхцэд зориулж хяналтын хоёр тавиур шил (нэг нь эерэг, нөгөө нь сөрөг), тархины шаардлагатай хэсгээс авсан дээжийг хосоор шинжлэхэд зориулж тавиур хоёр шил буюу микроскопын нийт дөрвөн тавиур шилийг тэмдэглэнэ.
- 2) Уудаг цаасан дээр тавьсан эд дээр тавиур шилийг уруу харуулан дарж эдийг наалдуулах байдлаар тархины эдийн хяналтын дардас түрхц (нэг нь эерэг, нөгөө нь сөрөг), түүнчлэн шинжлэх дээжийн дардас түрхц бэлтгэнэ.
- 3) Түрхц бүхий бүх тавиур шилийг агаарт хатаана.
- 4) Биоаюулгүйн шүүгэнд бүх түрхцийг хүйтэн (-20°C) ацетонтой Коплины саванд хийгээд наад зах нь 20 минут байлгана.
- 5) Түрхцийг Коплины савнаас гаргаад агаарт хатаана.
- 6) Галзуугийн вирусийн эсрэг ФИТС-ээр тэмдэглэсэн конъюгатыг үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу бэлтгэнэ.
- 7) Ажлын шингэлэлт бүхий конъюгатыг эсрэг болон сөрөг хяналтын түрхц, шинжлэх дээжийн бүх түрхц дээр тэдгээрийг бүрэн бүрхэх хэмжээгээр нэмнэ.
- 8) Түрхцийг термостатын чийгээ барьдаг хайрцагт хийж 37°C -д 30 минут инкубацлана.
- 9) Түрхцийг гаргаад Коплины саванд хийж 0.1M ФБУ 7.2-оор 5 минут угаагаад дараа нь шинээр бэлтгэсэн ФБУ-аар 5 минут нэмж угаана.
- 10) Түрхцийг агаарт хатаана.
- 11) 50% глицерин/50% ФБУ ашиглан бүрхүүл шилийг түрхц дээр наана.

б) Үр дүн

Түрхцийг нарийн зурвас цонх бүхий хөх спектрийн (475-490 нм) өдөөх шүүлтүүр ашиглан 488 нм (FITC)-д өдөөх чадалтай флюоресцент микроскопоор уншина. Хөх спектрийн шүүлтүүр нь долгионы уртын өдөөлтийг бууруулна. Түрхц бүрийг галзуугийн вируст өвөрмөц флюоресценц буюу гэрэлтэлт (энэ нь вирусийн эсрэгтөрөгч байгааг харуулна) байгаа эсэхийг 200х ба түүнээс дээш өсгөлтөөр харж шалгана. Өвөрмөц гэрэлтэлт нь ихэвчлэн эсийн бөөмийн эргэн тойронд эсхүл мэдрэлийн утаслаг эсэд алиман ногоон тод өнгийн гэрэлтэлтээр илэрнэ. Бүдэг ногоон эсхүл улаан/ногоон өөрөө гэрэлтэх мөхлөг харагдвал эерэг гэж үзэхгүй. Эерэг хяналтын түрхцийг ямагт эхэнд нь уншина.

Дээжийн түрхцийг унших. Эдийн түрхцийг маш анхааралтай шалгах ба шаардлага гарвал харьцуулах зорилгоор эерэг хяналтыг эргэж харна.

Өөр нэг шинжлэгч бүх түрхцийг шалгах ба аль ч шинжлэгчийн тавьсан онош таарч байх ёстой.

ii) Иммуногистохимийн түргэн шууд сорил (ИГХТС)

ИГХТС нь ФХЭБШУ-тай мэдрэх болон өвөрмөц чанараар ойролцоо учир түүнийг ФХЭБШУ-ын оронд галзуу өвчний тогтмолжсон оношилгоонд ашиглаж болно (Lembo нар, 2006). ИГХТС-ын зарчим нь стрептавидин-биотин пероксидазагийн будаг хэрэглэгдээс бусдаар ФХЭБШУ-тай адилхан юм (Coetzer нар, 2014; Madhusudana нар, 2012; Rupprecht нар, 2014). Энэ сорилыг флюоресценц микроскопгүй лабораторид хэрэглэж болно. Анхдагч эсрэг биеийг хэрэглэхийн өмнө түүний мэдрэх болон өвөрмөц чанарыг тухайн бүс нутгийн лиссавирусийн олон янз байдлыг харгалзан үзэж бүрэн баталгаажуулсан байх хэрэгтэй.

а) Арга зүй

- 1) Төв мэдрэлийн тогтолцооны, сэжиг бүхий эдийн сорьц (тархины багана хэсгийг хамруулсан)-оос тэмдэглэгээ хийсэн тавиур шил дээр дардас түрхэц бэлтгэнэ (ямагт стандарт эерэг ба сөрөг хяналт оруулна).
- 2) Түрхцийг тасалгааны хэмд агаарт 5 минут хатаана.
- 3) Түрхцийг тасалгааны хэмд Коплины сав эсхүл тохирох бусад саванд хийгээд буфержүүлсэн 10%-ийн формалинд дүрж 10 минут байлгана.
- 4) Угаах буфер дэх (ФБУ + 1% Твин 80 – ТФБУ) илүүдэл бэхжүүлэгчийг зайлуулахын тулд түрхцийг хэд хэдэн удаа дүрж зайлна.
- 5) Түрхцийг 3%-ийн устөрөгчийн хэт исэлд 10 минут дүрнэ.
- 6) Түрхцийг ТФБУ-д дүрж зайлах маягаар устөрөгчийн хэт ислийн илүүдлийг зайлуулсны дараа ТФБУ бүхий өөр саванд дүрнэ. ТФБУ-д дүрсэн түрхцээс нэгийг авч (бусдыг дүрээстэй орхино) илүүдэл буферийг сэгсэрч зайлуулаад үлдсэн буферийг тавиур шил дээрх эдийн дардас тойрсон хэсгийн захаас нь уудаг цаасанд шингээж авна.
- 7) Анхдагч эсрэг биеийн конъюгатаас (нуклео уургийн эсрэг олон гарлын эсхүл ижил гарлын биотинжүүлсэн эсрэг бие) дардсыг бүрхтэл нь нэмнэ. Чийгээ барьдаг хайрцагт тавьж 10 минут байлгана. Үүний тулд норгосон цаасан алчуур дээр түрхцээ тавьж эсийн өсгөврийн хавтангийн хуванцар таг эсхүл бусад энгийн бүрхүүлээр бүрхэх арга хэрэглэж болно.
- 8) Инкубацийн дараа түрхцийг сэгсэрч илүүдэл конъюгатыг авна. Түрхцийг ТФБУ-д дүрж зайлна. Түрхэц дээрх илүүдэл ТФБУ-ыг сэгсэрч зайлуулсны дараа дардас тойрсон буфер үлдвэл уудаг цаасанд захаас нь шингээж авна.
- 9) Дардас бүхий тавиур шилийг бүтэн бүрхтэл стрептавидин-пероксидазагийн хам нэгдлээс хийж бэлдмэл бүрийг боловсруулна. Чийгээ барьдаг хайрцагт хийж тасалгааны хэмд 10 минут тавина. Инкубацийн дараа илүүдлийг сэгсэрч зайлуулна.
- 10) Түрхцийг ТФБУ-л дүрж зайлна. Илүүдэл буферийг сэгсэрч зайлуулаад үлдсэн буферийг дардас тойрсон хэсгийн захаас нь уудаг цаасанд шингээж авна.
- 11) Түрхцийг аминок-этилкарбозолын (АЭК) субстраттай хамт (жич: бусад тохирох хромоген хэрэглэж болно) инкубацлана. АЭК-ын нөөц уусмал бэлтгэхдээ 20 мг нэг шахмал 3-амин 9-этил карбозолыг 5 мл N,N, диметил формамид бүхий шилэн цодон эсхүл саванд хийж уусгана. АЭК-ын нөөц уусмалыг 4°C-д 1-2 сар хадгална. АЭК-ын ажлын шингэлэлт бэлтгэхдээ 15 мл-ийн хурилдуурын хурилдуурын хуруу шилэнд 10 мл-ийн хуванцар соруураар 7 мл ацетатын буфер хийнэ. АЭК-ын нөөц уусмалаас 0.5 мл-ийг 1 мл-ийн шилэн эсхүл Пирексийн соруураар авч хийгээд устөрөгчийн хэт ислийн 3%-ийн уусмалаас 75 мкл-ийг нэмнэ. 15 мл-ийн өөр хуруу шилэнд наилон шүүлтүүрээр (0.45 мкм) шүүж хийнэ. Холимог нь бэлтгэснээс хойш 2-3 хоног тогтвортой байдаг тул түүнийг яг хэрэглэхийнхээ өмнө бэлтгэнэ. Тавиур шил дээрх дардаст түрхцийг бүрэн бүрхтэл урвалжаас нэмээд чийгээ барьдаг хайрцагт тасалгааны хэмд 10 минут байлгана.
- 12) Түрхцийг нэрмэл усанд дүрж зайлна.
- 13) Шингэлсэн гематоксилинээр 2 минут сөрөг будалт хийнэ.
- 14) Түрхцийг ионгүйжүүлсэн/нэрсэн усанд яаралтай дүрж зайлан будгийг зайлуулна. Илүүдэл будгийг бүрэн зайлуулахын тулд ионгүйжүүлсэн/нэрсэн шинэ усанд хоёр дахь удаагаа дүрж зайлна.
- 15) Түрхцийг шинэ нэрмэлд усанд шилжүүлэн хийнэ. Түрхэцтэй нэг нэгээр ажиллаж ионгүйжүүлсэн/нэрсэн усны үлдцийг сэгсрэн зайлуулж дардас тойрсон хэсгийн захаас нь уудаг цаасанд шингээж аваад усанд уусдаг барьцалдуулагч орчин хэрэглэж бүрхүүл шилийг наана. Бүрхүүл шилээр бүрхэхээс өмнө түрхцийг

хатааж болохгүй. Хэрэв олон тооны түрхэц будаж байгаа бол бүрхүүл шил наахаас өмнө түрхцийг ионгүйжүүлсэн/нэрсэн усанд байлгана.

- 16) Түрхцийг гэрлийн микроскопоор 20х дурандуур ашиглан харааны талбайг бүхэлд нь, харин 40х дурандуур ашиглан илүү өсгөлтөөр харж шалгана. АЭК болон гематоксилиний сөрөг будалт хийсэн тохиолдолд лиссавирусийн эсрэгтөрөгч нь мэдрэлийн эсийн хөх дэвсгэр дээр эсийн цитоплазм дотор улаавтар оршихуун байдалтай харагдана.

1.3.2. Вирус ялгах

Эдгээр аргаар эсийн өсгөвөр эсхүл лабораторийн амьтан ашиглан дээжээс галзуу өвчний амьд вирус (репликацид орж байгаа) илрүүлнэ. ФХЭБШУ, ИГХТС, эсрэгтөрөгч илрүүлэх бусад арга эсхүл УТ-ПГУ-ын үр дүн эргэлзээтэй гарвал энэ аргыг батлах шинжилгээ болгон ашиглана. Хулганад халдвар хийж вирус ялгах (ХХВЯ) аргыг боломжтой бүх нөхцөлд эсийн өсгөврийн аргаар сольж хэрэглэнэ. Эсийн өсгөврийн арга нь мэдрэх чанарын хувьд ХХВЯ арга шиг (Robardet нар, 2011; Rudd & Trimarchi, 1989) мөртөө өртөг хямд, хариу нь илүү түргэн гардаг, туршилтын амьтан хэрэглэдэггүй арга юм. Галзуу өвчний тогтмолжсон оношилгооны явцад шинжилгээний дээжээс вирус ялгахдаа хулганад халдвар хийж вирус ялгах аргаас илүүтэй вирус ялгах эсийн өсгөврийн аргыг ямагт чухалчлан сонгох хэрэгтэй.

и) Эсийн өсгөвөр халдварлуулах сорил

Америкийн стандарт өсгөврийн сан (АТСС)-ийн N2a, CCL-131 зэрэг неиробластом эс нь лиссавирусийн халдварт маш их мэдрэмтгий эс юм. Энэхүү эсийг үнээний хээлийн ийлдэс (FCS) 5%-иар агуулсан Дулбескогийн сайжруулсан Ийглийн тэжээлт орчинд (DMEM) эсийн өсгөврийн савнаас хамааруулан CO₂-г 0.5% эсхүл 5%-иар оруулан 37°C-д инкубацлан өсгөвөрлөнө. Эсийн өсгөврийн сорилыг олон үүрт хавтан, олон тасалгаат тавиур шил, эсхүл бүрхүүл шил ашиглан тавьж болно. Өвөрмөц чанарыг нэмэх үүднээс нэмэлт зорчуулалт хийх, тэр дундаа T25 өсгөврийн колбо хэрэглэн үр дүн нь сөрөг болох нь батлагдтал голдуу дараалсан гурван зорчуулалт хийнэ. Эс эмгэгшүүлэх нөлөө нь энэ сорилын үр дүнгийн найдвартай байдлыг хязгаарладаг хүчин зүйл юм. Иймд антибиотик нэмэх, тэжээлт орчныг солих болон дээжийг шингэлэхээс өмнө инкубацын хугацааг багасгах (35 минут хүртэл богиносгох) зэргээр эсийн эмгэгшлийг бууруулах арга хэрэглэнэ. Эсийн өсгөврийн сорил болон түүний хувилбар болохуйц өөр аль ч аргыг хэрэглэхийнхээ өмнө бүрэн баталгаажуулсан байх хэрэгтэй.

а) 96 үүрт хавтан ашиглах арга зүй

- 1) Колбон дахь эсийн сарнимал өсгөврөөс шинээр бэлтгэсэн 2-3 хоногийн настай 2×10^5 эс/мл эс агуулсан 200 мкл цийдмэгийг 96 үүрт хавтангийн 4 үүрэнд хийж, тархины нэгэн жигд болгосон тунгалаг 100 мкл шингэнийг (ФБУ-д 20%, 0.1 M, pH 7.4) нэмнэ.
- 2) 37°C-д 5% CO₂-той орчинд 24 цаг инкубацласны дараа үүр тус бүр дэх дээд шингэн хэсгийг аваад үүр тус бүрд 200 мкл шинэ тэжээлт орчин нэмнэ.
- 3) Дахин 72 цаг инкубацласны дараа соруураар дээд шингэн хэсгийг авч шаардлагатай бол цаашдын зорчуулалтад зориулан хадгална.
- 4) Эсийг 80% ацетонд бэхжүүлж, 37°C-д флюоресцент эсрэг биеэр үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу 30 минут будна.

Эсийн эмгэгшлийг бууруулах үүднээс тэжээлт орчин солихоос өмнөх инкубацын хугацааг багасгах, эсийн нэвчүүлэлтэд нөлөөлөх бодис (жишээ нь DEAE-декстран) хэрэглэх, үргэлжлүүлэн зорчуулах зэрэг өөр хувилбар арга бий. Өвөрмөц чанарыг нэмэх үүднээс гурав хүртэл зорчуулалт хийхээр тооцоолно.

б) 8 тасалгаат хавтан ашиглах арга зүй

- 1) Тархины нэгэн жигд болгосон тунгалаг 50 мкл шингэнийг (үнээний хээлийн халааж идэвхгүйжүүлсэн ийлдсээр 0.1M, pH 7.4 болгосон ФБУ-аас бүрдэх субстратын 20%) колбон дахь эсийн сарнимал өсгөврөөс шинээр бэлтгэсэн 10^5 эс/мл бүхий 400 мкл цийдмэгт нэмнэ.
- 2) 37°C-д 5% CO₂-той орчинд 24 цаг инкубацласны дараа тасалгаа тус бүр дэх дээд шингэн хэсгийг аваад тасалгаа тус бүрд 400 мкл шинэхэн тэжээлт орчин нэмнэ.
- 3) Дахин 24 цаг (эсхүл түүнээс илүү) инкубацласны дараа дээд шингэн хэсгийг аваад тасалгааны хэсгүүдийг авч эсийн үеийг хатаан өндөр зэрэглэлийн цэвэр, хүйтэн 80%-ийн ацетонд бэхжүүлнэ.

- 4) Бэхжүүлсэн эсийн үеийг дараа нь 37°C-д үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу флюоресцент эсрэг биеэр 30 минут будна.

В) Өөр хувилбар арга зүй

- 1) Колбон дахь эсийн сарнимал өсгөврөөс авч DEAE декстраны ажлын уусмалд (25 мл DMEM-д 0.2 мл декстраны нөөц уусмал. Декстраны нөөц уусмалыг 0.50 г DEAE- декстраныг 100 мл ФБУ [Хэнкс]-д уусгаад ариутгах шүүлтүүрээр шүүж бэлтгэнэ) шинээр бэлтгэсэн 2×10^6 эс/мл бүхий 500 мкл цийдмэгтэй тархины нэгэн жигд болгосон тунгалаг 500 мкл шингэнийг (өсгөврөлөх тэжээлт орчинд 20%-иар [ж/э] [90% DMEM, 1.0% үнээний хээлийн ийлдэс (ҮХИ), 2% антибиотик] бэлтгээд ойролцоогоор 700 g -д (10 минут хурилдуурдана) холино.
- 2) 37°C-д 5% CO₂-той орчинд 30 минут инкубацласны (инкубацлах явцад эсийн цийдмэгийг хоёр эсхүл гурван удаа болгоомжтой хутгана) дараа эсийн цийдмэгийг алгуурхнаар хурилдуурдаад эсийн үлдэгдлийг 10 мл шинэ DMEM-д хийж дахин шингэлнэ.
- 3) Эсийн өсгөврийн колбод (T25) эсийн цийдмэгээс 8 мл хийх ба 2 мл-ийг 6 эсхүл 24 үүртэй хавтанд эсхүл Петрийн аяганд (35/10 мм) хийж ФЭБШУ-аар халдвар илрүүлэхэд хяналт болгон хэрэглэнэ.
- 4) Дараагийн 3-4 хоногийн инкубацийн дараа хяналтын хавтангаас дээд шингэн хэсгийг соруураар авч устгаад T25 колбыг хэвээр үлдээнэ.
- 5) Хяналтын хавтанг 80%-ийн ацетонд бэхжүүлсний дараа лабораторийн арга зүйн дагуу флюоресцент эсрэг биеэр будаж флюоресцент урвуу микроскопоор харна.
- 6) Хэрэв хяналтын хавтан сөрөг дүнтэй байвал T25 колбын эсийг трипсинжүүлээд шинэ DMEM-д 1:2-оос 1:4 хүртэл харьцаагаар хувааж, эсийн цийдмэгийг эсийн өсгөврийн колбо (8 мл) болон 6 эсхүл 24 үүртэй хавтанд эсхүл Петрийн аяганд (2 мл) хийнэ.
- 7) 4-6 дахь шатыг давтана. Сөрөг үр дүнг батлахын тулд дараалсан гурван удаагийн зорчуулалт хийнэ.

Дээр бичсэн (а) болон (b) арга зүй нь өсгөврийн зөвхөн шингэн хэсгийг дараалан зорчуулахад хэрэглэх бол зорчуулалтын (с) арга зүй нь халдвар авсан байж болзошгүй эсийн дан үеийг тусгаарлахад үндэслэсэн учир вирус бага агуулсан дээжээс вирус ялгах ажлыг хөнгөвчилнө.

ii) Хулганад халдвар хийх арга

Гурваас арав хүртэл тооны 3-4 долоо хоногийн настай (12–14 г) хулгана эсхүл шинэ төрсөн 2 хоногийн настай гөлчгийг авч мэдээгүйжүүлсний дараа тархинд нь халдвар хийнэ. Антибиотик агуулсан изотоник буфер уусмалд тархины эд (тархины бор гадарга, Аммоны эвэр, харааны төвгөр, уртавтар тархи)-ийг 10–20%-иар (ж/э) хийж нэгэн жигд болгосон шингэний дээд талын тунгалаг шингэн (дөнгөж төрсөн гөлчгийг 0.01 мл, бие гүйцсэн хулганад 0.03 мл хүртэл) хэсгийг халдвар хийхэд ашиглана.

Халдвар хийх хулганыг мэдээгүйжүүлнэ. Хулганыг 28 хоногт өдөр бүр ажиглан үхсэн хулгана бүрд ФЭБШУ эсхүл ИГХТС-оор галзуу өвчний шинжилгээ хийнэ. Халдварын үр дүнг гөлчгийг түргэн илрүүлэхийн тулд халдвар хийснээс хойш 5, 7, 9, 11 дэх хоногт нэг хулганыг үзэж шалгана. Эхний 4 хоногт хулгана үхвэл өвөрмөц бус (стресс/бактерийн халдвар) шалтгаант хорогдол гэж үзнэ.

Лабораторид эсийн өсгөврийн баталгаажсан, найдвартай ажиллагаатай тасаг байгаа бол амьд амьтан ашиглалгүйгээр бага зардал гарган илүү үр дүнд түргэн хүрэх үүднээс хулганад халдвар хийх аргыг боломжтой бүх нөхцөлд эсийн өсгөврийн аргаар солихыг чухалчлах хэрэгтэй. Хулганад халдвар хийх нь шинжилгээний дүн эерэг гарах тохиолдолд үүсгэгч омгийг ялган шинж чанарыг судлахад зориулан нэг хулганын тархинаас их хэмжээний вирус ялгах боломж олгодог, нөгөө талаар бусад арга (жишээ нь эсийн өсгөвөр) хэрэглэх туршлага, нөхцөл бүрдээгүй нөхцөлд хэрэглэхэд хялбар зэрэг давуу талтай арга юм.

1.3.3. Иммунохроматографийн түргэн сорил

Вирусийн эсрэгтөрөгч илрүүлэх зориулалттай хэвтээ нэвчин нүүх сорил гэж бас нэрлэгддэг иммунохроматографийн түргэн сорилууд худалдаанд гарсан байна. Зарим судалгаагаар янз бүрийн түргэн сорилыг үйлдвэрлэгчийн зааврыг чанд мөрдөн хэрэглэсэн ч оношилгооны мэдрэх чанар хангалтгүй эсхүл бараг мэдрэхгүй байсан зэргээр өөр хоорондоо маш их зөрөөтэй үр дүн үзүүлж байснаас гадна сорилын цомгийн цуврал хооронд болон оношилгоонд хэрэглэсэн дээжийн төрлөөс хамааран ялгаатай үр дүн өгдөг байсан нь тогтоогджээ (Eggerbauer нар, 2016; Klein нар, 2020). Тэдгээр сорилын зарим нь ялангуяа үйлдвэрлэгчийн зааврыг өөрчлөн хэрэглэхэд мэдрэх болон өвөрмөц чанарын хувьд өндөр байгааг хээрийн судалгаагаар харуулсан буюу хээрийн дээжийг шинжлэн мэдрэх чанарыг ФЭБША-тай харьцуулахад 93%-100%-ийн хооронд хэлбэлзэж байсан байна (Lechenne нар, 2016; Markotter нар, 2009; Nishizono нар, 2008; Servat нар, 2012). Гэсэн хэдий ч түргэн сорилыг ДМАЭМБ-аас зөвлөсөн арга болгохын өмнө оношилгооны зохих дээжийг ашиглан түүний мэдрэх чанар, тогтвортой болон баталгаат чанарыг улам сайжруулах шаардлагатай хэвээр байна. Хэрэв хийсэн түргэн оношлуур нь тандалт хийх, халдвар илрүүлэх зорилгоор хэрэглэж болох үр дүн үзүүлсэн бол үйлдвэрлэгч нь ДМАЭМБ-ын оношилгооны цомгийн бүртгэлд бүртгүүлэх хүсэлтээ гаргаж болно².

Бүтээгдэхүүн-өвөрмөц мэдрэх болон өвөрмөц чанараас хамаарч үр дүнгийн нэмэлт баталгаажуулалтыг бусад үндсэн оношилгооны аргуудыг (ФЭБША, Эсийн өсгөвөр халдварлуулах сорил, УТ-ПГУ) ашиглаж хийнэ. Тиймээс төв лабораториудад түргэн сорилыг тандалтын арга хэрэгсэл болгон ашиглах бол түүнтэй зэрэгцүүлэн хэрэглэх стандарт арга зүйг бий болгох эсхүл улам сайжруулах шаардлагатай. Хэдий тийм ч амьтанд хазуулсан хохирогч түргэн сорилд эерэг дүн үзүүлбэл энэ нь түүнд галзуу өвчнөөр өвчлөхөөс сэргийлэх арга хэмжээ авах хангалттай үндэслэл болно.

1.3.4. Эсийн өвөрмөц шинжит гэмтлийг гистологийн шинжилгээгээр ялган таних

Негрийн биенцрүүд нь вирусийн нийлж бөөгнөрсөн уургууд бөгөөд тэдгээрийн зөвхөн хүчиллэг будагтай холбогддог хэсгийг будалтын сонгомол аргаар таньж илрүүлнэ. Парафинд цутгасан тархины эдийн зүсмэг будах арга нь (жишээ нь Маннын арга) хугацаа их зардаг, мэдрэх чанар доогуур, ФЭБШУ, ИГХТС-ын аргаас илүү өндөр өртөгтэй юм. Эдийн бэхжүүлээгүй түрхэц шинжлэх Селлерийн аргын мэдрэх чанар маш бага бөгөөд зөвхөн шинэ дээж шинжлэхэд тохиромжтой. Эдгээр аргыг лабораторийн тогтмолжсон оношилгоонд хэрэглэхээ нэгэнт больжээ.

1.3.5. Урвуу транскрипт полимеразгийн гинжин урвал (УТ-ПГУ)

УТ-ПГУ-ын шинжилгээний арга нь сэжигтэй дээжид амьд вирус байхгүй байсан ч лиссавирусийн гаралтай рибонуклеин хүчлийг (РНХ) илрүүлж чадах мэдрэмтгий арга юм.

Лиссавирусийн репликацийн мөчлөг вирусийн нуклео уургийг кодлодог N гений 3' төгсгөл рүү чиглэсэн генүүдэд транскрипцийн үечлэлээр хамгийн их хэмжээгээр хуулбарлахыг зааж өгдөг тул вирусийн генийн 3' төгсгөл орчмыг онолох УТ-ПГУ-ын шинжилгээг хамгийн мэдрэмтгий гэж үздэг.

УТ-ПГУ-нь ДМАЭМБ-ын гаргасан баталгаажуулалтын стандартыг (1.1.6 “Халдварт өвчний оношилгооны аргыг баталгаажуулах зарчим, арга” хэсгийг үз) хангаж байх ёстойн дээр дэлхий дахинаа эргэлдэж буй галзуу өвчний вирусийн төрөл бүрийн омгийг илрүүлэх боломжтой байх ёстой. РНХ ялгах төрөл бүрийн арга (гараар ялгах арга, энгийн баганат эсхүл соронзон үрэлд суурилсан РНХ ялгах худалдаанд гарсан арга) байгаа ба тэдгээр нь мэдрэх чанараараа ялгагдана.

ДМАЭМБ-ын стандартын дагуу хийсэн үнэлгээгээр УТ-ПГУ-нь (1.1.6 дугаар бүлэг) мэдрэх болон өвөрмөц чанарын хувьд ФЭБШУ, ИГХТС-той адилхан байгаа нь тогтоогдсон, мөн одоогоор мэдэгдэж байгаа бүх лиссавирусийг сайн илрүүлэх боломжтой байгаа учир түүнийг галзуу өвчнийг оношлох тогтмолжсон шинжилгээнд ФЭБШУ, ИГХТС-ыг оронд ашиглаж болно. ПГУ-ыг оношилгооны үндсэн арга болгон хэрэглэж байгаа тохиолдолд В.1.1 дэх хэсэгт заасанчлан тархины багана болон бага тархийг хамруулсан тархины холимог дээжид хийх ёстой. Мэдрэх ба өвөрмөц чанар сулаас эсхүл бүх лиссавирусийг илрүүлж чадаагүйгээс үндсэн оношилгооны үр дүн тодорхойгүй байх нөхцөлд УТ-ПГУ-ын шинжилгээний дүнг баталгаажуулах шаардлагатай.

Эмнэл зүйн сорьцод лиссавирусийн РНХ-г илрүүлэх хоёр төрлийн урвуу транскрипт полимеразгийн гинжин урвалыг (УТ-ПГУ) тодорхойлон оруулав. Эхнийх нь бүх лиссавирусийг илрүүлэх энгийн (гельд суурилсан) хагас угсраа (hemi-nested) УТ-ПГУ, нөгөөх нь бүх

² <https://www.woah.org/en/what-we-offer/veterinary-products/diagnostic-kits/the-register-of-diagnostic-kits/>

лиссавирусийг илрүүлэх бодит цагийн УТ-ПГУ (флюоресцент будагтай ДНХ-д суурилсан) болно. Хагас угсраа УТ-ПГУ-ын гол давуу тал нь энгийн ПГУ-ын төхөөрөмжтэй лабораторид ч хэрэглэж болох ба үүссэн ампликоноос генетикийн мэдээллийг гаргаж авах боломжтой. Флюоресцент будагтай ДНХ-д суурилсан шинжилгээний давуу тал нь энгийн ПГУ-аас мэдрэх чанар өндөр, шинжилгээ хийх цаг хугацаа богино байдагт оршино. Аль ч шинжилгээ нь нэг шатлалтай учраас бохирдол болон ажиллагааны явцад гарах эрсдэлийг бууруулна. Флюоресцент будагтай ДНХ-д суурилсан шинжилгээ нь энгийн хагас угсраа УТ-ПГУ-аас ойролцоогоор нэгийн (log)-оор илүү мэдрэх чанартай.

Галзуу өвчнийг оношлох УТ-ПГУ-ын шаардлага хангасан хэд хэдэн хувилбар арга байдаг (Жишээ нь Freuling нар, 2014; Fischer нар, 2013; Nauman нар, 2011; Suin нар, 2014; Wadhwa нар, 2017; Wakeley нар, 2005). Эдгээр хувилбар нь янз бүрийн праймер хэрэглэн өөр өөр генийг бай болгон онилсон байх ба тэдгээрийг зохих ёсоор баталгаажуулсан тохиолдолд хэрэглэж бас болно (1.1.6 дугаар бүлэг үз).

i) Энгийн УТ-ПГУ-ын арга зүй

Бодит цагийн УТ-ПГУ тавих нөхцөл бүрэлдээгүй эсхүл генийн хэсэгчилсэн дараалал тогтоох зорилготой лабораторид энгийн УТ-ПГУ-ыг хэрэглэх нь зохистой. Үүн дээр нэмж ПГУ-аар олшруулсан бүтээгдэхүүнийг гель электрофорезоор шинжлэхэд хэрэглэх төхөөрөмж шаардагдана. Шинжилгээ хийхийн өмнө сэжигтэй биологийн сорьцоос нуклеин хүчил ялгах баталгаажсан арга хэрэглэн РНХ-ийг ялгана. Нэг шатлалт УТ-ПГУ-ын үед урвуу транскрипци болон ПГУ-ын эхний ээлжийн урвал нэг цодонд явагдаж, дээжид байгаа вирусийн ямар ч РНХ-ийн хуулбар урвуу транскриптаза энзимийн тусламжтайгаар ДНХ-г үүсгэх бөгөөд энэ нь улмаар хамжаа ДНХ-ийн темплатыг харилцан хамааралтайгаар олшруулах ДНХ полимеразыг темплатын үүрэг гүйцэтгэнэ. Нэг шатлалт УТ-ПГУ нь шинжилгээг богино хугацаанд хийж болдог бас нэгэн давуу талтай. Бүрэн баталгаажсан, үр дүн нь давтагддаг, мэдрэх болон өвөрмөц чанар өндөр, ердийн УТ-ПГУ-ыг жишээ болгон дор оруулав (Heaton нар, 1997-ын аргын өөрчилсөн хувилбар). Эхний ээлжийн урвалаас үүссэн ПГУ-ын мэдрэх чанарыг нэмэх ба/эсхүл өвөрмөц чанарыг баталгаажуулах зорилгоор хоёр дахь ээлжийн нэмэлт олшруулах урвалыг (хагас угсраа [hn] ПГУ) явуулах боломжтой.

а) Праймерийн дараалал

- 1) JW12 Праймер 5'-ATG-TAA-CAC-CYC-TAC-AAT-G-3'
7.5 пмоль/мкл (эхний ээлж)
3.5 пмоль/мкл (хоёр дахь ээлж)
- 2) JW6UNI Праймер 5'-CAR-TTV-GCR-CAC-ATY-TTR-TG-3'
7.5 пмоль/мкл (эхний ээлж)
- 3) JW10UNI Праймер 5'-GTC-ATY-ARW-GTR-TGR-TGY-TC-3'
3.5 пмоль/мкл (хоёр дахь ээлж)

б) Шинжилгээний арга

Дээж шинжлэх бүрдээ эдийн эерэг болон сөрөг хяналтын дээж, түүнчлэн темплатгүй хяналтыг хамт шинжилнэ.

Нэг шатлалт УТ-ПГУ эхний ээлжийн урвал (JW6UNI/12)

Цэвэр өрөөнд:

- 1) Ажлын ширээг ашиглахын өмнө тохирох халдваргүйжүүлэгч уусмалаар арчих эсхүл ПГУ-ын зориулалтын шүүгээ бэлтгэнэ. Үүний тулд ПГУ-ын ажлын шүүгээний хаалгыг нээж дотор талын бүх гадаргууг тохирох халдваргүйжүүлэгчээр арчина. Ажлын шүүгээн дотор мөстэй хайрцаг, хэрэглэх соруур, хошууг байрлуулаад хаалгыг хаана. UV гэрлийг 10 минут асаана.
- 2) Хэрэглэх урвалжийг бэлтгэнэ. Энзимт холимгийг хайрцагтай мөсөнд суулгана. Бусад урвалжийг тасалгааны хэмд гэсгээнэ.
- 3) Шаардагдах тооны 0.2 мл-ийн цодонг сууринд хийгээд цодон дээр дээжийн ялгах дугаарыг гаргацтай бичихээс гадна эхний ээлжийн урвал болохыг тэмдэглэнэ. Эерэг, сөрөг хяналт, темплатгүй хяналтыг бэлтгэнэ.
- 4) JW6UNI/JW12 урвалын холимгийг дараах байдлаар бэлтгэнэ:

Эхний ээлжийн JW6UNI/12 мастер холимог

Урвалж	Нэг урвалын эзлэхүүн (мкл)
Молекул шинжилгээний ус	29.0
5× буфер	10.0
dNTPs (10 mM)	2.0
JW12 (7.5 пмоль/мкл)	3.0
JW6UNI (7.5 пмоль/мкл)	3.0
Энзимт холимог	2.0
Нийт	49

Бүх урвалжийг нунтаг мөсөнд суулгаж байлгах ба хэрэглэхийн өмнө гэсгээж вортексоор холино. Хэмжээгээр нь сорж авахад хялбар байлгах үүднээс мастер холимогийн эзлэхүүнийг жинхэнэ хэрэглэгдэх хэмжээнээс наад зах нь нэг урвалын эзлэхүүнээр илүү бэлтгэнэ.

- Бэлтгэсэн мастер холимогийг вортексоор хольж улмаар хурилдуурдаад 0.2 мл-ийн цодонд 49 мкл-ийг хийнэ. Тагийг нь таглана.
- Таглаатай цодонг зориулалтын мөстэй хүйтэн сууринд байрлуулж тавиур дээр тавьж темплат нэмэх тасалгаа руу зөөнө. Тавиурт шаардлагатай халдваргүйжүүлэлт хийгээгүй бол цэвэр өрөөнд буцааж оруулахгүй.

Темплат нэмэх өрөөнд

- Ажлын ширээг хэрэглэхийн өмнө тохирох халдваргүйжүүлэгчээр арчина.
- Шинжлэх дээж болон хяналтын РНХ-г (эерэг ба сөрөг хяналт) мөсөн дээр тавьж гэсгээнэ.
- Мастер холимог бүхий цодонд 1 мкл шинжлэх РНХ-г (боломжтой бол ялгасан дээжид 1 мкг/мкл төвшрүүлэгтэй) холимогийн гадаргуугаас доош оруулж хийгээд нямбай холино. Хошууг халдваргүйжүүлэгч уусмалд шууд хийж устгана. Энэ үйлдлийг бүх дээж, хяналтыг тохирох цодонд нь нэмж дуустал давтана.
- Тагийг гараараа дарж нягт таглаж битүүмжилнэ.
- Битүүмжилсэн цодонг ПГУ-ын машинд хийж дараах мөчлөгөөр ажиллуулна. Мөчлөгийн параметрийг лабораторидоо шалгаж баталгаажуулах нь хэрэглэж байгаа ПГУ-ын машиныхаа ажиллагааг оновчтой болгоход чухал ач холбогдолтой.

Хагас угсраа УТ-ПГУ-ын эхний ээлжийн мөчлөгийн параметр

Температур	Хугацаа	Мөчлөг
50°C	30 минут	1
95°C	15 минут	1
94°C 45°C 50°C 72°C	30 секунд 45 секунд 15 секунд 1 минут	45
72°C	7 минут	1
4°C	∞	n/a

Шинжилгээний үр дүнд бий болсон ампликон буюу ПГУ-ын явцад олширсон бүтээгдэхүүнийг 1.5–2%-ийн агарозын гель хэрэглэх стандарт электрофорезын аргаар ДНХ-ийн тохирох хэмжээний шатлалтай жишиг хяналтыг ашиглан харж хяналтын дээжид байх ёстой хэмжээний бүтээгдэхүүн үүссэн эсэхийг (шинжилж байгаа дээжийнхтэй харьцуулахын тулд) магадална. ДНХ-ийг илрүүлэхэд шаардагдах химийн бодисыг гель дээр нэмээд UV гэрэлтэй хайрцагт хийгээд бүтээгдэхүүнийг энгийн нүдээр харна.

Нэг шатлалт УТ-ПГУ хоёр дахь ээлжийн урвал (JW10/12)

Эхний ээлжийн урвалаар ампликон үүсээгүй нөхцөлд хоёр дахь ээлжийн, хагас угсраа ПГУ-ыг явуулна.

Цэвэр өрөөнд:

- ПГУ-ын ажлын шүүгээг В.1.3.4.i.v.1. хэсэгт заасны дагуу бэлтгэнэ.
- Хэрэглэгдэх урвалжийг олж бэлтгэнэ. Энзимт холимогийг мөсөнд суулгана. Бусад урвалжийг тасалгааны хэмд гэсгээнэ.

- 3) Шаардагдах тооны 0.2 мл цодонг сууринд хийгээд цодон дээр дээжийн ялгах дугаарыг гаргацтай бичихээс гадна хоёр дахь ээлжийн урвал болохыг '10/12', эсхүл '2' гэж тэмдэглэнэ. ПГУ-ын сөрөг хяналтыг '-2' эсхүл 'NC2', темплатгүй хяналтыг 'NTC2' гэж тэмдэглэнэ. Энэхүү нэмэлт сөрөг хяналтыг мастер холимог бохирдоогүйг батлах үүднээс хоёр дахь ээлжийн ПГУ-ын туршилт бүрд оруулж өгнө.
- 4) JW10UNI/JW12 урвалын мастер холимгийг дараах байдлаар бэлтгэнэ:

Хоёр дахь ээлжийн JW10UNI/12 мастер холимог	
Урвалж	Нэг урвалын эзлэхүүн (мкл)
Молекул шинжилгээний ус	22.0
Өндөр бүтээмжит Taq полимераза (2х)	25.0
JW12 (3.5 пмоль/мкл)	1.0
JW10UNI (3.5 пмоль/мкл)	1.0
Нийт	49

- 5) Бүх урвалжийг хэрэглэхийн өмнө гэсгээж вортексоор холино. Хэмжээгээр нь сорж авахад хялбар байлгах үүднээс мастер холимгийн эзлэхүүнийг жинхэнэ хэрэглэгдэх хэмжээнээс наад зах нь нэг урвалын эзлэхүүнээр илүү бэлтгэнэ.
- 6) Бэлтгэсэн мастер холимгийг вортексоор хольж 700 **g** -д хурилдуурдаад 0.2 мл-ийн цодонд 49 мкл-ийг хийнэ. Тагийг нь таглана.
- 7) Таглаатай цодонг зориулалтын мөстэй хүйтэн сууринд байрлуулж тавиур дээр тавьж темплат нэмэх тасалгаа руу зөөнө. Тавиурт шаардлагатай халдваргүйжүүлэлт хийгээгүй бол цэвэр өрөөнд буцааж оруулахгүй.

Темплат нэмэх өрөөнд

- 1) Солбицох бохирдлыг бууруулах үүднээс темплатыг нэмэхдээ ПГУ-ын ажлын шүүгээнд гүйцэтгэнэ.
- 2) ПГУ-ын ажлын шүүгээний хаалгыг нээж дотор талын бүх гадаргууг тохирох халдваргүйжүүлэгчээр арчина. Ажлын шүүгээн дотор мөстэй хайрцаг, хэрэглэх соруур, хошууг байрлуулаад хаалгыг хаана. UV гэрлийг 10 минут асаана.
- 3) Эхний ээлжийн ПГУ-ын 1 мкл шингэлээгүй бүтээгдэхүүнийг хоёр дахь ээлжийн мастер холимогт түүний гадаргуугаас доош оруулж (ууршихаас хамгаалж) хийгээд нямбай холино. Хошууг халдваргүйжүүлэгч уусмалд шууд хийж устгана. ПГУ-ын цодон нягт таглаатай байх хэрэгтэй. Эхний ээлжийн бүтээгдэхүүн, хоёр дахь ээлжийн эерэг, сөрөг хяналт, темплатгүй хяналтыг хоёр дахь ээлжийн мастер холимгийн тохирох цодонд нь нэмж дуустал энэ үйлдлийг давтана. Хөндлөнгийн бохирдлоос сэргийлж бээлийгээ тохиромжтой цэгт тогтмол сольж байна.
- 4) ПГУ-ын ажлын шүүгээ ашиглаж байгаа бол дээж, бусад хэрэглэгдэхүүнийг аваад UV гэрлийг 10 минут асаана.
- 5) ПГУ-ын машиныг хоёр дахь ээлжийн мөчлөгийн тохируулгаар ажиллуулна. Мөчлөгийн тохируулгыг лабораторидоо шалгаж баталгаажуулах нь хэрэглэж байгаа ПГУ-ын машиныхаа ажиллагааг оновчтой болгоход чухал ач холбогдолтой.

Температур	Хугацаа	Мөчлөг
95°C	15 минут	1
94°C 45°C 50°C 72°C	30 секунд 10 секунд 15 секунд 1 минут	35
72°C	7 минут	1
4°C	∞	n/a

ДНХ олшруулах урвалын дүнг тохирох шатлал бүхий ДНХ-ийн жиших хяналт ашиглан агарозын гель электрофорезоор гаргана.

- ii) Бодит цагийн УТ-ПГУ-ын арга

Бодит цагийн ПГУ нь сэжигтэй дээжид лиссавирусийн РНХ байгаа эсхүл байхгүйг илүү түргэн тогтоох боломж олгоно. Энд дэлгэрэнгүй өгүүлсэн арга зүй нь Хитон нарын (1997) боловсруулсан энгийн УТ-ПГУ-тай ижил хөтлөх праймерийг хэрэглэх жишээ юм. Эмнэл зүйн сорьцоос лиссавирусийг илрүүлэх флюоресцент ДНХ ашигладаг нэг шатлалт универсал УТ-ПГУ-аар лиссавирусийн РНХ-г илрүүлэхэд мэдрэх болон өвөрмөц чанараар өндөр болох нь харагджээ. Үүнээс гадна флюоресцент ДНХ будаг ашиглан илрүүлэх систем нь бүх лиссавируст өвөрмөц праймерт суурилан тэдгээрийг бүгдийг нь илрүүлэх боломжтой юм. Энэ аргад амьтны тухайн зүйлд өвөрмөц дотоод хяналтыг олшруулахад зориулсан флюоресцент ДНХ будаг болон РНХ-ийг ялгахад зориулсан темплат хяналт болох бета-актины мРНХ агуулсан тусдаа УТ-ПГУ-ын шинжилгээ орно.

а) Праймерийн дараалал

- 2) Pan-lyssavirus-өвөрмөц праймер (нийлэгжүүлсэн 0.05 мкмоль, HPLC-ээр цэвэршүүлсэн) ба 20 пмоль/мкл хүртэл шингэлсэн:
 - а) JW12 RT/PCR праймер 5'-ATG-TAA-CAC-CYC-TAC-AAT-G-3'
 - б) N165-146 PCR праймер 5'-GCA-GGG-TAY-TTR-TAC-TCA-TA-3'
- 3) Олон зүйл амьтны Бета-аткины праймер (нийлэгжүүлсэн 0.05 мкмоль, HPLC-ээр цэвэршүүлсэн) ба 20 пмоль/мкл хүртэл шингэлсэн:
 - а) Сарьсан багваахай-Хархны интроник праймер
5'-CGA-TGA-AGA-TCA-AGA-TCA-TTG-3'
 - б) Сарьсан багваахай-Хархны буцаах праймер
5'-AAG-CAT-TTG-CGG-TGG-AC-3'

б) Аргын найдвартай байдал

Жилд нэг удаа багаж, тоног төхөөрөмжийн ажиллагаа, тохиргоо шаардлага хангаж байгаа эсэхэд хяналт-шинжилгээ хийнэ. Шинжилгээ хийх бүрдээ галзуу өвчний вирусийн РНХ-ийн шалгаж тохируулсан эерэг хяналтыг оруулах ба РНХ ялгалтын хяналт болгон дотоод бета-актины шинжилгээ хийнэ. Бохирдолгүй болохыг батлахын тулд шинжилгээ хийх бүрдээ сөрөг хяналт, темплатгүй хяналтыг оруулна. Шинжлэх бүх дээжийг хосоор нь зэрэгцүүлж шинжилнэ.

в) Шинжлэх арга зүй

Бүх ажлын турш бээлий, лабораторийн халаадтай ажиллана.

Цэвэр өрөө/UV шүүгээнд:

- 1) ПГУ-ын ажлын шүүгээг В.1.3.4.i.v.1-д заасны дагуу бэлтгэнэ.
- 2) Хэрэглэгдэх урвалжийг олж бэлтгэнэ. Энзимт холимгийг мөсөнд суулгана. Бусад урвалжийг тасалгааны хэмд гэсгээнэ.
- 3) Шаардагдах тооны 0.2 мл цодонг сууринд хийгээд цодон дээр дээжийн ялгах дугаарыг гаргацтай бичнэ. Эерэг, сөрөг хяналт, темплатгүй хяналтын цодонг оруулна.
- 4) Дор дурдсаны дагуу урвалын холимгийг бэлтгээд бүх урвалжийг мөсөнд суулгана. Хэмжээгээр нь сорж авахад хялбар байлгах үүднээс урвалын холимгийн эзлэхүүнийг наад зах нь хоёр урвалын эзлэхүүнээр илүү бэлтгэнэ.

Урвалж	Нэг урвалын эзлэхүүн (мкл)
Молекул шинжилгээний ус	7.55
Флюоресцент ДНХ будаг агуулсан урвалын универсал холимог (2х)	10.0
JW12 (20 пмоль/мкл)	0.6
N165-146 (20 пмоль/мкл)	1.0
УТ энзимийн холимог	0.25
Нийт	19.4

- 5) Хатуу эдээс ялгасан дээжийн чанарыг үнэлдэг бета-актиний мРНХ-д зориулсан урвалын холимог бэлтгэнэ. Бета-актинийг тодорхойлоход эерэг гарвал РНХ-г эх материалаас ялгасныг итгэлтэйгээр харуулна.

Урвалж	Нэг урвалын эзлэхүүн (мкл)
Молекул шинжилгээний ус	7.55
Флюоресцент ДНХ будаг агуулсан урвалын универсал холимог (2х)	10.0
Интроник (20 пмоль/мкл)	0.6
Буцаах (20 пмоль/мкл)	1.0
УТ энзимийн холимог	0.25
Нийт	19.4

- 6) Урвалын бэлтгэсэн холимгийг вортексоор хольж 96 үүртэй хавтан эсхүл хавтангийн 8 үүртэй туузын холбогдох үүр тус бүрд 19 мкл-ээр хувааж хийнэ.

Темплат нэмэх өрөө/UV шүүгээнд

- 1) ПГУ-ын ажлын шүүгээг В.1.3.4.i.c.1-д заасны дагуу бэлтгэнэ.
- 2) Дээж болон РНХ хяналтыг мөсөн дээр гэсгээнэ.
- 3) Мастер холимогт зориулсан цодонд 2 мкл шинжлэх РНХ-г (боломжтой бол хандалж ялгасан дээжээс 0.5–1 мкг/мкл төвшрүүлэгтэй) холимгийн гадаргуугаас доош оруулж хийгээд нямбай холино. Хошууг халдваргүйжүүлэгч уусмалд шууд хийж устгана. Бүх дээж, хяналтыг тэдгээрт зориулсан тохирох цодонд нь нэмж дуустал энэ үйлдлийг давтана.
- 4) Таглааг доош дарж сайтар битүүмжилнэ.
- 5) ПГУ-ын хавтан/туузыг бодит цагийн дулаан сэлгэлтийн машинд шилжүүлэн хийнэ.

Бодит цагийн дулаан сэлгэгч машины тохиргоо

- 1) Дээжийг машинд ачаалаад зөв орж байршсан эсэхийг шалгана. Бүх таглааг сайтар битүүмжилсэн эсэхийг шалгаад машины хавтан байрлах таг, хаалгыг хаана. Үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу машины ажиллагааны үзүүлэлтийг тохируулна.
- 2) Дулааны үзүүлэлтийг дараах байдлаар тохируулна

Температур	Хугацаа	Мөчлөг
50°C	10 минут	1
95°C	5 минут	1
95°C 60°C	10 секунд 30 секунд	40
95°C 55°C 55-95°C	1 минут 1 минут 10 секунд	80

Ашиглаж байгаа ПГУ-ын машинаас хамаарч түүний дулааны үзүүлэлтийг илүү оновчтой тохируулж болно.

- 3) Шинжилгээ эргэлзээтэй явагдсан тохиолдолд ампликон байгаа эсэхийг, хэрэв байвал ойролцоо хэмжээг (100 хос суурь) тогтоох зорилгоор агарозын гел электрофорез тавина.

1.4. Ялган таних шинжилгээний бусад арга

Дээр тодорхойлсон шинжилгээ нь галзуу өвчнийг нарийн оношлох, вирусийг ялган тодорхойлох аргууд юм. Вирусийн шинж чанарыг судлан тогтоох нь эпидемиологийн ач холбогдолтой мэдээлэл болох ба энэ ажлыг галзуу өвчнийг нарийн оношлоход төрөлжсөн лабораторид (ДМАЭМБ, ДЭМБ, ХХААБ-ын лавлах лаборатори зэрэг) гүйцэтгэнэ. Эдгээр арга технологид ИГЭБ хэрэглэх, геномын хэсэгчилсэн болон бүрэн дараалал тогтоох, улмаар удам зүйн хамаарлыг судлах ажил хамаарна. Вирусийн дээрх шинж чанарыг тогтоох нь вакцины вирус, вирусийн хээрийн омгийг хооронд нь ялгаварлах, хээрийн омгийн газар зүйн гарал үүслийг тогтоох боломж олгоно.

2. Ийлдэс судлалын арга

Галзуу өвчний тухайд ийлдэс судлалын аргыг тэжээвэр амьтанд хийсэн вакцинжуулалтын дараах хариу урвалыг ялангуяа олон улсын шилжилт хөдөлгөөний шаардлагын дагуу тодорхойлох, эсхүл нохой болон өвчний голомт болдог зэрлэг амьтанд хийх вакцинжуулалтын үр дүнд хяналт-шинжилгээ хийхэд гол төлөв ашиглана. Галзуугийн вирусийн эсрэг биеийг хэмжих аргад саармагжуулах эсрэг биеийн хэмжээг тодорхойлох вирус саармагжуулах урвал (ВСУ) орно. Түүнчлэн ЕЛИЗА арга өдгөө галзуугийн вирусийн эсрэг биеийг илрүүлэхэд хэрэглэж болохоор хүлээн зөвшөөрөгдсөн арга болов. Эсрэг бие илрүүлэх эдгээр хоёр өөр аргын үр дүн хоорондоо яг нийлэхгүй ч ихээхэн шүтэлцээтэй болох нь тогтоогдсон байна. ЕЛИЗА аргын төрлөөс хамаараад мэдрэх болон өвөрмөц чанар нь янз бүр байна. ЕЛИЗА аргаас ялгаатай нь ВСУ-д чанар муутай ийлдэс хэрэглэвэл эс эмгэгшүүлэх нөлөөний улмаас хуурамч эерэг дүн үзүүлнэ. Аргын хэрэглэх зориулалтаас хамаарч аль ч арга нь хэрэв тохирох зөв босго утгыг хэрэглэж байгаа нөхцөлд вакцинжуулалтын хариу урвалыг илрүүлэхэд адилхан ач холбогдолтой. Гэвч эдүгээ ЕЛИЗА аргыг мал, амьтны олон улсын шилжилт хөдөлгөөн эсхүл худалдаанд холбоотой шинжилгээнд ашигладаггүй.

Ийлдэс судлалын арга хэрэглэн сарьсан багваахайн лиссавирусийн халдварын хөдлөл зүйн мэдээлэл хуримтлуулсаар байгаа хэдий ч уг амьтанд хэрэглэж байгаа ийлдэс судлалын шинжилгээний аргыг стандартчилах шаардлага байгаа.

2.1. Эсийн өсгөвөрт вирус саармагжуулах урвал: Флюоресцент эсрэг биеэр вирус саармагжуулах урвал (ФЭВСУ)

ФЭВСУ-ын зарчим (Cliquet нар, 1998) нь галзуу өвчний тогтмол тооны вирусийг (эсийн өсгөвөрт дасгасан 'халдвар хийх стандарт вирус' [CVS-11] омог) галзуу өвчний вируст мэдрэмтгий ВНК-21 эсэд халдварлуулахаас өмнө *in-vitro* орчинд саармагжуулахад оршино.

Ийлдсийн титр гэж урвалын үүрний 50%-д нь вирус 100% саармагжиж байгаа шингэлэлтийг хэлнэ. Титрийг туршилтын ижил нөхцөлд хэрэглэсэн нохойн гаралтай ийлдсийг (ДМАЭМБ-ын бэлтгэсэн) саармагжуулах шингэлэлттэй харьцуулан ОУН/мл-ээр илэрхийлнэ. Шинжлэх ийлдсийн титрийг ОУН/мл-ээр тогтоохдоо галзуугийн иммуноглобулины ДЭМБ-ын стандарт³ №2, эсхүл олон улсын хяналтын бэлдмэлтэй харьцуулан тохируулга хийсэн дотоод хяналтыг ашиглаж болно.

Ерөнхийдөө ийлдсэнд өвөрмөц эсрэг бие боломжит түвшинд үүссэнийг илэрхийлэх вирус саармагжуулах эсрэг биеийн хэмжигдэх хамгийн бага титр нь мл тутамд 0.5 ОУН байна. Олон улсын шилжилт хөдөлгөөнд оруулахын өмнө нохой, муурт олгосон вакцины эсрэг дархлааны хариу урвал хангалттай үүссэн эсэхийг батлахын тулд тэдэнд дээрхтэй адил шинжилгээ хийнэ. Гэхдээ өргөн хүрээтэй вакцинжуулалтын дараах хяналт-шинжилгээгээр төрөл бүрийн зүйлийн амьтны ийлдсэнд дархлааны эсрэг биеийн үүсэлтийг харуулах, бүгдэд нь тохирох цорын ганц босго хэмжээ хэрэглэхгүй (Moore нар, 2017).

96 үүртэй хавтан ашигладаг бичил хавтангийн энэхүү арга нь Смит нарын (1973) аргын тохируулан өөрчилсөн хувилбар бөгөөд ФЭВСУ болон флюоресцент фокус саатуулах арга нь ижил үр дүн үзүүлнэ (Cliquet нар, 1998).

2.1.1. Вирус, ДМАЭМБ-ын стандарт ийлдэс

Вирус: CVS-11 омог (өмнө нь ATCC VR 959 дугаартай байсан), ATCC эсхүл Франц улсын Нэнси хотод байрлах Галзуу өвчний лавлах лабораториос⁴ авч болно. Цодонтой омгийг хасах -80°C -д хадгална.

ДМАЭМБ-ын стандарт ийлдэс нь нохойн гаралтай⁵ бөгөөд түүнийг $+4^{\circ}\text{C}$ -д хадгална. Ариун ионгүйжүүлсэн эсхүл нэрмэл усаар 0.5 ОУН/мл болтол шингэлнэ. Энэ хяналтын ийлдсийг ФЭВСУ-аар тогтмол шинжилгээ хийхэд ашиглах нэмэлт дотоод хяналтын бэлдмэлд тохируулга хийхэд ашиглаж болно.

Сөрөг хяналтын ийлдэс: халдварт өртөөгүй нохдоос авч нийлүүлсэн ийлдэс, -20°C -д хадгална.

2.1.2. Халдвар хийх стандарт вирус (ХСВ) үйлдвэрлэх

- i) Эс өсгөвөрлөх: Халдвар хийх стандарт вирус (ATCC VR 959 CVS-11)-ийг үйлдвэрлэхэд ашигладаг, антибиотик болон халааж идэвхгүйжүүлсэн үхрийн хээлийн ийлдэс (ҮХИ) 10%-иар агуулсан DMEM эсхүл GMEM тэжээлт орчинд өсгөвөрлөж байгаа ВНК-21 C13 эс (ATCC CCL-10)-ийг эрчимтэй өсгөвөрлөгдөх үе шатанд, тухайлбал эсийн кинетик

³ Available from: National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC), Blanche Lane, South Mimms, Potters Bar, Hertfordshire EN6 3QG, United Kingdom (UK).

⁴ <https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3>

⁵ <https://www.woah.org/en/what-we-offer/veterinary-products/#ui-id-4>

өсгөвөржилтийн хамгийн огцом шугаман өсөлтийн үе шатад трипсинээр боловсруулна. Хэрэв өсгөвөрлөх бүх талбайд эс дан үеэр ургасан бол шинээр зорчуулалт хийнэ. Эсийн цийдмэг дэх эсийг бөөгнөрүүлж болохгүй; эсийн өсгөврийн 75 см^2 эзлэхүүнтэй колбод 2×10^7 эс байна. Халааж идэвхгүйжүүлсэн ҮХИ 10%-иар агуулсан эсийн өсгөврийн тэжээлт орчинд 20-30 мл-ийн эзлэхүүнтэй эс хийнэ.

- ii) Эс халдварлуулах: Үүсгэгч болон халдварлах эсийн харьцааг (нэг эс дэх халдвартай вирусийн хэлтэрхийн тоо) 0.1-0.5 хооронд тохируулан тогтооно. Вирус/эсийн цийдмэг агуулсан шилэн савыг $35.5-37^\circ\text{C}$ -д 60 минут инкубацлана. Агуулагдахууныг 10-15 минут тутамд зөөлөн холино.

Вирус өсгөвөрлөх: Дараа нь вирус/эсийн цийдмэгийг 800-1000 g-ээр 15 минут хурилдуурдаж, эсийн тунашийг халааж идэвхгүйжүүлсэн ҮХИ 10%-иар агуулсан эсийн өсгөврийн тэжээлт орчинд дахин уусган сэргээнэ. Вирусийг 2 хоногийн дараа цуглуулж авна.

Вирусийг хурааж авах, хадгалах: дээд шингэн хэсгийг 4°C -т 800-1000 g-ээр 15 минут хурилдуурдана. Хэрэв хэд хэдэн колбод өсгөвөрлөсөн бол хурилдуурдаж ялгасан дээд талын шингэн хэсгийг нийлүүлж хольсны дараа хувааж -80°C -т хөлдөөнө. Цуглуулж авсан вирусийн халдварлах титрийг хөлдөөснөөс хойш 3-аас доошгүй хоногийн дотор тогтооно.

2.1.3. Вирус титрлэх TCID₅₀ (эсийн өсгөврийн 50%-д халдварлах тун)

Энэхүү титрийн аргад бичил титрийн хавтан дахь ВНК-21 C13 эс (ATCC CCL-10) ашиглана.

- i) Титрлэлтийн өмнөх өдөр, халааж идэвхгүйжүүлсэн ҮХИ 10%-иар агуулсан эсийн тэжээлт орчинд 10^5 эс/мл агуулсан эсийн цийдмэг бэлтгээд 96 үүртэй бичил титрийн хавтангийн үүр тус бүрд 200 мкл-ээр хуваариалан хийнэ. Дараа нь хавтанг $35.5^\circ\text{C}-37^\circ\text{C}$ -д 5% CO_2 орчинд 24 цаг инкубацлана.
- ii) ҮХИ агуулаагүй эсийн тэжээлт орчныг шингэлэгч болгон ашиглаж 5 мл цодонд вирусийн дараалан шингэлэлт хийнэ. 10^{-1} -ээс 10^{-12} хүртэл арав дахин дараалан шингэлэлт (өмнөх шингэлэлтээс 0.1 мл авч 0.9 мл шингэлэгч нэмнэ) бэлтгэнэ.
- iii) Бичил титрийн хавтан дахь тэжээлт орчныг сорох хэрэгслээр сорж зайлуулна. Вирусийн шингэлэлт тус бүрээс 50 мкл-ийг үүр тус бүрд хийнэ. Дараа нь бичил титрийн хавтанг $35.5^\circ\text{C}-37^\circ\text{C}$ -д 5% CO_2 орчинд 1 цаг инкубацлана. ҮХИ 5%-иар агуулсан эсийн тэжээлт орчин 200 мкл-ийг үүр тус бүрд нэмнэ.
- iv) Хавтанг чийгшүүлэгчтэй термостатын $35.5^\circ\text{C}-37^\circ\text{C}$ -д 5% CO_2 орчинд 3 хоног инкубацлана.
- v) Эсийг дор тодорхойлсны дагуу ФЭБШУ ашиглан будна. Үр дүн нь чанарын үзүүлэлтээр илэрхийлэгдэх ба өвөрмөц гэрэлтэлт өгсөн үүр бүрийг эерэг гэж үзнэ. Титрийг неопробит графикайн арга эсхүл Спирман карберийн томёогоор тооцож гаргана (WHO, 1996).
- vi) Халдвартай байх тунгийн TCID₅₀-ийг тогтоох ХСВ-ын титрлэлтийг ФЭБСУ-ын аргаар гүйцэтгэнэ.

2.1.4. Шинжлэх арга зүй

- i) Хяналтын хавтанг (1-ээс 4 хүртэлх мөр) ХСВ-ийн титрлэлтэд ашиглах ба стандарт ийлдэс, сөрөг хяналтын ийлдэс мөн ашиглана. Бусад бүх хавтанг шинжлэх ийлдсэнд ашиглана.
- ii) Тэжээлт орчныг үүрнүүдэд дараах байдлаар нэмнэ. Хяналтын хавтангийн 1-4 мөрний А9 - А12 үүрэнд: үүр тус бүрд 150 мкл, бусад хавтангийн 6-12 мөрөнд үүр тус бүрд 200 мкл, бусад бүх үүрэнд 100 мкл нэмнэ.
- iii) Шинжлэх ийлдсийг 56°C -д 30 минут халааж идэвхгүйжүүлнэ. Шинжлэх гэж байгаа шингэлээгүй ийлдэс тус бүрээс 50 мкл-ийг зэрэгцээ орших 4 үүрэнд нэмнэ.
- iv) Ийлдэсний шингэлэлтийг бичил хавтанд дараах байдлаар хийнэ.

ДМАЭМБ-ын ийлдэс, ДЭМБ-ын ийлдэс, дотоод хяналтын ийлдэс, халдварт өртөөгүй нохойн ийлдэс: 50-200 мкл-ийн олон сувагт соруураар эхний шингэлэлтийн үүрийг наад зах нь найман удаа сорох, юүлэх замаар холиод тэндээсээ 50 мкл-ийг сорж дараагийн үүрэнд хийж холих маягаар үргэлжлүүлнэ. Сүүлийн шингэлэлт хийсэн үүрнээс 50 мкл-ийг авч асгана.

Хэрэв хяналтын хавтанд шинжлэх ийлдэс хийсэн байгаа бол шингэлэлтийн шатлалтыг дор дурдсанаас харна уу.

Хамгийн багадаа дөрвөн удаа гурав дахин шингэлэх шаардлагатай. Шинжилж байгаа ийлдэс (бүх хавтанд): дээрхийн адилаар нэг мөрөөс дараагийн мөрөнд 50 мкл-ийг дараалуулан шилжүүлж 5 ба 11 мөр хүртэл хийнэ (dil. $10^{-2.39}$). 5-50 мкл-ийн олон сувагт

соруураар 5 ба 11 дэх мөрөөс 10 мл-ийг авч 6 ба 12 дахь мөр рүү шилжүүлэн хийнэ (10^{-2.39} шингэлэлтээс 10^{-4.23} шингэлэлт хүртэл). 90 мкл дээр тохируулсан олон сувагт соруураар 6 ба 12 мөрөнд холилт хийгээд 180 мкл-ийг авч асгана. Дараа нь эдгээр мөрөнд 70 мкл тэжээлт орчин нэмнэ. Төгсгөлийн энэхүү шингэлэлт нь нэгж хугацаанд хийх шинжилгээг олшруулах боломж олгодоггүй. Төгсгөлийн тохиромжтой шингэлэлт хийх, илүү оновчтой болгохын тулд өөр арга хэрэглэж болно. Үүний тулд хавтангийн хуваарилалтыг өөрчлөх шаардлага гарна.

2.1.5. Халдвар хийх вирусийн стандартад нэмэлт хийх

- i) ХСВ-ын нөөцийг 1 мл бичил цодонд хийгээд -80°C-д хадгална. Нэг цодонг авч хүйтэн усны урсгалд барьж түргэн гэсгээгээд нунтаг мөсөнд суулгана.
- ii) 50 мкл-д 100 TCID₅₀-тай болгохын тулд энэ цодонгоос нэг шингэлэлт бэлтгэнэ. Энэ шингэрүүлэлтээс 50 мкл-ийг ийлдэс хийсэн бүх үүрэнд нэмнэ. Вирус титрлэхэд H1 - H4 үүрэнд (хяналтын хавтан) 50 мкл нэмнэ. Дараа нь мөрөөс мөрөнд (хяналтын хавтан, 1—4 шугам) 50 мкл-ийг шилжүүлж хийнэ. Сүүлийн мөрнөөс 50 мкл-ийг авч асгана (хяналтын хавтан, A1 - A4 үүр). Хяналтын хавтангийн A9 - A12 үүрэнд вирус нэмэхгүй. Вирусийн тунд тохирсон титрийн хязгаар 30-аас 300 TCID₅₀/50 мкл хооронд байх ёстой.
- iii) Бичил титрийн хавтанг 5%-ийн CO₂-той 35—37°C-ийн чийгшүүлэгчтэй термостатад 1 цаг инкубацлана.
- iv) Эс нэмэх: ВНК-21 эсийн сарнимал өсгөврийг трипсинээр боловсруулна. Халааж идэвхгүйжүүлсэн ҮХИ 10%-иар нэмсэн DMEM-ээр эсийг шингэлж 4×10^5 эс/мл цийдмэг бэлтгэнэ. Үүр тус бүрд 50 мкл эсийн цийдмэг нэмнэ.
- v) Бичил хавтанг чийгшүүлэгчтэй термостатын 35.5°C—37°C-д 5%-ийн CO₂ орчинд 48 цаг инкубацлана.

2.1.6. Бэхжүүлэх, будах

- i) 48 цаг инкубацласны дараа тэжээлт орчныг асгаж бичил хавтанг нэг удаа pH 7.2 ФБУ-аар, нэг удаа 80% ацетонор зайлна. Дараа нь бичил хавтанг 80% ацетонд тасалгааны хэмд 30 минут бэхжүүлээд мөн тасалгааны хэмд агаарт наад зах нь 30 минут хатаана.
- ii) Үүр бүрд ажлын шингэлэлт бүхий ФИТС туулай эсрэг конъюгат 50 мкл нэмж хавтанг зөөлөн тогшоод 35.5°C—37°C-д 30 минут тавина. Флюоресцент конъюгатыг асгаад хавтанг ФБУ-аар хоёр удаа зайлна. Хавтанг уруу харуулан уудаг цаасан дээр түр тавиад ФБУ-ын үлдэгдлийг шингээж авна.

2.1.7. Үр дүнг унших, боловсруулах

- i) Үүр бүрийн нийт гадаргууг харж шалгана. Үр дүнг чанарын үзүүлэлтээр (нэмэх эсхүл хасах) үнэлнэ. Эс гэрэлтэлт өгөхгүй бол тэдгээр үүрэнд хасах оноо өгөх бол эс (нэг эс, түүнээс дээш) гэрэлтэлт өгсөн үүрэнд нэмэх оноо өгнө. ФИТС гэрэлтэлтэд тохирох $\times 10$ шагайвч $\times 10$ дурандуур бүхий флюоресценцийн микроскоп ашиглана. Зарим эпифлюоресценцийн багаж нэмэлт өсгөлттэй байдаг учир микроскопын нийт өсгөлт $\times 100$ ба $\times 125$ байна.
- ii) Эхлээд эсийн болон вирусийн хяналтыг уншина. ХСВ-ын титрлэлтэд болон сөрөг хяналтын ийлдэс, ДМАЭМБ-ын стандарт ийлдэсний титрийг Спирман Карберийн аргаар эсхүл неопробит графикайн аргаар тооцоолж гаргана (WHO, 1996).
- iii) ХСВ (TCID₅₀), халдварт өртөөгүй нохойн ийлдэс (D₅₀ [дундаж тун]) болон эерэг стандарт (D₅₀)-ын титрлэлтийн үр дүнг тэдгээр гурван хяналтын тус бүрийн хяналтын картад тэмдэглэнэ. Тухайн үед хийсэн шинжилгээний хяналтын үр дүнг хяналтын ижил цувралыг ашиглан хийсэн өмнөх шинжилгээнээс хойш хуримтлагдсан хяналтын шинжилгээний дүнтэй харьцуулна. Хэрэв тухайн үед хийсэн шинжилгээнд ашигласан гурван хяналтаас гарсан утга нь тэр аргын дагуу өмнө нь хийсэн шинжилгээний бүх утгын дунджаас статистикийн хувьд ялгаагүй (± 2 SD) бол уг шинжилгээнд баталгаажуулалт хийнэ.
- iv) Лавлагааны ийлдэс эсхүл шинжлэх ийлдэстэй хамт инкубацласны дараах шинжилгээний үр дүн нь саармагжаагүй үлдсэн вирусийг илэрхийлнэ. Тэдгээр титрийг неопробит графикайн аргаар эсхүл Спирман Карберийн томьёогоор тооцож гаргана (WHO, 1996). Шинжилсэн ийлдэсний титрийг хэмжээд саармагжуулах титр нь нэгэнт мэдэгдэж байгаа эерэг хяналтын стандарттай харьцуулснаар шинжилж байгаа ийлдэсний саармагжуулах титрийг ОУН/мл нэгжээр тодорхойлох боломж олгоно. Өдрийн log D₅₀ утга эсхүл эсрэг стандарт ийлдэсний дундаж утгыг ашиглан ОУН/мл нэгжид хувиргаж болно.

2.1.8. $\log D_{50}$ утгыг ОУН/мл титрт хувиргах томьёо:

$$\text{Ийлдэсний титр (ОУН/мл)} = \frac{[10 \text{ ийлдэсний } \log D_{50} \text{ утга)} \times \text{стандарт эерэг ийлдэсний онолын титр } 0.5 \text{ ОУН/мл}]}{(10 \text{ (эерэг стандарт ийлдэсний } \log D_{50} \text{ утга } 0.5 \text{ ОУН/мл)})}$$

Хувиргах жишээ:

- Ийлдэсний $\log D_{50} = 2.27$
- Стандарт эерэг ийлдэсний онолын титр $0.5 \text{ ОУН/мл} = 0.5 \text{ ОУН/мл}$
- Эерэг стандарт ийлдэсний $\log D_{50} = 1.43$
(эерэг стандартын $\log D_{50}$ гаргахад өдрийн утга эсхүл дундаж утгыг харгалзан үзнэ)

$$\text{Ийлдэсний титр ОУН/мл} = \frac{10^{2.27} \times 0.5}{(10^{1.43})} = 3.46 \text{ ОУН/мл}$$

Дараах шаардлагыг чанд мөрдөнө:

- Галзуугийн вирус: зөвхөн CVS-11 омог ашиглана.
- Эсийн өсгөвөр: зөвхөн ВНК-21 эс (АТСС дугаар— CCL 10) ашиглана.
- ФЭБСУ-ыг зөвхөн 96 үүртэй хавтанд гүйцэтгэнэ.
- Галзуугийн вирус, нохойн гаралтай сөрөг ба эерэг ийлдсэнд зориулан хяналтын карт хөтөлнө.
- ХСВ-ын вирус, түүнчлэн нохойн гаралтай сөрөг хяналтын ийлдэс, эерэг стандарт ийлдэсний урвуу титрлэлтийг хяналтын хавтан дээр явуулна.
- Хамгийн багадаа ийлдсийг дөрвөн удаа гурав дахин шингэлэх шаардлагатай. Хариуг зөвхөн “бүгд эсхүл байхгүй” гэж гаргана.
- Ийлдэс тус бүрийг дөрөв хувилаад шингэлнэ.
- $\log D_{50}$ -ыг ОУН/мл-д хувиргахад лабораториуд зөвхөн нохойн гаралтай эерэг стандарт ийлдэсний $\log D_{50}$ утгыг ашиглана.

2.2. Эсийн өсгөвөрт вирус саармагжуулах урвал: эсрэг биеийн саатуулалтыг илрүүлэх флюоресценцийн түргэн арга (ЭСИФТА)**2.2.1. Эх вирусийн цийдмэг бэлтгэх**

- 150 мл-ийн нэг колботой хулганы неиробластомын эсийн (MNA) 3 хоногийн настай өсгөврийг трипсинээр боловсруулна. Үүнтэй төстэй дамжмал эсийг (CCL-131) АТСС-ээс хүсэлт гарган авч болно.
- 50 мл-ийн конус колбод 3×10^7 эсийг үнээний хээлийн ийлдэс 10%-иар нэмсэн Ийглийн MEM 2.7 мл тэжээлт орчноор (ЕМЕМ-10) уусган сэргээнэ.
- Галзуу өвчний аюулгүй ажиллагааны стандартыг баримтлан галзуугийн CVS-11 (өмнөх АТСС лавлах дугаар VR959) вирусийн 1×10^7 халдвартай нэгжийг нэмээд нэг удаа вортексээр холино. Эс болон вирусийг 37°C -д 15 минут байлгаад энэ хугацаанд нэг удаа вортексоор холино
- ЕМЕМ-10-ээс 10 мл нэмж вортексоор холиод эсийг 500 g -д 10 минут хурилдуурдана.
- Дээд шингэн хэсгийг зайлуулна. Өсгөвлөх 30 мл тэжээлт орчинд эсийг дахин уусгаад 150 мл колбод шилжүүлэн хийнэ.
- Колбыг зөөлөн тогших маягаар эсийн цийдмэгийг холиод эсийн өсгөврийн тасалгаат найман үүртэй гурван ширхэг тавиур шил бэлтгэн слайд бүрийн нэг үүрэнд 0.2 мл эсийн цийдмэгийг соруураар авч хийнэ.
- Колбо болон слайдыг чийгшүүлэгчтэй термостатын 37°C -д 5% CO_2 орчинд инкубацлана. Колбыг (сайтар таглаад) битүү өсгөвөр байдлаар инкубацлана.

- viii) Халдварлуулснаас хойш 20, 40, 64 дэх цагт вирусийн халдварлах чанарыг тогтоохоор нэг слайдыг авч ацетоноор бэхжүүлээд иммун флюоресценцийн аргаар будна. Эсийн халдварлах чанар 100% хүрснээс хойш 24 цагийн дараа дээд талын шингэнийг авна (үндсэндээ халдварын дараах 40 цаг).
- ix) Дээд талын шингэнийг 50 мл-ийн хурилдуурын хуруу шилэнд шилжүүлэн хийгээд 4000 g-д 10 минут хурилдуурдана.
- x) Шингэнийг 0.5 мл-ээр тасалж цодонгуудад хийгээд -70°C -д хадгална.

2.2.2. Эх вирусийн цийдмэгийг титрлэх

- i) Эх вирус бүхий нэг цодонг авч гэсгээгээд ЕМЕМ-10-д арав дахин дараалсан шингэлэлт (10^{-1} - 10^{-8}) хийнэ.
- ii) Найман үүртэй эсийн өсгөврийн тасалгаат слайд бүрийн нэг үүрт вирусийн шингэлэлт бүрээс 0.1 мл авч тарааж хийнэ. Үүр бүрд ЕМЕМ-10-аар дахин шингэлсэн MNA эсээс (0.2 мл бүрд 5×10^4 эс байх) 0.2 мл нэмнэ.
- iii) Слайдыг зөөлөн тогшиж эс болон вирусийг холиод чийгшүүлэгчтэй термостатын 37°C -д 5% CO_2 орчинд 40 цаг инкубацлана.
- iv) Слайдыг ацетоноор бэхжүүлээд иммун флюоресценцийн аргаар будна. Вирусийн нөөц цийдмэг 0.1 мл-дээ наад зах нь 1×10^6 халдварлуулах нэгжтэйг харуулдаг вирусийн 10^{-6} шингэлэлтэд вирусийн халдварын шинж байдлыг ажиглана. Вирусийг олон удаа зорчуулаад байх шаардлага гаргахгүйн тулд эх вирусийг хүрэлцэх хэмжээгээр бэлтгэх хэрэгтэй.

2.2.3. Нөөц эх вирусийн цийдмэг бэлтгэх

- i) 13×10^7 MNA эсийг эх вирусийн бэлдмэлийн 1×10^7 халдвартай нэгжээр халдварлуулна (дээрхийг үз).
- ii) Эсийн халдварлах чанар 100% хүрснээс хойш 24 цагийн дараа дээд талын шингэнийг хурааж авна (үндсэндээ халдварын дараах 40 цаг).
- iii) Шингэнийг 0.5 мл-ээр тасалж цодонгуудад хийгээд -70°C -д хадгална.

2.2.4. Нөөц эх вирусийн цийдмэгийг титрлэх

- i) Нөөц эх вирус бүхий нэг цодонг авч гэсгээгээд ЕМЕМ-10-д арав дахин дараалсан шингэлэлт (10^{-1} - 10^{-6}) хийнэ.
- ii) Эсийн өсгөврийн найман үүртэй тасалгаат хавтан бүрийн нэг үүрэнд вирусийн шингэлэлт бүрээс 0.1 мл авч тарааж хийнэ. Үүр бүрд ЕМЕМ-10-аар дахин шингэлсэн MNA эсээс (0.2 мл бүрд 1×10^5 эс байх) 0.2 мл нэмнэ.
- iii) Тасалгаат хавтанг хажуугаас нь зөөлөн тогшиж эс болон вирусийг холиод чийгшүүлэгчтэй термостатын 37°C -д 5% CO_2 орчинд 20 цаг инкубацлана.
- iv) Тасалгаат хавтанг ацетоноор бэхжүүлээд иммунфлюоресценцийн аргаар будна

Найман үүртэй эсийн өсгөврийн тасалгаат хавтангийн үүр бүрийг микроскопын $\times 160$ – 200 өсгөлтөөр харахад тусдаа 25–50 харааны талбай, эсхүл $\times 100$ өсгөлтөөр харахад тусдаа 20 харааны талбай багтана. Харж шалгасан микроскопын харааны талбайн 50%-нь халдвартай нэг эсхүл олон голомт (фокус хэлбэржих тун, FFD_{50}) агуулж байгаа тэр шингэлэлтийг ЭСИФТА-д хэрэглэх вирусийн нэг нэгж гэж үзнэ. Нөөц эх вирусийн цийдмэг 0.1 мл тутамдаа наад зах нь 1×10^4 FFD_{50} агуулах ёстой (жишээ нь вирусийн 10^{-4} шингэлэлтэд халдвартай эстэй байгаа үүрэнд микроскопоор харсан талбайн 50%-д наад зах нь халдвар авсан эсийн нэг фокус агуулагдаж байх ёстой). Жишээ нь вирусийн нөөцийн ийм титртэй (0.1 мл тутамд 1×10^4 FFD_{50}) цийдмэгийг 50 FFD_{50} бүхий халдвар хийхэд ашиглах вирус бэлдэхийн тулд $10^{-2.3}$ хүртэл шингэлнэ. Ажлын шингэлэлтийг тооцохын тулд вирусийн тунгийн $\log$ -оос 50 $\log$ (1.7)-г хасна (энэ жишээн дээр $4.0 - 1.7 = 2.3$ болно).

2.2.5. Лавлагааны ийлдэс

ДЭМБ болон ДМАЭМБ-аас хүлээн зөвшөөрсөн лавлагааны стандарт ийлдэс эсхүл эдгээр хүлээн зөвшөөрөгдсөн стандартын идэвхийг нь 2.0 ОУН/мл болгон шингэлээд түүнтэй харьцуулж баталгаажуулж бэлтгэсэн стандартыг шинжилгээ хийх бүрдээ хамт шинжилнэ. Лавлагааны ийлдсийг 1 долоо хоногийн шинжилгээнд хүрэлцэх хэмжээгээр өмнө нь тасалж аваад хөлдөөчихсөн байх хэрэгтэй. Идэвхийг нь 5.0 ОУН/мл болтол шингэлсэн эерэг хяналтын

стандарт ийлдэс, <0.1 ОУН/мл идэвхтэй сөрөг хяналтын стандарт ийлдсийг мөн лабораторид бэлтгээд шинжилгээ хийх бүрдээ ашиглана.

2.2.6. Шинжлэх ийлдэс

Ийлдсийн дээжийг шинжлэхийн өмнө хавсаргыг идэвхгүйжүүлэхийн тулд 56°C-д 30 минут халаана. Хэрэв ийлдэс хөлдүү байсан бол гэсгээсний дараа дахин халаана. Шинжлэх ийлдсийн тав дахин дараалсан шингэлэлтийг эсийн өсгөврийн найман үүртэй тасалгаат слайд дээр шууд эсхүл 96 үүртэй хавтанд хийсний дараа нь тасалгаат слайдын үүрэнд (эцсийн эзлэхүүн 0.1 мл/ийлдсийн шингэлэлт) шилжүүлнэ. Галзуу өвчний вирусийг саармагжуулах эсрэг биеийн шинжилгээг 2 шингэлэлт ашиглан илрүүлэх шинжилгээ маягаар эсхүл 4 шингэлэлт ашиглан төгсгөлийн цэгийн шинжилгээ хэлбэрээр ашиглаж болно. Илрүүлэх шинжилгээнд ашиглах 1/5 ба 1/50 -ын шингэлэлт нь вакцинжуулалтын үр нөлөөг үнэлэх тогтмолжсон шинжилгээнд хангалттай юм. Төгсгөлийн цэгийн шинжилгээнд ерөнхийдөө 1/5, 1/25, 1/125, 1/625 шингэлэлтийг ашигладаг.

Илрүүлэх шинжилгээ хийхэд:

- i) Тасалгаат хавтангийн нэгэнд нь 0.1 мл идэвхгүйжүүлсэн ийлдэс болон 0.15 мл ЕМЕМ-10-ийг хийж 1/2.5 шингэлэлт бэлтгэнэ. Хавтанг зөөлөн тогшиж доторх агуулагдахууныг холино.
- ii) 1/2.5 шингэлэлтээс 0.05 мл авч 0.45 мл ЕМЕМ-10 бүхий хоёр дахь үүрэнд шилжүүлэн хийнэ. 1/2.5 шингэлэлт бүхий үүрэнд 0.1 мл-ийг үлдээгээд бусдыг нь асгана.
- iii) Хоёр дахь үүрнийхийг холиод 0.1 мл-ийг үлдээгээд бусдыг нь асгана.

Титрлэлтийн төгсгөлийн цэгийг тодорхойлоход

- i) тасалгаат хавтангийн нэгэнд нь 0.1 мл идэвхгүйжүүлсэн ийлдэс болон 0.15 мл ЕМЕМ-10-ийг хийж 1/2.5 шингэлэлт бэлтгэнэ. Хавтанг зөөлөн тогшиж доторх агуулагдахууныг холино.
- ii) 1/2.5 шингэлэлтээс 0.05 мл авч 0.2 мл ЕМЕМ-10 бүхий хоёр дахь үүрэнд шилжүүлэн хийнэ. 1/2.5 шингэлэлт бүхий эхний үүрэнд 0.1 мл-ийг үлдээгээд бусдыг нь асгана.
- iii) 1/2.5 шингэлэлтээс 0.05 мл авч 0.2 мл ЕМЕМ-10 бүхий гурав дахь үүрэнд шилжүүлэн хийнэ. 1/2.5 шингэлэлт бүхий хоёр дахь үүрэнд 0.1 мл-ийг үлдээгээд бусдыг нь асгана.
- iv) 1/2.5 шингэлэлтээс 0.05 мл авч 0.2 мл ЕМЕМ-10 бүхий дөрөв дэх үүрэнд шилжүүлэн хийнэ. 1/25 шингэлэлт бүхий гурав дахь үүрэнд 0.1 мл-ийг үлдээгээд бусдыг нь асгана.
- v) 1/125 шингэлэлт бүхий дөрөв дэх үүрний агуулагдахууныг холиод 0.1 мл-ийг үлдээгээд бусдыг нь асгана.

2.2.7. Вирус нэмэх

- i) Халдвар хийх вирусийн бэлдмэлээс (ажлын шингэлэлттэй) 0.1 мл-ийг ийлдэсний бүх шингэлэлт рүү нэмнэ.
- ii) Халдвар хийх ажлын шингэлэлт бүхий вируст 1/10 ба 1/100 урвуу титрлэлт хийгээд слайдын үүр бүрд 0.1 мл-ийг нэмнэ.
- iii) Холиод чийгшүүлэгчтэй термостатын 37°C-д 5% CO₂ орчинд 90 минут инкубацлана.

2.2.8. Эс нэмэх

- i) Инкубацлах хугацаа үргэлжлэх явцад MNA эсийн 3-5 хоногийн насжилттай нөөц өсгөврийг трипсинээр боловсруулна.
- ii) Эсийг ЕМЕМ-10-ээр 0.2 мл тутамд 1×10^5 эс байхаар бодож уусган сэргээнэ.
- iii) Тасалгаат хавтангийн үүр тус бүрд 0.2 мл эсийн цийдмэгийг тараан хийгээд чийгшүүлэгчтэй термостатын 35°C-д 5% CO₂ орчинд 20 минут инкубацлана.

2.2.9. Ацетоноор бэхжүүлж имунофлюоресценц будалт хийх

- i) 20 цагийн дараа тасалгаат хавтанг термостатаас гаргаад тэжээлт орчныг нь вирус устгах уусмал руу юүлнэ.

- ii) Тасалгаат хавтанг нэг удаа ФБУ-аар зайлж хүйтэн (-20°C) ацетоноор тасалгааны хэмд 10 минут бэхжүүлнэ. Жич: хэрэв хуванцар хавтан ашиглаж байгаа бол 80%-ийн хүйтэн ацетон хэрэглэнэ.
- iii) Галзуу-эсрэг ФИТС конъюгаттай эсрэг бие нэмэхээс өмнө хавтанг 10-30 минут хатаана. Конъюгатыг ЕМЕМ-10 эсхүл ФБУ-д бэлтгэж болох ба конъюгатыг эд эсхүл эсэд шингээх шаардлага байхгүй. Конъюгатын ажлын шингэлэлтийг титрлэлтээр тогтооно. Хавтанг 37°C -д 20-60 минут (оновчтой хугацааг конъюгатын шинж чанараас хамааруулан тогтооно) будаад дараа нь ФБУ болон нэрмэл усаар зайлж угаана.
- iv) Хавтанг флюоресценцийн микроскопоор харж шалгана. Вирусээр халдварласан эс дотор нь байгаа харааны талбайг (үүр бүрд 20 гаруй талбай бий) шалгаж бүртгэж авна.

2.2.10. Вирус саармагжуулах эсрэг биеийн титрийг тооцоолох

Саармагжаагүй үлдсэн вирусийг стандарт флюоресценцийн микроскоп ашиглан илрүүлнэ. Тухайн ийлдсийн саармагжуулах эцсийн титр гэж микроскопоор харж шалгасан нийт харааны талбайн 50%-д халдвартай нэг эсхүл олон эс (жишээ нь вирусийн халдвар хийсэн вирусийн 97%-нь буурсан) агуулагдаж байсан тэр ийлдсийн хамгийн өндөр шингэлэлтээр тодорхойлогдоно. Энэ утгыг математикийн жишин тоймлох аргаар гаргана. Өөр нэг хувилбар нь: халдвар хийсэн вирусийг 100% саармагжуулсан ийлдсийн хамгийн их шингэлэлтийг бүртгэн авч 100% саармагжуулагч титрийг тогтоох ба халдвар авсан эс микроскопын аль ч харж шалгасан харааны талбайд байх ёсгүй. Титрлэлтийн энэ хоёр аль ч аргаар шинжилсэн ийлдэсний эсрэг биеийн титрийг (ОУН/мл) тогтоохдоо шинжилгээ хийх бүрд хамт шинжилсэн лавлагааны зөвшөөрөгдсөн стандарт ийлдсийн титртэй харьцуулна. ЭСИФТА шинжилгээнд нейробластомын эс ашиглахын оронд ВНК-21 эс хэрэглэсэн ч адилхан хүчинтэй байна.

Дараах шаардлагыг чанд мөрдөнө:

- i) Галзуугийн вирус: зөвхөн CVS-11 омог ашиглана. Вирус: CVS-11 (өмнө нь АТСС лавлах дугаар VR 959) омгийг АТСС эсхүл Франц улсын Нэнси хотод байрлах ДМАЭМБ-ын галзуу өвчнийг лавлах лабораториос⁶ хүсэлт гарган авна. Цодонтой вирусийг -80°C -д хадгална. Урвуу титрлэлтэд 30–100 FFD50 тунг зааж өгнө.
- ii) Эсийн өсгөвөр: зөвхөн ВНК-21 эс (АТСС дугаар CCL10) эсхүл MNA эс (АТСС дугаар CCL131) хэрэглэнэ.
- iii) Шинжилгээг зөвхөн тохирсон тасалгаат слайд ашиглан гүйцэтгэнэ.
- iv) Галзуугийн вирус, халдварт өртөөгүй нохойн ийлдэс ба эерэг ийлдсэнд зориулан үйл ажиллагааны хяналтын карт хөтөлнө.
- v) Хяналтын хавтан дээр ХСВ-ын вирусийн урвуу титрлэлт, мөн түүнчлэн халдварт өртөөгүй нохойн ийлдэс, эерэг хяналтын ийлдэс, ДМАЭМБ-ын лавлагааны ийлдэс байх ёстой.
- vi) Шинжилгээний үр дүнг унших арга: тасалгаат хавтангийн үүр бүрд микроскопын $\times 160$ – 200 өсгөлтөөр харахад 25-50 харааны талбай, эсхүл $\times 100$ өсгөлтөөр харахад 20 харааны талбай багтана.
- vii) Шинжилсэн ийлдэсний $\log D_{50}$ -ыг ОУН/мл-д хувиргахдаа шингэлж 2.0 ОУН/мл идэвхтэй болгосон, зөвшөөрөгдсөн стандарт ийлдэсний $\log D_{50}$ утгыг ашиглана.

2.3. Энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА)

ЕЛИЗА арга нь галзуу өвчний амьд вирустэй харьцах шаардлага гардаггүй, ийлдэс судлалын шинжилгээний түргэн арга юм. Энэ аргаар галзуу өвчний вирусийн эсрэгтөрөгч, юуны өмнө галзуу өвчний вирусийн гликопротеин, нуклеопротеинтэй өвөрмөцөөр холбогдох эсрэг биеийг илрүүлнэ. Одоо байгаа шууд, шууд бус, өрсөлдөөнт ЕЛИЗА аргын аль нь ч амьтны олон улсын шилжилт хөдөлгөөн, худалдаанд хамаарах шинжилгээнд ашиглах баталгаа үгүй юм (Wasniewski нар, 2014). Гэвч ЕЛИЗА арга нь зэрлэг амьтны галзуу өвчний эсрэг вакцинжуулалтын цогц ажилд хяналт-шинжилгээ хийхэд хэрэв энэ зорилгоор хэрэглэж болохыг нь сайтар баталгаажуулсан бол ач холбогдолтой арга мөн. Үнэг, элбэнхэд хийсэн галзуу өвчний эсрэг вакцинжуулалтын цогц ажлын хяналт-шинжилгээнд хэрэглэхийг зөвлөсөн ЕЛИЗА цомог худалдаанд гарсан байна (Wasniewski нар, 2014).

3. Чанарын үнэлгээ

Лаборатори дундын ур чадварын сорилд жил бүр оролцох нь чанарын удирдлага хэрэгжүүлэх ажлын нэг хэсэг учраас түүнийг дээд зэргээр дэмжих бөгөөд ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториос зохион байгуулдаг ур чадварын

⁶ <https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3>

олон улсын сорилд Үндэсний лавлах лаборатори оролцох, улмаар бүс нутгийн лабораториудад зориулсан ур чадварын сорилыг үндэсний лавлах лаборатори зохион байгуулах шаардлагатай. Шаардагдах боломжийг бүрдүүлэхэд лабораторийн олон улсын итгэмжлэлийн асуудлыг авч үзэх хэрэгтэй (Бүлэг 1.1.5 Чанарын удирдлага ба мал эмнэлгийн шинжилгээний лаборатори хэсгийг үз).

В. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

1. Ерөнхий удиртгал

Галзуу өвчнөөс сэргийлэх, тэмцэх нь тухайн улсын үндэсний үүрэг хариуцлага бөгөөд олон улс оронд вакциныг зөвхөн эрх бүхий төрийн байгууллагын хяналтын дор хэрэглэж байна. Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх удирдамжийг 1.1.8. *Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэлийн зарчим* бүлэгт оруулав. Энд өгүүлсэн болон 1.1.8. дугаар бүлэгт өгч байгаа удирдамж нь ерөнхий шинжтэй бөгөөд үндэсний болон бүс нутгийн шаардлагад нийцүүлэн түүнд нэмэлт хийж болно. Мал эмнэлгийн вакцинд холбогдох албан ёсны зөвшөөрлийг авахад вакцины чанар, аюулгүй байдал, үр нөлөөтэй холбоотойгоор үйлдвэрлэгчдэд тавьдаг шаардлага тухайн улс эсхүл бүс нутагт өөр өөр байна. Боломжтой бол галзуу өвчний вакцин үйлдвэрлэгч өөрийн вакцины чанарын хөндлөнгийн баталгаажуулалт болгон ийм лиценз эсхүл зөвшөөрөл авахыг эрмэлзэх хэрэгтэй. Галзуу өвчний вакцин хөгжүүлэх, үйлдвэрлэх бүх үе шатад амьтанд туршилт хийхээр бол олон улс болон тухайн улсад хүлээн зөвшөөрсөн зохицуулалтыг дагаж мөрдөнө.

Галзуу өвчний идэвхгүйжүүлсэн вакцин үйлдвэрлэхэд галзуу өвчний хоруу чанартай вирус ашиглах хэрэг гарч болзошгүй учир галзуу өвчний вакцин үйлдвэрлэх байгууламжид биоаюулгүйн шаардлага хангасан арга ажиллагаа, дадлыг баримтлан үйл ажиллагаа явуулна. Байгууламж нь 1.1.4 дүгээр бүлэгт болон ДЭМБ-ын (2005) тогтоосон тусгаарлалтын шаардлагыг хангасан байна.

Галзуу өвчний вакциныг тогтоосон хэмжээгээр дархлаа төрүүлэгч бодис агуулсан стандарт найрлагатай бэлдмэл гэж тодорхойлдог. Дархлаа төрүүлэгч бодис нь 1.1.8 дугаар бүлэгт тодорхойлсончлон идэвхгүйжүүлсэн (үхүүлсэн), сулруулсан амьд эсхүл биотехнологийн аргаар гарган авсан аль нэг хэлбэрээр байна.

Тэжээвэр амьтныг самшуу замаар вакцинжуулах албан ёсны зөвшөөрөлтэй вакцин, зэрлэг амьтан, сул тэнүүлэх нохойг дархлаажуулах амаар олгох вакцин хэрэглээнд гарсан байна. Эдгээр вакциныг тэдгээрийн шошгоны зааварт бичээгүй заалтаар хэрэглэх нь элбэг байдаг.

Галзуугийн амаар олгох вакцин (ГАОВ)-ыг галзуу өвчний эх үүсвэр болсон хэд хэдэн зүйлийн зэрлэг амьтны өвчинтэй тэмцэх зорилгоор амжилттай хэрэглэж байна (Ciquet нар, 2012; Freuling нар, 2013). Гэвч нохойгоор хүнд дамждаг галзуу өвчнийг дэлхий дахинаа устгах зорилттой холбоотойгоор галзуу өвчнийг устгахад нохойг голлон анхаарна. Учир нь хүний галзуу өвчний тохиолдлын 99 гаруй хувь нь нохойноос үүдэлтэй байдаг. Улс орнууд өөрийн нутаг дахь галзуу өвчинтэй тэмцэх стратегийн хүрээнд нохойд амаар олгох вакцин болон самшуу замаар олгох вакцин аль алиных нь хэрэгцээг тооцож үзнэ. Нохойг самшуу замаар буюу тарьж вакцинжуулах нь өргөн хүрээтэй вакцинжуулалтын ажлын үндсэн арга хэвээрээ байна. Өргөн хүрээнд тарьж вакцинжуулахаас (зэрэгцүүлэх эсхүл ээлжлэн тарих) гадна нохойн популяцийн бүтэц, вакцин олгох боломжийг харгалзан ялангуяа сул тэнүүлэх золбин болон зэрлэгшсэн нохойд өгөөш хаяж идүүлэх замаар вакцинжуулах нь нохойн галзуу өвчинтэй тэмцэх хөтөлбөрийн хүрээнд вакцинжуулалтын хүртээмжийг нийтэд нь сайжруулах нэмэлт арга хэмжээ болно (WHO, 2013). ГАОВ хэрэглэхдээ түүнийг хаяж өгөх, буцааж олж авах талаар хэвшүүлсэн загвар удирдамжийг ашиглана.

Зэрлэг амьтан (барих-вакцинжуулах-суллаж тавих аргаар ГАОВ хэрэглэх эсхүл үл хэрэглэх) болон нохой (ГАОВ хэрэглэх, эс хэрэглэсэн ч нэг цэгт бөөгнөрүүлж эсхүл айлаас айл дамжин вакцинжуулах) вакцинжуулах аль алины тухайд вакцинжуулалтыг дангаар нь эсхүл хамтруулан хэрэгжүүлэхэд хамгийн оновчтой байх стратегийг вакцин хэрэглэхээр шийдсэн амьтны популяцийн хэмжээг харгалзан тогтооно. Зэрлэг амьтан, нохойн ГАОВ-ын тухайд галзуугийн вирус бүхий амаар хүртээх өгөөш вакцины хувилбаруудаас тэдгээрийн үр нөлөө болон аюулгүй чанарын үзүүлэлтийг үндэслэн сонгоно. Галзуугийн вирус бүхий амаар хүртээх вакцинд хүн өртөх байдалд хяналт-шинжилгээ хийхийн хамт эрсдэлийг удирдана. Тодорхой нөхцөл байдалд бусад мэдрэмтгий жижиг амьтан, малыг вакцинжуулах нь ач холбогдолтой бөгөөд тухайн улсын вакцинжуулалтын аливаа хөтөлбөрийн нэг хэсэг гэж үзнэ.

2. Галзуу өвчний тарьж хэрэглэх вакцин

2.1. Удиртгал

Галзуу өвчний эсрэг вакцин хэрэглэх гол үндэслэл нь мал, амьтныг өвчнөөс сэргийлэх, үүний үр дүнд хүн амыг галзуу өвчнөөс хамгаалахад оршино. Амьтныг тарьж вакцинжуулахад сулруулсан амьд вакцин (жижиг амьтан болон малд) болон рекомбинант вакцин (муурт) хэрэглэж байжээ. Тарьж хэрэглэдэг, сулруулсан амьд вакцинаас үүдэн галзуу өвчин үүсдэг нь баримтаар нотлогдсон (Bellinger нар, 1983; Esh нар, 1982) тул энэ төрлийн тарьдаг вакцин хэрэглэхийг зогсоох хэрэгтэй.

Галзуу өвчний вирусийн глико-уургийг кодлогч галзуу өвчний халдваргүй вирусийн нуклеин хүчлийг авипокс вирус зэрэг векторт суулгах замаар галзуу өвчний вирусийн глико-уургийн биотехнологийн аргаар гарган авсан вектор вакциныг бэлтгэдэг (WHO, 2018). Энэ төрлийн вакцин галзуу өвчний амьд

вирус агуулдаггүй учир ийм вакцин тарьсан амьтныг аль ч улсад нэвтрэхэд нь хориглох ёсгүй (Taylor нар, 1991).

2.2. Уламжлалт вакцины үйлдвэрлэлийн тойм, вакцинд тавих наад захын шаардлага

2.2.1. Эх омгийн шинж чанар

i) Биологийн шинж чанар

Вакцин үйлдвэрлэх боломжтой гэж үзсэн галзуу өвчний вирусийн аливаа омог нь галзуу өвчний вирусийн удам зүйн 1-р бүлгийн аль ч хувилбараас хамгаалж байх ёстой. Үндсэн эх омог (ҮЭО)-ийг тэжээлт орчинд хялбар өсгөвөрлөгдөх байдал, вирусийн гарц, тогтвортой байдал, эсрэгтөрөгчийн хүрээг харгалзан сонгоно (Wu нар, 2011). ҮЭО-ийн эх үүсвэрийн бүртгэлийг хөтөлнө.

Биотехнологийн аргаар гарган авсан вакциныг галзуу өвчний вирусийн глико-уургийг нийлэгжүүлэх вектор, тохирох дамжмал эс ашиглан үйлдвэрлэнэ..

ii) Чанарын шалгуур

Вакцин үйлдвэрлэхэд ашиглах ҮЭО-ийн шинж чанарыг сайтар тогтоож, омог нь цэвэр бөгөөд гаднын аливаа бодис агуулаагүй болохыг Бүлэг 1.1.9 *Мал эмнэлгийн зориулалттай биологийн материалын ариун чанар, бохирдолгүй болохыг шалгах арга* болон эрх бүхий холбогдох байгууллагын гаргасан жагсаалтын дагуу баталгаажуулсан байх ёстой.

Үйлдвэрлэсэн вакцины үр нөлөөг 1.1.8 дугаар бүлэг болон энэ бүлгийн В.2.3.3 дугаар хэсэгт зөвлөсөн ёсоор вакцинжуулах зорилтот амьтны зүйл бүр дээр судалж үнэлнэ.

2.2.2. Үйлдвэрлэх арга

i) Арга ажиллагаа

а) Эсийн өсгөвөрт

Вирусийг цийдмэг эсхүл дан үе дамжмал эсэд халдварлуулна. Ийм эсийн өсгөвөр бохирдуулагч бичил биетэн агуулаагүй болохыг баталгаажуулсан байх хэрэгтэй (1.1.8 дугаар бүлгийг үз).

Өсгөврийг эсийн өсгөвөрт дасгасан ҮЭО-оор халдварлуулаад тохиромжтой температурт тодорхой тогтоосон хугацаагаар инкубацлана. Галзуу өвчний вирус ердийн нөхцөлд эс эмгэгшүүлдэггүй учраас нэг өсгөврөөс хэд хэдэн удаа вирус хураан авч болно. Өсгөвөрлөсөн материалыг боловсруулаад вакцин хийхэд ашиглана. Идэвхгүйжүүлсэн (үхүүлсэн) вакцины тухайд гол төлөв бета-пропиолактон (BPL) эсхүл бинари этиленеимин (BEI) хэлбэрээр байгаа этиленеимин (EI) зэрэг нэгдүгээр зэрэглэлийн идэвхгүйжүүлэгч бодисыг нэмж вирусийг идэвхгүйжүүлнэ. Идэвхгүйжүүлэгч бодистой харьцаж ажиллахдаа аюулгүй ажиллагаанд баримтлах шаардлагыг бүрэн мөрдөх нь чухал. Формалин эсхүл фенолын хүчил зэрэг идэвхгүйжүүлэгч бусад бодисыг хэрэглэхгүй. Идэвхгүйжүүлэгч бодисыг урьдчилан тогтоосон эцсийн төвшрүүлэгт хүргэх хэмжээгээр вирусийн цийдмэгт нэмнэ. Идэвхгүйжүүлэлтийг зохих ёсоор баталгаажуулж баримтжуулна. Идэвхгүйжүүлэх бодисоор боловсруулах хугацаа, идэвхгүйжүүлэхэд шаардагдах температурыг жинхэнэ үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны явцын бодит нөхцөл байдал, хэрэглэх тоног төхөөрөмжид тохируулан баталгаажуулсан байх ёстой.

Галзуу өвчний идэвхгүйжүүлсэн вакцин ихэвчлэн шингэн эсхүл хөлдөөн хатаасан хэлбэртэй байна. Шингэн вакциныг бэлтгэхдээ эсрэгтөрөгчийг жишээ нь хөнгөн цагааны усан ислийн гель зэрэг хүчлүүрт шингээж бэлтгэнэ.

ii) Тэжээлт орчин, субстратад тавих шаардлага

Вакцины эцсийн хольцод үл хөөсрүүлэгч, фенолын улаан будаг (тухайн улс вакцинд хэрэглэхийг зөвшөөрдөг бол), лакто-альбумины гидролизат, триптоз фосфатын шөл, амин хүчил, витамин, буферийн давс орж болно. Хивэгчдэд зориулсан галзуу өвчний вакцинд сапонин эсхүл бусад полисахаридийг хүчлүүрээр хэрэглэж болно. Олон тун вакцин агуулах лонхонд хадгалааслагч нэмж болно. Хөлдөөн хатаасан вакциныг тарихын өмнө тохирох шингэлэгчээр уусган шингэлнэ.

а) Эсэд тавих шаардлага

Галзуу өвчний вируст вакцин үйлдвэрлэхэд хэрэглэх дамжмал эс 1.1.8 дугаар бүлэгт дурдсан шаардлагад нийцсэн байна.

б) Үр тогтсон өндгөнд тавих шаардлага

Тахианы үр хөврөлд түр эсхүл удаан хугацаагаар зорчуулж дасгасан омгоор сулруулсан амьд вакцин үйлдвэрлэхэд өсгөвөрлөлтийн энэ аргыг хэрэглэнэ. В.2.1 дэх хэсэгт тэмдэглэснээр эдгээр вакциныг цаашид хэрэглэхийг зогсоох хэрэгтэй (Тао нар, 2010; Wachendörfer нар, 1982).

iii) Үйлдвэрлэлийн явцад тавих хяналт

Үйлдвэрлэл 1.1.8 дугаар бүлэгт заасны дагуу явагдаж байгааг магадлах шалгалтыг вакцины эцсийн хольцыг бүрдүүлэхээс өмнөх янз бүрийн хугацаанд хийнэ. Вакцины халдварлах чанар, ариун чанар, идэвхгүйжүүлэлтэд хийх шалгалт нь үйлдвэрлэлийн явцад хийх үндсэн хяналт юм. Эцсийн бүтээгдэхүүний найрлагыг хадгалалтын дараа вирусийн үл задрал, эсрэгтөрөгчийн масс, глико-уургийн агууламжийг тогтоох нэмэлт шалгалтыг ашиглан стандартчилж болно.

а) Идэвхгүйжүүлэлтийн шалгалт

Амьд вирусийн үлдцийг шалгах замаар вакцины идэвхгүйжүүлэлтийг магадлан шалгана. Үүний тулд идэвхгүйжүүлсэн вирусээс хураан авч вакцин үйлдвэрлэхэд хэрэглэсэнтэй ижил эсхүл наад зах нь мэдрэх чанараараа ижил эсийн өсгөвөрт тарилт хийнэ. Идэвхгүйжүүлж, хурааж авсан вирусийн тоо нь нь вакцины 25-аас доошгүй тунгийнхтай тэнцүү байна. Дөрөв хоног инкубациласны дараа трипсинээр боловсруулсан эс ашиглан сэлгээ өсгөвөр хийж түүнийг дахин 4 хоног өсгөвөрлөсний дараа өсгөвөрт галзуу өвчний амьд вирусийн үлдэц байгаа эсэхийг иммунфлюоресценцийн аргаар шалгана. Амьд вирус илрэхгүй бол идэвхгүйжүүлсэн вирусийн дээж шаардлага хангана (Европын фармакопей, 2021).

iv) Эцсийн бүтээгдэхүүний багц/цувралын шалгалт

Бүх орцыг нийлүүлсэн эцсийн хольц нь вакцины жинхэнэ найрлагыг тодорхойлно. Эцсийн хольцыг цодонд савлах нь тухайн багц/цувралыг үйлдвэрлэх үйл ажиллагааны сүүлийн үе шат юм. Энэхүү эцсийн багц/цувралыг дор дурдсан аргаар шалгана.

а) Ариун чанар

Мал эмнэлгийн зориулалттай биологийн материалын ариун чанар, бохирдолгүйг шалгах аргыг 1.1.9 дүгээр бүлгээс харж болно.

б) Аюулгүй чанар

Вакцины цуврал бүрийг хэрэглээнд гаргахад түүний аюулгүй чанарыг зорилтот амьтанд шалгахыг эрх бүхий байгууллагууд тэр бүр шаарддаггүй. Safety tests in target animals are not required by many regulatory authorities for the release of each batch. Хэрэв шаардлагатай бол албан ёсны холбогдох зөвшөөрөл авахад шаарддаг аюулгүй чанарын шалгалтынхаас цөөн амьтан ашиглах ерөнхий стандарт ажиллагааг хэрэгжүүлнэ.

Бүртгүүлэх 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 багц/цувралд аюулгүй чанарын шалгалт хийнэ. Багц/цувралыг хэрэглээнд гаргах зорилгоор хийхдээ наад зах нь эрүүл, ийлдсийн сөрөг урвалтай, вакцин хэрэглэхээр заасан зүйлийн хоёр амьтанд вакцины хамгийн бага тунг давхарлан үйлдвэрлэгчийн зөвлөсөн замаар олгоно. Амьтанд 14-өөс доошгүй хоног ажиглалт хийнэ. Туршилтын амьтан ямар нэг гаж урвал үзүүлээгүй эсхүл вакцинтай холбоотой шалтгаанаар үхээгүй бол тухайн вакцин шалгалтад тэнцэнэ (Европын фармакопей, 2021).

в) Амьд вирусийн үлдэц

Савлагааны таван нэгжийн агуулагдахууныг нийлүүлээд шалгалт хийнэ.

Хүчлүүр агуулаагүй вакцин шалгах бол вакцин үйлдвэрлэхэд хэрэглэсэнтэй ижил эсхүл наад зах нь мэдрэх чанараараа ижил эсийн өсгөвөр ашиглан амьд вирусийн үлдцийг олшруулах тохиромжтой арга хэрэглэнэ. Хэрэв амьд вирус илрэхгүй бол вакцин шалгалтад тэнцэнэ.

Хүчлүүртэй вакцины тухайд заасан тунгаас наад зах нь тав дахин бага тунг нийлүүлээд түүнээс 0.03 мл-ийг авч арваас цөөнгүй, тус бүр 11-15 г жинтэй хулгана тус бүрийн тархи дотор тарина. Бичил биетний аливаа бэхжүүлэгч эсхүл хүчлүүрийн нөлөө оруулахгүйн тулд тарихын өмнө вакциныг 10-аас дээш дахин шингэлнэ. Энэ тохиолдолд болон хэрэв вакцины омог хөхүүл гөлчгийг эмгэг төрүүлэхээр бол үлдцийн шалгалтыг 3-4 хоногийн настай хулганад хийнэ. Амьтанд 21 хоног ажиглалт хийнэ. Хэрэв эхний 48 цагийн хугацаанд хоёроос олон амьтан үхвэл шалгалтыг давтан хийнэ. Тарилт хийснээс хойш 3-21 хоногт амьтан галзуу өвчний шинж тэмдэг үзүүлээгүй, амьтны тархинд хийсэн имунофлюоресценцийн шинжилгээгээр галзуу өвчний вирус байгааг харуулах илрэл байхгүй тохиолдолд вакцин шалгалтад тэнцэнэ.

г) Багц/цувралын идэвх

Сулруулсан амьд болон биотехнологийн аргаар гарган авсан вакцины тухайд зорилтот амьтанд вакцины үүсгэсэн хамгаалалтын түвшин болон өөрчилсөн амьд вакцины титр хоорондын харилцан хамаарал тогтоогдсон тохиолдолд вирус титрлэх арга нь вакцины идэвхийг найдвартай илэрхийлнэ. Эсийн өсгөврийн арга ашиглан вирус титрлэлтийг хийнэ. Энэ нь лабораториудад 3Rs зарчмаар ажиллах боломж олгоно (European Commission, 2010).

Вакцины идэвхийг хулганад ийлдэс судлалын аргаар (Krämer нар, 2010) эсхүл халдвар хийх аргаар (Европын фармакопей, 2021; ДЭМБ, 2018) шалгана. Идэвхгүйжүүлсэн вируст вакцинд зориулсан *in-vitro* нөхцөлд үүсгэгч ялган таних шалгалтын талаар мэдээлэл бий (Stokes нар, 2012).

Вакцины өмнөх багц/цувралын идэвхийг В.2.2.2.iv.г.1 хэсэгт заасан ийлдэс судлалын арга, В.2.2.2.iv.г.2 хэсэгт заасан зориуд халдвар хийх аргын аль нэгээр шалгахад дархлаа төрүүлэх идэвхийн наад захын шаардлага хангаж байсныг нотлон харуулсан тохиолдолд үйлдвэрлэсэн вакцины багц/цуврал тус бүрд эдгээр хэсэгт заасан аргаар идэвхийн шалгалт хийх шаардлагагүй. Ийм нөхцөлд багц/цувралын идэвхийг баталгаатай өөр арга ашиглан тогтоож болох ба дархлаа төрүүлэх идэвхийн хүлээн зөвшөөрч болох шалгуураар дор дурдсан ийлдэс судлалын арга эсхүл зориуд халдвар хийх аргын аль нэгээр хангалттай дүн үзүүлсэн вакцины багц/цувралыг лавлагаа болгон авна.

1) Ийлдэс судлалын арга

Ийлдэс судлалын аргаар хулганын ийлдсэнд галзуу өвчний вирусийн саармагжуулах эсрэг биеийн хэмжээг тодорхойлон идэвхгүйжүүлсэн вакциныг лавлагааны стандарт вакцинтай харьцуулна. Лавлагаа стандарт вакцинаас илүү эсрэг бие үүсгэж байвал вакцин шалгалтад тэнцэнэ. Шалгалтыг дараах байдлаар хийнэ:

Тус бүр 18-20 г жинтэй наймаас арван хулгана ашиглана. Вакциныг зөвлөсөн тунгийн эзлэхүүний 1/5 хэмжээгээр хулгана бүрийн арьсан дор, булчинд эсхүл хэвлийн хөндийд тарина. Тарьсны дараах 14 хоногт цусны сорьц авч ийлдсэн дэх галзуу өвчний эсрэг биеийг нэг бүрчлэн тодорхойлно (В.2 хэсэг болон Европын фармакопей 2021 үз).

Шалгалтын вакцинаар дархлаажуулсан хулганын галзуугийн эсрэг биеийн титр В.2.2.2.iv.г.2 хэсэгт тодорхойлсон *Халдвар хийх аргаар* шалгахад хангалттай дүн үзүүлсэн лавлагаа вакциныхаас илэрхий өндөр байвал вакцин шаардлага хангана.

2) Халдвар хийх арга

Шалгах гэж байгаа вакцинаар хулганад үүсгэсэн дархлааны хамгаалалтыг зориудын халдвар хийж шалган лавлагаа вакцинаар үүсгэсэн хамгаалалттай харьцуулан тогтооно. Шалгасан вакцины хамгаалалт лавлагаа вакциныхаас илүү байвал тэнцэнэ.

Европын фармакопейн дагуу шалгах гэж байгаа вакцин болон лавлагаа вакциныг шалгах доор дурдсан шалгалтын арга нь 3-аас доошгүй цэгээр дүрслэх зэрэгцээ шугаман загварыг ашигладаг.

i) Идэвхийг шалгалт хийх амьтныг сонгох, хуваарилах

Шалгалтад 4 орчим долоо хоногийн настай, боломжтой бол 18-20 г жинтэй, нэг бүлийн эрүүл, эм хулгана ашиглана. Хулганыг тус бүр арваас илүү хулгана бүхий арваас доошгүй бүлэгт хуваарилна.

ii) Халдвар хийх цийдмэг бэлтгэх

Нэг бүлэг хулганын тархинд галзуу өвчний ХСВ-ийн омгоор халдвар хийнэ. Галзуу өвчний шинж тэмдэг үзүүлсэн хулганыг алж тархийг нь аваад тохирох шингэлэгчид хийж жижиглэн нэгэн жигд шингэн болгоно. Хурилдуурдах замаар том харагдах биетийг ялгаад дээд шингэн хэсгийг халдвар хийх цийдмэг болгоно. Цийдмэгийг жижиг эзлэхүүнтэй туншилд хувааж хийгээд битүүмжлэн – 80°C-д хадгална. Нэг туншил цийдмэг авч гэсгээгээд тохирох уусгагчаар дараалан шингэлэлт хийнэ.

Шингэлэлт тус бүрийг нэг бүлэг хулганад хуваарилж хулгана бүрийг мэдээгүйжүүлэн тухайн бүлэгт хуваарилсан шингэлэлт бүхий цийдмэгээс 0.03 мл-ийг тархинд нь тарьж халдварлуулна. Амьтанд наад зах нь 14 хоног өдөр бүр ажиглалт хийж бүлэг бүрд 5-14 дэх хоногийн хугацаанд галзуу өвчний шинж тэмдэг үзүүлсэн хулганын тоог тэмдэглэнэ. Шингэлээгүй цийдмэгийг хулганын тархинд тарьж түүний үхүүлэх дундаж тунг ($MICLD_{50}$) тооцоолно.

iii) Шалгах вакцины идэвхийг тодорхойлох

Шалгалтад зориулж вакцины наад зах нь гурав дараалсан шингэлэлтийг, лавлагаа бэлдмэлийн ижилхэн гурван шингэлэлтийн хамт бэлтгэнэ. Шингэлэлтийг бэлтгэхдээ вакцин их хэмжээгээр агуулж байгаа шингэлэлт нь түүнийг тарьсан амьтны 50-иас илүү хувийг хамгаална гэж, харин вакцин бага хэмжээгээр агуулж байгаа шингэлэлт нь түүнийг тарьсан амьтны 50 хүрэхгүй хувийг хамгаална гэсэн таамаглалаар хийнэ.

Шингэлэлт тус бүрийг янз бүрийн бүлэг хулганад хуваарилж хулгана бүрийн хэвлийн хөндийд тухайн бүлэгт хуваарилсан шингэлэлт бүхий цийдмэгээс 0.5 мл-ийг тарина. Халдвар хийх вирусийн цийдмэгийг тарилга хийснээс хойш 14 хоногийн дараа бэлтгэх ба титрлэлтийг үндэслэн цийдмэг нь 0.03 мл бүрдээ 50 орчим ID_{50} агуулж байхаар урьдчилан тооцно. Энэ цийдмэгээс 0.03 мл-ийг вакцин тарьсан хулгана бүрийн тархинд тарина.

Халдвар хийх цийдмэгээс дараалсан гурван тохиромжтой шингэлэлт бэлтгэнэ. Халдвар хийх цийдмэг, гурван шингэлэлтийг вакцин тариагүй арван хулгана бүхий дөрвөн бүлэгт нэг нэгээр нь хуваарилна. Хулгана тус бүрийг мэдээгүйжүүлээд тухайн бүлэгт хуваарилсан цийдмэгийн шингэлтээс 0.03 мл-ийг тархинд нь тарина (Stokes нар, 2012). Бүлэг тус бүрийн амьтанд наад зах нь 14 хоног өдөр бүр ажиглалт хийнэ. Халдвар хийснээс хойш эхний 4 хоногт аль ч бүлгээс хоёроос илүү хулгана үхвэл туршилтыг хүчингүйд тооцно. Бүлэг тус бүрд халдвар хийснээс хойш 5-14 дэх хоногийн хооронд галзуу өвчний шинж тэмдэг илэрвэл тэмдэглэж бүртгэнэ.

Доорх шалгуурыг хангаагүй тохиолдолд шалгалтыг хүчингүйд тооцно:

- а) Шалгаж байгаа вакцин болон лавлагаа бэлдмэл хоёуланд 50%-ийн хамгаалах тун нь хулганад тарьсан хамгийн бага болон хамгийн их тунгийн хооронд байна;
- б) Халдвар хийсэн цийдмэгийг титрлэхэд 0.03 мл цийдмэг наад зах нь 10 ID_{50} агуулна;
- в) Үнэмшлийн хязгаар ($p = 0.95$) нь тооцоолсон идэвхийн 25%-иас багагүй, 400%-иас ихгүй байна; хүчинтэйд тооцох энэ шалгуурыг хангаагүй тохиолдолд тооцоолсон идэвхийн доод хязгаар нь тогтоосон хамгийн бага тунд наад зах нь 1 ОУН байх ёстой;
- г) Статистикийн дүн шинжилгээгээр мэдэгдэхүйц налалт ($p = 0.95$) үүсэх бөгөөд тун-хариу урвалын хамаарлын шулууны шугаман эсхүл зэрэгцээ байдлаас мэдэгдэхүйц хэлбэлзэлгүй байна ($p = 0.99$).

Тогтоосон хамгийн бага тунд тооцоолсон идэвх 1 ОУН-ээс их байвал тухайн вакцин ДМАЭМБ-ын шаардлагыг хангана.

iv) Амьтантай энэрэнгүй харьцах

Лаборатори дээрх аргыг тогтмол хэрэглэж эхэлсэн бол амьтныг үхэлд хүргэх мөчийг тогтоох аргыг эмнэл зүйн шинж тэмдгийн илэрцийг ажиглах замаар орлуулан амьтанд учрах зовуурийг багасгах үүднээс амьтныг үхэлд хүргэх мөчийг амьтан үхэхээс өмнө тогтооно. Дараах онооны бүдүүвчийг жишээ болгон оруулав.

Тархинд хийсэн халдварын дараа хулганад галзуу өвчний халдварын эмгэг жамыг түүний илрэх эмнэл зүйн хэвшмэл шинж тэмдгээр таван үе шат болгон харуулав:

Оноо 1: үс нь арзайх, биеэ хураах;

Оноо 2: хөдөлгөөн нь удаашрах, орчноо мэдрэхгүй болох (эргэлдэх хөдөлгөөн ажиглагдаж болно);

Оноо 3: гуйвах, чичрэх, татганах;

Оноо 4: саажих эсхүл саа тусах;

Оноо 5: үхлүүт байдалтай болох.

Халдвар хийснээс хойш 4 хоногоос эхлэн хулганад өдөрт хоёроос доошгүй удаа ажиглалт хийнэ. Ажиглалт хийх бүрдээ эмнэл зүйн шинж тэмдгийг тэмдэглэнэ. Туршлагаас үзэхэд 3-р оноог төгсгөлийн цэг болгон ашиглах нь амьтныг үхүүлэх эцсийн тун ашиглах үед илэрсэнтэй дүйцэхүйц үр дүн гэж үзэж болно. Үүнийг лаборатори бүр эмнэл зүйн шинж тэмдэг болон үхүүлэх эцсийн тун аль алиныг ашиглан шаардлага хангах тооны туршилт хийж баталгаажуулна.

АНУ-ын Холбооны дүрэм, журмын эмхэтгэлд (9CFR) тодорхойлсон Эрүүл мэндийн үндэсний хүрээлэнгийн боловсруулсан идэвх шалгах арга нь вакцины хоёр дахь тарилтыг эхний тарилтаас хойш нэг долоо хоногийн дараа хийдгээс бусдаар Европын аргатай адилхан юм. Үр дүнг унших, тооцох арга нь ижилхэн (Европын фармакопей, 2021; 9CFR, 2010).

2.3. Эрх бүхий холбогдох байгууллагаас зөвшөөрөл авахад тавих шаардлага

2.3.1. Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаа

Вакциныг бүртгүүлэхийн тулд үйлдвэрлэх, түүний чанарыг шалгах (B.2.2.1 ба B.2.2.2 хэсгийг үзэх) шинжилгээнд холбогдох бүх дэлгэрэнгүй мэдээллийг эрх бүхий байгууллагад илгээнэ. Энэхүү мэдээллийг үйлдвэрлэлийн ердийн багц/цувралын 1/3-аас багагүй хэмжээтэй вакцины дараалсан гурван багц/цувралд шалгаж бэлтгэнэ.

2.3.2. Аюулгүй чанарын шаардлага

Галзуу өвчний тарилга хэлбэрийн идэвхгүйжүүлсэн вакциныг бүртгүүлэхэд шаардагдах аюулгүй чанарын шалгалт нь B.2.2.2.iv.g.1 хэсэгт тодорхойлсонтой ижил бөгөөд доор дурдсан *“Мал эмнэлгийн эмийн бүртгэлд тавигдах техникийн шаардлагыг уялдуулах олон улсын хамтын ажиллагааны нийгэмлэгийн зааварчилгаа 44 (VICH Guideline 44), 2.1.2 дугаар хэсэгт* заасны дагуу гүйцэтгэнэ.

Амьдралын хугацаанд нь нэг удаа олгох вакцины тун эсхүл зөвхөн эхний вакцинжуулалт шаардлагатай вакцины хувьд эхний вакцинжуулалтын горимыг мөрдөнө. Зөвхөн нэг тун олгодог вакцин эсхүл сэргээх тун хэрэглэсний дараа тодорхой хугацаанд хэд хэдэн удаа хийх вакцины хувьд эхний вакцинжуулалтын горим ба нэмэлт тунг хэрэглэнэ. Хялбаршуулах үүднээс вакцин олгох хоорондын заагийг наад зах нь 14 хоног болгож богиносгож болно. Нэг удаагийн эсхүл давтах тунгийн шалгалтын үнэлгээг туршилтын эсхүл үйлдвэрлэлийн хамгийн өндөр идэвхтэй цувралын үзүүлэлт ашиглан хийх эсхүл хамгийн өндөр идэвхийн үзүүлэлтийг заагаагүй тохиолдолд хамгийн бага идэвхийн үзүүлэлтийг үндэслэлтэйгээр үржүүлэн тооцох арга хэрэглэнэ.

Өөр үндэслэл байхгүй бол ерөнхийдөө нэг бүлэгт найман амьтан ашиглана. Вакцин хэрэглэх амьтны зүйл тус бүрээс шошго дээр заасан хамгийн мэдрэмтгий, анги, нас, хүйсийн амьтныг ашиглана. Ийлдсийн сөрөг урвалтай амьтан ашиглана. Ийлдсийн сөрөг урвалтай амьтан олдох боломжгүй тохиолдолд өөр хувилбар хэрэглэнэ.

Тухайн вакциныг олон зам, аргаар олгох заалттай бол бүх замаар олгож туршина. Хэрэв вакцин олгох аль нэг зам нь бусад замтай харьцуулахад илүү ноцтой нөлөө үзүүлсэн бол зөвхөн тэр замыг судалгаанд сонгон дангаар нь ашиглана. Ялангуяа муурт тарилга хийх хэсэг газарт онцгой анхаарал хандуулна. Тарих газарт баримтлах зөвлөмжийг дагана.

Биотехнологийн гаралтай тарилга хэлбэрийн вакцин галзуу өвчний хордуу чанартай вирус ялгаруулахгүй боловч аюулгүй чанартай холбогдох бусад асуудал гарч болно (Roess нар, 2012). Энэ хэлбэрийн вакцины аюулгүй чанартай тавих тусгай шаардлагыг биотехнологийн гаралтай вакцины тухай 1.1.8 дугаар бүлэгт тодорхойлов.

Өөрчилсөн амьд вакцины хордуу чанар эргэж сэргэх чанарын шалгалтыг 1.1.8 дугаар бүлэгт заасны дагуу хийнэ.

i) Сэрэмжлүүлэг

Хүчлүүртэй вакцин, сулруулсан амьд вакцин, биотехнологийн гаралтай вакцинаар хүн өөрийгөө санамсаргүй тарьсан тохиолдолд эмнэлгийн тусламж авах талаар үйлдвэрлэгч анхааруулга өгсөн байх хэрэгтэй.

2.3.3. Үр нөлөөний шаардлага

Өвсөн тэжээлтэн амьтанд вакцины үр нөлөөг ийлдэс судлалын аргаар нотлон харуулах нь наад захын шаардлага юм (Европын фармакопей, 2021). Бусад зүйлийн амьтанд галзуу өвчний тохирох вирусээр халдвар хийж вакцины үр нөлөөг нотлон харуулна. Шалгалтад ашиглах амьтан нэгэн жигд, ийлдэс саармагжуулах урвалаар шинжлэхэд галзуугийн саармагжуулах эсрэг бие агуулаагүй байх ёстой (энэ бүлгийн В хэсгийг үз).

Халдвар хийх аргаар шалгалт хийхдээ халдварлуулах тун тогтоох судалгаа хийж вакцинжуулаагүй хяналтын амьтны 80-аас доошгүй хувьд галзуу өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдэг үүсгэхэд хангалттай тун, олгох замыг тогтооно. Галзуу өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлсний дараа аль болохоор удаалгүй тухайн амьтныг үхүүлж энэ бүлгийн В хэсэгт заасан оношилгооны арга хэрэглэн галзуу өвчин мөн болохыг баталгаажуулна.

Нохой гэх мэт вакцинжуулсан амьтанд вакцины үр нөлөөг шалгахдаа вакцин олгосон 25 эсхүл түүнээс олон амьтан ашиглана. Үр нөлөөний туршилтад ашиглах вакцин нь ердийн төлөвлөгөөт үйлдвэрлэлд хэрэглэдэг хамгийн энгийн найрлагатай вакцин байна. Арав эсхүл түүнээс олон амьтныг хяналтад нэмж авна. Вакцинжуулсан амьтанд дархлаа үргэлжлэх тогтоосон хугацааны төгсгөлд хяналтын амьтны хамт дээр дурдсаны дагуу урьдчилан тогтоосон тунгаар халдвар хийнэ. Амьтанд халдвар хийснээс хойш 90-ээс доошгүй хоног өдөр бүр ажиглалт хийнэ. Галзуу өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдэг ажиглагдсанаас хойш удаалгүй амьтныг энэрэнгүй аргаар үхүүлж оношилгооны шаардагдах аргаар галзуу өвчин мөн эсэхийг баталгаажуулна. Ажиглалтын төгсгөл үед амьд үлдсэн бүх амьтныг энэрэнгүй аргаар унтуулж тэдний тархийг авч энэ бүлгийн В хэсэгт заасан вирус ялган таних аргаар шинжилнэ.

Халдвар хийх шалгалтын дүнг хүлээн зөвшөөрөхөд тавих шаардлага нь: вакцинжуулсан 25 амьтны 22-оос, 30 амьтны 26-аас доошгүй эсхүл статистикийн хувьд ижил тооны амьтан 90 хоногийн хугацаанд галзуу өвчнөөр өвчлөлгүй үлдэж байхад хяналтын амьтны 80-аас доошгүй хувь нь галзуу өвчний улмаас үхэх ёстой.

2.3.4. Тогтвортой байдал

1.1.8 дугаар бүлэгт заасны дагуу шалгана.

2.3.5. Дархлааны үргэлжлэх хугацаа

Зориудын халдвар хийх эсхүл ийлдэс судлалын гэх мэт баталгаажсан өөр бусад шинжилгээгээр тухайн вакцины үүсгэсэн дархлааны үргэлжлэх хугацааг вакцины хамгаалалтын тогтоосон хугацааны төгсгөл үеэр нотлон харуулахыг вакцинд зөвшөөрөл олгох ажлын нэг хэсэг болгон үйлдвэрлэгчээс шаардана.

3. Галзуу өвчний амаар олгох вакцин

3.1. Оршил

Амаар олгох вакцинжуулалтад хэрэглэж байгаа одоогийн вакцинд өөрчилсөн амьд вакцин (ӨАВ), биотехнологийн гаралтай вакцин (БГВ) аль аль нь хамрагдана. Хэдийгээр гаднын ген экспреслэдэггүй ч урвуу генетик ашиглан бүтээсэн галзуу өвчний эсрэг амаар олгох вакциныг эмийн бодлого зохицуулалтын үүднээс биотехнологийн гаралтай вакцинтай адилтган авч үздэг. Зэрлэг амьтанд зориулсан галзуу өвчний эсрэг олон янзын вакцин байдаг боловч (Müller & Freuling, 2020) эдгээр нь нохойгоор дамжин үүсгэгддэг галзуу өвчинтэй тэмцэхэд хамгийн бага хэрэглэгдэж байгаа арга болов уу (Cliquet нар, 2018; Wallace нар, 2020).

Амаар олгох вакцин хэрэглэхийн хамгийн чухал чанар нь түүнийг зөвхөн олгох амьтандаа төдийгүй байгаль орчин, бусад амьтан, тэр дундаа вакцинтай харьцаж болох хүнд аюулгүй байх чанар юм (1.1.8 дугаар бүлгийг үз). Өөрчилсөн амьд зарим вакциныг хэрэглэсэн болон хэрэглээгүй ч гэсэн зарим зүйлийн амьтан вакцинаас үүдэлтэйгээр галзуу өвчнөөр өвчилсөн нь баримтаар тогтоогдсон байна (Fehlner-Gardiner нар, 2008, Müller нар, 2009, Hostnik нар, 2014, Pfaff нар, 2018).

Амаар олгох вакцин нь түүнийг олгох амьтны зүйлд төдийгүй өгөөш хэлбэртэй болгосон вакцинд хүрэх эсхүл вакцин олгоод удаагүй байгаа амьтанд ойртож хүрч болзошгүй, вакцин хэрэглэх заалтгүй бусад амьтны зүйл (ялангуяа хүн) аль алинд нь аюулгүй, үр нөлөөтэй байх баталгаа хангах шаардлага ямар байхыг тогтоогоод байна (Европын фармакофей, 2020; ДЭМБ 2007; 2013).

Доор тодорхойлсон галзуу өвчний амаар олгох вируст вакцинд тавих шаардлагын зэрэгцээ, зэрлэг амьтан, нохойн ГАОВ-ны өгөөш хэлбэр, түүнийг түгээх системийг зохистой болгох нь маш чухал байгаа бөгөөд тухайн орон нутгийн нөхцөл байдалд зохицуулах шаардлага ч гарна. Өгөөш болон өгөөш тараах системд томоохон өөрчлөлт гарах бүрд түүний үр нөлөөг дахин үнэлэх шаардлагатай.

3.2. Үйлдвэрлэлийн тойм ба вакцинд тавигдах наад захын шаардлага

1.1.8 дугаар бүлэгт заасан шаардлагаас гадна доор дурдсан тусгай шаардлагыг хангасан байна.

3.2.1. Эх омгийн шинж чанар

Эх материал нь дээд зэргээр сулруулсан ӨАВ эсхүл БГВ-ны дархлаа төрүүлэх нэг генотипийн омгийн цэвэршүүлсэн бэлдмэл юм. Үндсэн эх омог (ҮЭО)-ийн түүхэн баримтыг бүрдүүлж омгийн дархлаа төрүүлэх болон аюулгүй шинж чанар, үлдэц хоруу чанар агуулдаггүйг болон ҮЭО-т байх генетикийн маркерийг сайтар судалж тогтооно. ҮЭО-ийн геномын бүрэн дарааллыг эрх бүхий холбогдох байгууллагад илгээж цаашид ҮЭО мөн эсэхийг ялган тогтоох болон генетикийн тогтворшлыг шалган баталгаажуулж байхад зориулан нийтийн мэдээллийн санд хадгална. Ген бусад вируст бодитойгоор шилжих, ген солилцох эрсдэл онолын хувьд байдаг учраас биотехнологийн аргаар гаргасан ҮЭО-ийн рекомбинацийн талаар нэмэлт мэдээлэлд ач холбогдол өгнө.

3.2.2. Үйлдвэрлэх арга

i) Арга ажиллагаа

ҮЭО-ийг дамжмал эсийн цийдмэг эсхүл дан үед халдварлуулна. Эдгээр эсийн өсгөвөр хавдар үүсгэдэггүй, бохирдуулагч бичил биетэн агуулаагүй байх шаардлагатай.

ii) Үйлдвэрлэлийн явцын хяналт

Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны явцад үйлдвэрлэл зохих ёсоор явагдаж байгааг баталгаажуулах боломж олгодог шалгалтуудыг вакцины эцсийн хольцыг бүрдүүлэхээс өмнөх янз бүрийн хугацаанд хийнэ. Вакцинаас халдвар үүсэж болох чанар, вакцины ариун чанарын шалгалт нь үйлдвэрлэлийн явцад хийх үндсэн хяналт юм.

iii) Эцсийн бүтээгдэхүүний багц/цувралын шалгалт

Бүх бүрэлдэхүүн хэсгийг нийлүүлсний дараа энэ нь хөлдөөн хатаах эсхүл шингэн хэлбэрийн вакцины жинхэнэ найрлага болох эцсийн хольц бүрдэнэ. 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 дор дурдсан аргаар шалгана.

а) Ариун чанар

Өгөөшийг хэлбэржүүлэхийн өмнө эсхүл хэлбэржүүлсний дараа шалгалт хийнэ. 1.1.9 дүгээр бүлэгт мал эмнэлгийн зориулалттай биологийн материалын ариун чанар, бохирдолгүйг шалгах аргыг тусгасан болно.

б) Ялган таних

БГВ-ны тухайд дархлаа төрүүлэгч байгаа эсэхийг таних шалгалтад галзуу өвчний дан G глико-уурагт өвөрмөц эсрэг ийлдэс ашиглах ба ӨАВ-ын тухайд генетик маркер байгаа эсэхийг нотлох шалгалт хийнэ.

в) Багц/цувралын цэвэршилт

ӨАВ-ы тухайд 10-т нэг, 1000-д нэгээр шингэлсэн вакциныг мэдрэмтгий эсийн өсгөвөрт халдаана. Шингэлэлтийг 37°C-д инкубацлана. 2, 4, 6 хоногийн дараа эсийг

ижил гарлын эсрэг биеийн цомгоор будна. Цомгийн эсрэг бие вакцины омогтой урвалд орохгүй ба харин галзуугийн бусад вирустэй (жишээ нь хээрийн омог, Пастерийн омог) урвалд орно. Үүнээс гадна генетик шинж чанарыг ашиглана. Галзуу өвчний вирусээр бохирдсон нотолгоо гараагүй бол вакцин шалгалтад тэнцэнэ (Европын фармакопей, 2021).

г) Аюулгүй чанар

Вакцины багц эсхүл цуврал бүрийг хэрэглээнд гаргахад түүний аюулгүй чанарыг амьтанд шалгахыг эрх бүхий тийм ч олон байгууллага шаарддаггүй. Хэрэв шаардвал албан ёсны холбогдох зөвшөөрөл авахад шаарддаг аюулгүй чанарын шалгалтынхаас цөөн амьтан ашиглах ерөнхий стандарт арга ажиллагаа хэрэгжүүлнэ.

Бүртгүүлэх өргөдөл, дагалдах баримт бичигт бүтээгдэхүүний аюулгүй чанар тогтвортой хэвээр болохыг нотлон харуулаагүй, баталгаажуулаагүй, үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаа нь 1.1.8 дугаар бүлэгт заасан стандарт шаардлагад нийцэж байгааг баталгаажуулаагүй бол цуврал бүтээгдэхүүний аюулгүй чанарын шалгалтыг дараах байдлаар явуулна. Эрүүл, ийлдсийн шинжилгээгээр сөрөг урвалтай, вакцин хэрэглэж болох зүйлийн хоёр амьтанд вакцины ердийн тунг 10 дахин авч амаар олгоно. Үүнээс гадна найман хулганад 0.5 мл вакциныг хэвлийн хөндий эсхүл арьсан дор тарина. Бүх амьтанд 14-өөс доошгүй хоног ажиглалт хийнэ. Ажиглалтын хугацаанд вакцинаас үүдэлтэй үл хүлцэх сөрөг хариу урвал аль нэг амьтанд илэрвэл тухайн багц/цуврал вакцин шаардлага хангахгүй гэж үзнэ

д) Багц/цувралын идэвх

Сулруулсан амьд болон биотехнологийн аргаар бэлтгэсэн вакцины тухайд вакцин тарьсан амьтанд үүссэн хамгаалалтын түвшин болон вакцины титрийн хоорондын хамаарал нэгэнт тогтоогдсон тохиолдолд вирус титрлэлт нь вакцины идэвхийг харуулах найдвартай илтгүүр болно. Вакцины титрлэлтийг эсийн өсгөвөр ашиглан хийнэ. Энэ нь лабораториудад 3Rs зарчмаар ажиллах боломж олгоно (European Commission, 2010).

3.3. Эрх бүхий холбогдох байгууллагын зөвшөөрөл авахад тавих шаардлага

3.3.1. Үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагаа

Вакциныг бүртгүүлэхийн тулд вакцин үйлдвэрлэх, түүний чанарыг шалгах шинжилгээнд холбогдох бүх дэлгэрэнгүй мэдээллийг эрх бүхий байгууллагад илгээнэ. Энэхүү мэдээллийг үйлдвэрлэлийн ердийн багц/цувралын 1/3-аас багагүй хэмжээтэй вакцины дараалсан гурван багц/цувралыг шалгасны үндсэн дээр бэлтгэнэ.

Үйлдвэрлэлийн явцын хяналт нь үйлдвэрлэлийн үйл ажиллагааны нэг хэсэг болно.

3.3.2. Аюулгүй чанарын шаардлага

Уг бүтээгдэхүүнийг хэрэглэхээр заасан амьтны зүйл бүрд аюулгүй чанарыг 1.1.8 дугаар бүлгийн дагуу шалгана. Энэ ангиллын бүтээгдэхүүний хувьд аюулгүй чанарын шалгалтыг зөвхөн тун хэтрүүлэх үеийн болон хоруу чанар нь сэргэсэн эсэхэд чиглүүлэн хийх шаардлагатай.

ӨАВ-ы хоруу чанар сэргэсэн эсэх, БГВ-ы аюулгүй чанарын шалгалтыг 1.1.8 дугаар бүлэгт заасны дагуу хийнэ.

i) Өөрчилсөн амьд вакцин (ӨАВ)

а) Вакцин хэрэглэх амьтанд

Хөдөө хээр тарааж хэрэглэх (хээрийн тун) тунгийн хамгийн их титрийг 10 дахин ихэсгээд галзуу өвчний эсрэг бие тээгээгүй арван амьтанд амаар, болж өгвөл тариураар олгох замаар (6 сар хүрээгүй зэрлэг амьтан, 10 долоо хоног хүрээгүй нохой) вакцины тун хэтрэхэд аюулгүй байх чанарыг шалгана. Вакцин олгосны дараах эхний өдөр болон эхний долоо хоногт товлосон үеүдэд хэд хэдэн удаа дээр дурдсан амьтнаас арчдас авч олгосон вакцины вирус шүлсээр ялгарах магадлалыг үнэлэн тогтооно. Ялгарсан аливаа вирусийн шинж чанарыг тодорхойлно. Амьтанд 90-ээс доошгүй хоног ажиглалт хийнэ. Мэдрэлийн хямралын шинж тэмдэг илрэх, гэнэтийн үхэл тохиолдох үед онцгой анхаарах ба шаардлагатай шинжилгээ хийж мөшгөн судална (энэ бүлгийн В хэсгийг үзэх). Судалгааны төгсгөлд тархийг авч вакцины вирус байгаа эсэхийг В.1.3.1 хэсэгт заасан лавлах шинжилгээний аргаар шалгана.

Хэрэв вакцинтай холбоотойгоор үл хүлцэх сөрөг хариу урвал ажиглагдаагүй, тархинд вирус илрээгүй бол шалгалтад тэнцэнэ. Арчдасаас вирусийн РНХ эсхүл вирус сэргэн илэрвэл вакцины омог л байх ёстой ба тэрхүү вирусийн репликаци хязгаарлагдмал, илрэх цаг хугацааны болон тооны хувьд өөрчлөлтгүй байна. Viral RNA and virus recovered from swabs should be the vaccine strain and be consistent temporally and quantitatively with limited viral replication

б) Вакцин үл хэрэглэх амьтанд

Өгөөш вакцин олж идэх магадлалтай амьтны төлөөлөл, тэр дундаа мэрэгч, муур, нохойг мөшгөн шинжилнэ. Амьтны зүйл бүрээс наад зах нь 10-аас доошгүй амьтанд хээрийн тунгийн хамгийн их титрийг 10 дахин ихэсгэж амаар олгоод 90-ээс доошгүй хоног ажиглалт хийнэ.

Зэрлэг амьтанд шинжилгээ хийх төвөгтэй учраас тоог нь хамгийн бага байлгаж лабораторийн мэрэгч амьтанд (дархлаагүй болон дархлаа сул хулгана, бусад дархлааг нь дарангуйлсан амьтан) янз бүрийн замаар олгож нэмэлт шинжилгээ хийнэ. Туршилтад 20-иос доошгүй тооны мэрэгч амьтан (хулгана, харх) авч амаар олгох хамгийн дээд тунтай тэнцэх вакцины омгийг амаар олгоно. Вирусийн дамжин халдварлалтыг судлахын тулд дээрх туршилтад ашигласантай ижил тооны амьтан авч ойр хавьталд байлгана. Бүх амьтанд 30-аас доошгүй хоногийн хугацаанд өдөр бүр ажиглалт хийнэ. Галзуу өвчинтэй холбоогүй шалтгаанаар үхсэн хулганыг зайлуулна. Судалгааны төгсгөлд амьтны тархийг авч В.1.3.1 дүгээр хэсэгт заасан лавлагааны аргаар галзуугийн вирусийн эсрэгтөрөгч байгаа эсэхийг шалгана.

Эрсдэлийн үнэлгээ хийж вакцинаас хүнд шууд аюул учруулах (вакцины аюулгүй чанар) эрсдэл болон хүн вакцинд хүрэлцэх үед учрах эрсдэлийг үнэлнэ.

ii) Биотехнологийн гаралтай вакцин (БГВ)

а) Вакцин хэрэглэх амьтанд

Хамгийн их титрийг 10 дахин ихэсгээд галзуу өвчний эсрэг бие тээгээгүй арван амьтанд амаар, болж өгвөл тариураар олгох замаар тун хэтэрсэн тохиолдолд аюулгүй байх чанарыг шалгана. Вакцин олгосны дараах эхний өдөр болон эхний долоо хоногт товлосон үедэд хэд хэдэн удаа дээр дурдсан амьтнаас арчдас авч олгосон вакцины вирус шүлсээр ялгарах магадлалыг үнэлэн тогтооно. Ялгарсан аливаа вирусийн шинж чанарыг тодорхойлно. Амьтанд наад зах нь 90 хоног эсхүл ашигласан векторт судлан тогтоосон нууц үеийн хугацааг баримтлан ажиглалт хийнэ.

Хэрэв вакцинтай холбоотойгоор үл тэвчих гаж нөлөө ажиглагдаагүй бол вакцин шалгалтад тэнцэнэ. Арчдасд илэрсэн РНХ болон вирус вакцины омог байх ёстой ба вирусийн репликаци хязгаарлагдмал, илрэх цаг хугацааны болон тооны хувьд тогтвортой байна. Нохойд хэрэглэх зориулалттай вакцины тухайд вирус байхгүй болохыг дархлаажуулалт хийснээс хойш 4 хоногт нотлон харуулна.

б) Вакцин үл хэрэглэх амьтанд

Вирусийн векторт мэдрэмтгий, өгөөш вакцин олж идэх магадлалтай амьтны төлөөлөл, тэр дундаа мэрэгч, муур, нохойг мөшгөн шинжилнэ. Амьтны зүйл бүрээс наад зах нь 10 амьтанд хамгийн их титрийг 10 дахин өсгөн амаар олгож 90-ээс доошгүй хоног эсхүл ашигласан векторт тогтоогдсон нууц үеийг баримтлан ажиглалт хийнэ.

Зэрлэг амьтанд шинжилгээ хийх төвөгтэй учраас тоог нь хамгийн бага байлгаж вирусийн векторт мэдрэмтгий лабораторийн амьтанд нэмэлт шинжилгээ хийхийг зөвлөдөг. Туршилт бүрд 20-иос доошгүй тооны лабораторийн амьтан авч амаар олгох хамгийн дээд тунтай тэнцэх вакцины омгийг амаар олгоно. Вирусийн дамжин халдварлалтыг судлахын тулд дээрх туршилтад ашигласантай ижил тооны амьтан авч ойр хавьталд байлгана. Бүх амьтанд 30-аас доошгүй хоногийн хугацаанд өдөр бүр ажиглалт хийнэ. Галзуу өвчинтэй холбоогүй шалтгаанаар үхсэн хулганыг зайлуулна.

Эрсдэлийн үнэлгээ хийж хүнд вакцинаас шууд аюул учруулах (вакцины аюулгүй чанар) эрсдэл болон хүн вакцинд хүрэлцэх үед учрах эрсдэлийг үнэлэн тогтооно.

iii) Сэрэмжлүүлэг ба аюул

Амаар олгох вакциныг байгаль орчинд тараахдаа 1.1.8 дугаар бүлэгт заасан шаардлагыг мөрдөнө. Амаар олгох вакцин өгөөш хэлбэрт оруулснаас хойш аюулгүй, вакцин олгогчид хоргүй байдаг. Уут сав гэмтсэний улмаас доторх вакцин асгарч түүнд санамсаргүй хүрэх, ялангуяа салст бүрхэвч, арьс эсхүл арьсны шалбархайд хүрсэн тохиолдолд эмнэлгийн тусламж авах шаардлагатайг үйлдвэрлэгчийн зүгээс анхааруулсан байх хэрэгтэй.

Вакцинжуулалтын цогц ажлыг эхлүүлэхээс өмнө ялангуяа өгөөш вакцинд хүрэхгүй, өгөөш вакцин саяхан өгсөн амьтанд ойртохгүй байх талаар нийтийн эрүүл мэндийн ажилтнуудад мэдэгдэж, олон нийтийн мэдлэг ойлголтыг сайжруулна.

Амаар олгох вакцинтай холбоотойгоор хүн амын тодорхой бүлэгт учрах эрсдэлийн талаарх нийтийн эрүүл мэндэд холбогдох мэдээллийг ДЭМБ-аас бэлтгэн гаргадаг (2005).

3.3.3. Үр нөлөөнд тавих шаардлага

Эцсийн бүтээгдэхүүний (өгөөш вакцин) (В.3.3.5 хэсгийг үз) үр нөлөөг үйлдвэрлэгч тухайн вакциныг хэрэглэж болно гэж заасан амьтны зүйл бүрд нотлон харуулна. Хамгаалж байгаа байдлыг дан ийлдэс судлалын аргаар шалгаж болохгүй ба галзуу өвчний халдвар хийхэд тохирсон вирусээр халдвар хийж хоруу чанарыг шалгах шаардлагатай. Вакцин хэрэглэх, галзуу өвчний вирусийн омогт дассан амьтны зүйлийг ашиглахыг эрхэмлэнэ. Хамгаалж чадна гэж тогтоосон хамгийн бага тунгаас вакцины титр нь өндөр байж үл болно.

Туршилтын амьтан нь гурван сараас доошгүй настай, галзуу өвчинд өвөрмөц эсрэг бие агуулаагүй нь ийлдэс саармагжуулах урвалаар тогтоогдсон байна (энэ бүлгийн В хэсгийг үз).

Халдвар хийх туршилт явуулахдаа халдварлуулах тун тогтоох судалгаа хийж вакцинжуулаагүй хяналтын, тухайн вакцин хэрэглэх зүйлийн амьтан тус бүрийн 80-аас доошгүй хувьд галзуу өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдэг үүсгэхэд хангалттай тун, олгох замыг тогтооно. Галзуу өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдэг үзүүлсний дараа аль болохоор удаалгүй тухайн амьтныг үхүүлж энэ бүлгийн В хэсэгт заасан оношилгооны арга хэрэглэн галзуу өвчин мөн эсэхийг баталгаажуулна.

Вакцинжуулсан амьтанд вакцины үр нөлөөг үнэлэхэд вакцин тарьсан 25-аас цөөнгүй амьтан ашиглана. Үр нөлөөний шалгалтад хэрэглэсэн вакцины вирусийн титр нь дархлаа төрүүлэх хамгийн бага тунг тогтооно. Өгөөш вакцин олгосноос хойш 180 хоногт вакцин өгсөн болон хяналтын амьтныг дээр дурдсаны дагуу урьдчилан тогтоосон тунгаар халдвар хийнэ. Халдвар хийснээс хойш 90 хоногт өдөр бүр амьтанд ажиглалт хийх шаардлагатай ба галзуу өвчний эмнэл зүйн эхний тодорхой шинж тэмдэг илрэхээр нь энэрэнгүй аргаар унтуулна. Үхсэн эсхүл унтуулсан амьтанд галзуу өвчний оношийг оношилгооны тохирох арга хэрэглэн баталгаажуулна. Ажиглалтын төгсгөл үед амьд үлдсэн бүх амьтныг энэрэнгүй аргаар унтуулж тэдний тархийг авч энэ бүлгийн В хэсэгт заасан вирус ялган таних аргаар шинжилнэ.

Халдвар хийх шалгалтыг хүлээн зөвшөөрөхөд тавих шаардлага нь: вакцинжуулсан 25 амьтны 22-оос, 30 амьтны 26-аас доошгүй эсхүл статистикийн хувьд ижил тооны амьтан 90 хоногийн хугацаанд галзуу өвчнөөр өвчлөлгүй үлдэж байхад хяналтын амьтны 80-аас доошгүй хувь нь галзуу өвчний улмаас үхэх ёстой.

Нэгэнт дархлаа тогтоох хамгийн бага тунг нэг зүйлийн амьтанд тогтоосон бол вакцины үр нөлөөг бусад зүйлийн амьтанд судлах ажлыг өгөөш вакцин хэрэглэсэн судалгаагаар хязгаарлаж болно. Өгөөш вакцины гэрийг вакцин шинээр хэрэглэх амьтны зүйлийн онцлогт тохируулсан байх хэрэгтэй (С.3.3.5 дугаар хэсгийг үз).

3.3.4. Тогтвортой байдал

Эцсийн бүтээгдэхүүнээс хамгийн багадаа таван сорьц авч 25°C-д 5 хоног инкубацлана. Вакциныг гурван удаа титрлэнэ. Вирусийн титрийн дундаж наад зах нь шошго дээр заасан вирусийн хамгийн бага титр эсхүл хүчинтэй хугацаа дуусах үеийн зөвшөөрөгдсөн титр байх ёстой. Өгөөшийг 40°C-д 1 цаг халаахад өгөөшний гэр анхны хэлбэрээ алдаагүй, вакцины савлагаанаас хөндийрөөгүй байвал шалгалтад тэнцэнэ (Европын фармакопей, 2021).

3.3.5. Өгөөшт тавих шаардлага, шинж чанар

Өгөөш нь бүтээгдэхүүний гол бүрэлдэхүүн хэсэг бөгөөд хэд хэдэн шалгуурыг хангасан байх шаардлагатай:

- i) Вакцин өгөхөөр товлосон зүйлийн амьтанд зохистой, тэдний анхаарлыг татахуйц, түгээх арга хэлбэрт тохирсон хийцтэй байх;
- ii) Тухайн орон нутгийн АОГВ олгох нохойн популяцийн голлон иддэг идэштэй зохицсон байх;
- iii) Амьтны анхаарал татагч бодис нь өгөөш болон вакцинд зохицсон, өгөөшинд наалдамхай, амт, үнэрээ тодорхой хугацаанд хадгалдаг байх;
- iv) Температур, цаг агаарын янз бүрийн нөхцөлд хэлбэр, хэмжээгээ хадгалж хээрийн нөхцөлд вакциныг хамгаалж чаддаг байх;

- v) Өгөөш нь хэмжээгээрээ зорилтот амьтанд нас, биеийн хэмжээнээс үл хамааран амархан залгигддаг байх;
- vi) Өгөөшнөөс вакцин амьтны амны хөндийд болон зохих эрхтэнд очиж чөлөөлөгддөг байх;
- vii) Вакцин хэрэглэх болон хэрэглэх заалтгүй амьтанд аюулгүй байх;
- viii) Орц, найрлага нь аюулгүй, амьтны тэжээлийн стандартад нийцсэн, вакцины идэвхийг сааруулдаггүй байх;
- ix) Хэсэг газрын болон тогтолцооны биомаркертай нэгдүүлэх боломжтой байх, жишээ нь:
 - a) гадаргуугийн маркер (родамин Б, бусад будаг);
 - b) эдийн маркер (лопеноксик хүчил зэрэг);
 - c) өгөөшийн найрлагад нийцтэй, вакцин хэрэглэх, үл хэрэглэх амьтанд аюулгүй, агууламжийг нь орон нутагт хийж болох хэрэглэхэд энгийн, өртөг бага шинжилгээний аргаар вакцин олгосон амьтанд тодорхой хугацаанд илрүүлээд байх боломжтой, зорилтот популяцид агуулагддаггүй эсхүл хамгийн бага хэмжээгээр агуулагддаг тетрациклин зэрэг кальцифил маркер.
- x) Орон нутгийн нөхцөлд стандарт хэлбэрээр үйлдвэрлэхэд хэмнэлттэй, алдагдалгүй байх;
- xi) Шошгонд олон нийтэд өгөх анхааруулга, бүтээгдэхүүний ялган таних тэмдэг оруулсан байна.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

BADRANE H., BAHLOUL C., PERRIN P. & TORDO N. (2001). Evidence of two Lyssavirus phylogroups with distinct pathogenicity and immunogenicity. *J. Virol.*, 75, 3268–3276.

BARRAT J. (1992). Experimental Diagnosis of Rabies. Adaptations to Field and Tropical Conditions. Proceedings of the International Conference on Epidemiology, Control and Prevention of Rabies in Eastern and Southern Africa. Lusaka, Zambia, 2–5 June 1992, 72–83.

BARRAT J. & AUBERT M.F.A. (1995). Diagnostic de la rage animale en France de 1991 à 1993, bilan de CNEVA laboratoire d'études sur la rage et la pathologie des animaux sauvages en France. *Revue Méd. Vét.*, 146, 561–566.

BARRAT J. & BLANCOU J. (1988). Technique simplifiée de prélèvement, de conditionnement et d'expédition de matière cérébrale pour le diagnostic de rage. *Doc. WHO/Rab. Res./88.27*.

BELLINGER D.A., CHANG J., BUNN T.O., PICK J.R., MURPHY M. & RAHIJA R. (1983). Rabies induced in a cat by high-egg- passage Flury strain vaccine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 183, 997–998.

BINGHAM J. & VAN DER MERWE M. (2002). Distribution of rabies antigen in infected brain material: determining the reliability of different regions of the brain for the rabies fluorescent antibody test. *J. Virol. Methods*, 101, 85–94.

BROOKES S.M., PARSONS G., JOHNSON N., MCELHINNEY L.M. & FOOKS A.R. (2005). Rabies human diploid cell vaccine elicits cross-neutralising and cross-protecting immune responses against European and Australian bat lyssaviruses. *Vaccine*, 23, 4101–4109.

CLIQUET F., AUBERT M. & SAGNE L. (1998). Development of a fluorescent antibody virus neutralisation test (FAVN test) for the quantitation of rabies-neutralising antibody. *J. Immunol. Methods*, 212, 79–87.

CLIQUET F., GUIOT A.L., AUBERT M., ROBARDET E., RUPPRECHT C.E. & MESLIN F.X. (2018). Oral vaccination of dogs: a well-studied and undervalued tool for achieving human and dog rabies elimination. *Vet. Res.*, 49, 61.

CLIQUET F., ROBARDET E., MUST K., LAINE M., PEIK K., PICARD-MEYER E., GUIOT A.L. & NIIN E. (2012). Eliminating rabies in Estonia. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 6 (2):e1535. doi: 10.1371/journal.pntd.0001535. Epub 2012 Feb 28.

CODE OF FEDERAL REGULATIONS (OF THE UNITED STATES OF AMERICA) (9CFR) (2010). Rabies Vaccine, Killed Virus, 9 CFR 113.209.

COETZER A., SABETA C.T., MARKOTTER W., RUPPRECHT C.E. & NEL L.H. (2014). Comparison of biotinylated monoclonal and polyclonal antibodies in an evaluation of a direct rapid immunohistochemical test for the routine diagnosis of rabies in southern Africa. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 8, e3189.

EGGERBAUER E., DE BENEDICTIS P., HOFFMANN B., METTENLEITER T.C., SCHLOTTAU K., NGOEPE E., SABETA C., FREULING C.M. & MÜLLER T. (2016). Evaluation of Six Commercially Available Rapid Immunochromatographic Tests for the Diagnosis of Rabies in Brain Material. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 10, e0004776.

ESH J.B., CUNNINGHAM J.G. & WIKTOR T.J. (1982). Vaccine-induced rabies in four cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 180, 1336–1339.

EUROPEAN COMMISSION (2010). Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

Available at: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:en:PDF>

- EUROPEAN PHARMACOPOEIA 10.4. (2021). Monograph 0451: Rabies vaccine (inactivated) for veterinary use. European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare (EDQM), Council of Europe, Strasbourg, France.
- EUROPEAN PHARMACOPOEIA 10.2. (2020). Monograph 0746: Rabies vaccine (live, oral) for foxes and raccoon dogs. European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare (EDQM), Council of Europe, Strasbourg, France.
- FEHLNER-GARDINER C., NADIN-DAVIS S., ARMSTRONG J., MULDOON F., BACHMANN P. & WANDELER A. (2008). Era vaccine-derived cases of rabies in wildlife and domestic animals in Ontario, Canada, 1989–2004. *J. Wildl. Dis.*, 44, 71–85.
- FISCHER M., WERNIKE K., FREULING C.M., MÜLLER T., AYLAN O., BROCHIER B., CLIQUET F., VÁZQUEZ-MORÓN S., HOSTNIK P., HUOVILAINEN A., ISAKSSON M., KOOI E.A., MOONEY J., TURCITU M., RASMUSSEN T.B., REVILLA-FERNÁNDEZ S., SMRECZAK M., FOOKS A.R., MARSTON D.A., BEER M. & HOFFMANN B. (2013). A step forward in molecular diagnostics of lyssaviruses – results of a ring trial among European laboratories. *PLoS One*, 8, e58372.
- FREULING C.M., HAMPSON K., SELHORST T., SCHRÖDER R., MESLIN F.X., METTENLEITER T.C. & MÜLLER T. (2013). The elimination of fox rabies from Europe: determinants of success and lessons for the future. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 368, 1623.
- FREULING C.M., HOFFMANN B., FISCHER M., MCELHINNEY L.M., MARSTON D.A., FOOKS A.R. & MÜLLER T.F. (2014). Real-Time Quantitative Polymerase Chain Reaction for the Demonstration of Lyssavirus Nucleic Acid. In: *Current Laboratory Techniques in Rabies Diagnosis, Research, and Prevention*, Volume 1, Rupprecht C. 1 Nagarajan T., eds. Academic Press, Elsevier, San Diego, USA.
- HANLON C.A., KUZMIN I.V., BLANTON J.D., WELDON W.C., MANANGAN J.S. & RUPPRECHT C.E. (2005). Efficacy of rabies biologics against new lyssaviruses from Eurasia. *Virus Res.*, 111, 44–54.
- HAYMAN D.T., BANYARD A.C., WAKELEY P.R., HARKESS G., MARSTON D., WOOD J.L., CUNNINGHAM A.A. & FOOKS A.R. (2011). A universal real-time assay for the detection of Lyssaviruses. *J. Virol. Methods*, 177, 87–93.
- HEATON P.R., JOHNSTONE P., MCELHINNEY L.M., COWLEY R., O'SULLIVAN E. & WHITBY J.E. (1997). Heminested PCR assay for detection of six genotypes of rabies and rabies-related viruses. *J. Clin. Microbiol.*, 35, 2762–2766.
- HOSTNIK P., PICARD-MEYER E., RIHTARIC D., TOPLAK I. & CLIQUET F. (2014). Vaccine-induced Rabies in a Red Fox (*Vulpes vulpes*): Isolation of Vaccine Virus in Brain Tissue and Salivary Glands. *J. Wildl. Dis.*, 50, 397–401.
- ICTV (INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES) (2017). *Virus Taxonomy: The Classification and Nomenclature of Viruses: The Online (10th) Report of the ICTV*.
- KANSAS STATE VETERINARY DIAGNOSTIC LABORATORY. Video on tissue sampling for rabies through the foramen magnum <https://www.youtube.com/watch?v=aSEyLw79imA>
- KLEIN A., FAHRION A., FINKE S., EYNGOR M., NOVAK S., YAKOBSON B., NGOEPE E., PHAHLADIRA B., SABETA C., DE BENEDICTIS P., GOURLAOUEN M., ORCIARI L.A., YAGER P.A., GIGANTE C.M., KNOWLES M.K., FEHLNER-GARDINER C., SERVAT A., CLIQUET F., MARSTON D., MCELHINNEY L.M., JOHNSON T., FOOKS A.R., MÜLLER T. & FREULING C.M. (2020). Further Evidence of Inadequate Quality in Lateral Flow Devices Commercially Offered for the Diagnosis of Rabies. *Trop. Med. Infect. Dis.*, 5 (1).
- KRÄMER B., BRUCKNER L., DAAS A. & MILNE C. (2010). Collaborative study for validation of a serological potency assay for rabies vaccine (inactivated) for veterinary use. *Pharmeur. Bio. Sci. Notes*, 2, 37–55.
- KUHN J.H., ADKINS S., AGWANDA B.R., AL K., RIM A., SERGEY V., AMARASINGHE G.K., AVŠIČ-ŽUPANC T., AYLLÓN M.A., BAHL J., BALKEMA-BUSCHMANN A., BALLINGER M.J., BASLER C.F., BAVARI S., BEER M., BEJERMAN N., BENNETT A.J., BENTE D.A., BERGERON É., BIRD B.H., BLAIR C.D., BLASDELL K.R., BLYSTAD D., BOJKO J., BORTH W.B., BRADFUTE S., BREYTA R., BRIESE T., BROWN P.A., BROWN J.K., BUCHHOLZ U.J., BUCHMEIER M.J., BUKREYEV A., BURT F., BÜTTNER C., CALISHER C.H., CAO M., CASAS I., CHANDRAN K., CHARREL R.N., CHENG Q., CHIACHI Y., CHIAPELLO M., CHOI I., CIUFFO M., CLEGG J., CHRISTOPHER S., CROZIER I., DAL BÓ E., LA TORRE J.C., LAMBALLERIE X. DE, SWART R.L. DE, DEBAT H., DHEILLY N.M., DI CICCIO E., DI PAOLA N., DI SERIO F., DIETZGEN R.G., DIGIARO M., DOLNIK O., DREBOT M.A., DREXLER J. F., DUNDON W.G., DUPREX W.P., DÜRRWALD R., DYE J.M., EASTON A.J., EBIHARA H., ELBEAINO T., ERGÜNAY K., FERGUSON H.W., FOOKS A.R., FORGIA M., FORMENTY P.B.H., FRÁNOVÁ J.M., FREITAS-ASTÚA J., FU J., FÜRL S., GAGO-ZACHERT S., GÃO G.F., GARCÍA ML., GARCÍA-SASTRE A., GARRISON A.R., GASKIN T., GONZALEZ J.-P.J., GRIFFITHS A., GOLDBERG T.L., GROSCUP M.H., GÜNTHER S., HALL R.A., HAMMOND J., HAN T., HEPOJOKI J., HEWSON R., HONG J., HONG N., HONGO S., HORIE M., HU J.S., HU T., HUGHES H.R., HÜTTNER F., HYNDMAN T.H., ILYAS M., JALKANEN R., JIANG D., JONSON G.B., JUNGLEN S., KADONO F., KAUJINEN K.H., KAWATE M., KLEMPA B., KLINGSTRÖM J., KOBINGER G., KOLONIUK I., KONDŌ H., KOONIN E.V., KRUPOVIC M., KUBOTA K., KURATH G., LAENEN L., LAMBERT A.J., LANGEVIN S.L., LEE B., LEFKOWITZ E.J., LEROY E.M., LI S., LI L., LI J., LIU H., LUKASHEVICH I.S., MAES P., SOUZA W.M. DE, MARKLEWITZ M., MARSHALL S.H., MARZANO S.-Y.L., MASSART S., MCCAULEY J.W., MELZER M., MIELKE-EHRET N., MILLER K. M., MING T.J., MIRAZIMI A., MORDECAI G.J., MÜHLBACH H.-P., MÜHLBERGER E., NAIDU R., NATSUAKI T., NAVARRO J.A., NETESOV S. V., NEUMANN G., NOWOTNY N., NUNES M.R.T., OLMEDO-VELARDE A., PALACIOS G., PALLÁS V., PÁLYI B., PAPA A., PARASKEVOPOULOU S., PARK A.C., PARRISH C.R., PATTERSON D.A., PAUVOLID-CORRÊA A., PAWĘSKA J.T., PAYNE S., PERACCHIO C., PÉREZ D.R., POSTLER T.S., QI L., RADOSHITZKY S.R., RESENDE R.O., REYES C.A., RIMA B.K., LUNA G.R., ROMANOWSKI V., ROTA P., RUBENSTROTH D., RUBINO L., RUNSTADLER J.A., SABANADZOVIC S., SALL A. A., SALVATO M.S., SANG R., SASAYA T., SCHULZE A.D., SCHWEMMLE M., SHI M., SHI X., SHI Z., SHIMOMOTO Y., SHIRAKO Y., SIDDELL S.G., SIMMONDS P., SIRONI M., SMAGGHE G., SMITHER S., SONG J.-W., SPANN K., SPENGLER J.R., STENGLEIN M.D., STONE D.M., SUGANO J., SUTTLE C.A., TABATA A., TAKADA A., TAKEUCHI, S., TCHOUASSI, D.P., TEFFER, A., TESH R.B., THORNBURG N.J., TOMITAKA Y., TOMONAGA K., TORDO N., TORTO B., TOWNER J.S., TSUDA S., TU C., TURINA M., TZANETAKIS I.E., UCHIDA J., USUGI T., VAIRA A.M., VALLINO M., VAN DEN HOOGEN, B., VARSANI A., VASILAKIS N., VERBEEK M., BARGEN S. VON, WADA J., WAHL V., WALKER P.J., WANG L.-F. W.G., WANG Y., WANG Y., WAQAS M., WÈI T., WEN S., WHITFIELD A. E., WILLIAMS J.V., WOLF Y.I., WU J., XU L., YANAGISAWA H., YANG C., YANG Z., ZERBINI F. M., ZHAI L., ZHANG Y.-Z., ZHANG S., ZHANG J., ZHANG Z. & ZHOU X. (2021). 2021 Taxonomic update of phylum Negarnaviricota (Riboviria: Orthornavirae), including the large orders Bunyavirales and Mononegavirales. *Arch. Virol.*, 166, 3513– 3566. <https://doi.org/10.1007/s00705-021-05143-6>.

- KUZMIN I.V., MAYER A.E., NIEZGODA M., MARKOTTER W., AGWANDA B., BREIMAN R.F. & RUPPRECHT C.E. (2010). Shimoni bat virus, a new representative of the *Lyssavirus* genus. *Virus Res.*, 149, 197–210.
- LECHENNE M., NAÏSSENGAR K., LEPELLETIER A., ALFAROUKH I.O., BOURHY H., ZINSSTAG J. & DACHEUX L. (2016). Validation of a Rapid Rabies Diagnostic Tool for Field Surveillance in Developing Countries. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 10 (10), e0005010.
- LEMBO T., NIEZGODA M., VELASCO-VILLA A., CLEAVELAND S., ERNEST E. & RUPPRECHT C.E. (2006). Evaluation of a direct, rapid immunohistochemical test for rabies diagnosis. *Emerg. Infect. Dis.*, 12, 310–313.
- MARKOTTER W., YORK D., SABETA C.T., SHUMBA W., ZULU G., ROUX LE K. & NEL L. H. (2009). Evaluation of a rapid immunodiagnostic test kit for detection of African lyssaviruses from brain material. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 76, 257–262.
- MADHUSUDANA S.N., SUBHA S., THANKAPPAN U. & ASHWIN Y.B. (2012). Evaluation of a direct rapid immunohistochemical test (dRIT) for rapid diagnosis of rabies in animals and humans. *Virol. Sin.*, 27, 299–302.
- MCELHINNEY L.M., MARSTON D.A., BROOKES S.M. & FOOKS A.R. (2014). Effects of carcase decomposition on rabies virus infectivity and detection. *J. Virol. Methods*, 207, 110–113.
- MONTANO HIROSE J.A., BOURHY H. & SUREAU P. (1991). Retro-orbital route for brain specimen collection for rabies diagnosis. *Vet. Rec.*, 129, 291–292.
- MOORE S., GILBERT A., VOS A., FREULING C.M., ELLIS C., KLIEMT J. & MÜLLER T. (2017). Review of rabies virus antibodies from oral vaccination as a correlate of protection against lethal infection in animals. *Trop. Med. Infect. Dis.*, 2, 31.
- MÜLLER T., BÄTZA H.J., BECKERT A., BUNZENTHAL C., COX J., FREULING C., FOOKS A., FROST J., GEUE L., HOEFLECHNER A., MARSTON D., NEUBERT A., NEUBERT L., REVILLA-FERNANDEZ S., VANEK E., VOS A., WODAK E., ZIMMER K. & METTENLEITER T. (2009). Analysis of vaccine-virus-associated rabies cases in red foxes (*Vulpes vulpes*) after oral rabies vaccination campaigns in Germany and Austria. *Arch. Virol.*, 154, 1081–1091.
- MÜLLER T. & FREULING C.M. (2020). Rabies Vaccines for Wildlife. In: *Rabies and Rabies Vaccines*, Hildegund C.J. Ertl, ed. Springer Nature Switzerland AG, Cham, Switzerland, 45–70.
- NISHIZONO A., KHAWPLOD P., AHMED K., GOTO K., SHIOTA S., MIFUNE K., YASUI T., TAKAYAMA K., KOBAYASHI Y., MANNEN K., TEPsumETHANON V., MITMOONPITAK C., INOUE S. & MORIMOTO K. (2008). A simple and rapid immunochromatographic test kit for rabies diagnosis. *Microbiol. Immun.*, 52, 243–249.
- PATRICK E.M., BJORKLUND B.M., KIRBY J.D., NELSON K.M., CHIPMAN R.B. & RUPPRECHT C.E. (2019). Enhanced Rabies Surveillance Using a Direct Rapid Immunohistochemical Test. *J. Vis. Exp.*, 146. doi: 10.3791/59416. PMID: 31107436.
- PFAFF F., MÜLLER T., FREULING C.M., FEHLNER-GARDINER C., NADIN-DAVIS S., ROBARDET E., CLIQUET F., VUTA V., HOSTNIK P., METTENLEITER T.C., BEER M. & HÖPER D. (2018). In-depth genome analyses of viruses from vaccine-derived rabies cases and corresponding live-attenuated oral rabies vaccines. *Vaccine*, pii, S0264-410X(18)30156-7. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.01.083.
- PICARD-MEYER E., BARRAT J. & CLIQUET F. (2007). Use of filter paper (FTA) technology for sampling, recovery and molecular characterisation of rabies viruses. *J. Virol. Methods*, 140, 174–182.
- ROBARDET E., PICARD-MEYER E., ANDRIEU S., SERVAT A. & CLIQUET F. (2011). International interlaboratory trials on rabies diagnosis: an overview of results and variation in reference diagnosis techniques (fluorescent antibody test, rabies tissue culture infection test, mouse inoculation test) and molecular biology techniques. *J. Virol. Methods*, 177, 15–25.
- ROESS A.A., REA N., LEDERMAN E., DATO V., CHIPMAN R., SLATE D., REYNOLDS M.G., DAMON I.K. & RUPPRECHT C.E. (2012). National surveillance for human and pet contact with oral rabies vaccine baits, 2001–2009. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 240, 163–168.
- RUDD R.J. & TRIMACHI C.V. (1989). Development and evaluation of an in vitro virus isolation procedure as a replacement for the mouse inoculation test in rabies diagnosis. *J. Clin. Microbiol.*, 27, 2522–2528.
- RUPPRECHT C.E., CLIQUET F., FEHLNER-GARDINER C., FOOKS A.R., MUELLER T., SABETA C. & SLATE D. (2014). Progress in the development of a direct rapid immunohistochemical test for diagnosing rabies. *OIE Bulletin*, No. 3, 87–95.
- SERVAT A., PICARD-MEYER E., ROBARDET E., MUZNIECE Z., MUST K. & CLIQUET F. (2012). Evaluation of a rapid immunochromatographic diagnostic test for the detection of rabies from brain material of European mammals. *Biologicals*, 40, 61–66.
- SMITH J.S., YAGER P.A. & BAER G.C. (1973). A rapid reproducible test for determining rabies neutralizing antibody. *Bull. WHO*, 48, 535–541.
- STOKES W., MCFARLAND R., KULPA-EDDY J., GATEWOOD D., LEVIS R., HALDER M., PULLE G., KOJIMA H., CASEY W., GAYDAMAKA A., MILLER T., BROWN K., LEWIS C., CHAPSAL J.M., BRUCKNER L., GAIROLA S., KAMPHUIS E., RUPPRECHT C.E., WUNDERLI P., MCELHINNEY L., DE MATTIA F., GAMOH K., HILL R., REED D., DOELLING V., JOHNSON N., ALLEN D., RINCKEL L. & JONES B. (2012). Report on the international workshop on alternative methods for human and veterinary rabies vaccine testing: State of the science and planning the way forward. *Biologicals*, 40, 369–381.
- SUIN V., NAZE F., FRANCAIT A., LAMORAL S., DE CRAEYE S., KALAI M. & VAN GUCHT S. (2014). A two-step lyssavirus real-time polymerase chain reaction using degenerate primers with superior sensitivity to the fluorescent antigen test. *Biomed. Res. Int.*, 2014, 256175.

- TAO L., GE J., WANG X., ZHAI H., HUA T., ZHAO B., KONG D., YANG C., CHEN H. & BU Z. (2010). Molecular basis of neurovirulence of flury rabies virus vaccine strains: importance of the polymerase and the glycoprotein R333Q mutation. *J. Virol.*, 84, 8926–8936.
- TAYLOR J., TRIMARCHI C., WEINBERG R., LANGUET B., GUILLEMIN F., DESMETTRE P. & PAOLETTI E. (1991). Efficacy studies on a canarypox-rabies recombinant virus. *Vaccine*, 9, 190–193.
- WACHENDÖRFER G., KIEFERT C. & FROST J.W. (1982). Safety tests with Flury HEP strain 675 in wild-living European mammals. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 5, 177–180.
- WADHWA A., WILKINS K., GAO J., CONDORI CONDORI R.E., GIGANTE C.M., ZHAO H., MA X., ELLISON J.A., GREENBERG L., VELASCO- VILLA A., ORCIARI L. & LI Y. (2017). A Pan-Lyssavirus Taqman Real-Time RT-PCR Assay for the Detection of Highly Variable Rabies virus and Other Lyssaviruses. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 11, e0005258.
- WAKELEY P.R., JOHNSON N., MCELHINNEY L.M., MARSTON D., SAWYER J. & FOOKS A.R. (2005). Development of a real-time, TaqMan reverse transcription-PCR assay for detection and differentiation of lyssavirus genotypes 1, 5, and 6. *J. Clin. Microbiol.*, 43, 2786–2792.
- WALKER P.J., FREITAS-ASTÚA J., BEJERMAN N., BLASDELL K.R., BREYTA R., DIETZGEN R.G., FOOKS A.R., KONDO H., KURATH G., KUZMIN I.V., RAMOS-GONZÁLEZ P.L., SHI M., STONE D.M., TESH R.B., TORDO N., VASILAKIS N., WHITFIELD A.E. & ICTV Report, Consortium (2022). ICTV Virus Taxonomy Profile: Rhabdoviridae 2022. *J. Gen. Virol.*, 103. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001689>.
- WALLACE R.M., CLIQUET F., FEHLNER-GARDINER C., FOOKS A.R., SABETA C.T., SETIÉN A.A., TU C., VUTA V., YAKOBSON B., YANG D.-K., BRÜCKNER G., FREULING C.M., KNOPF L., METLIN A., POZZETTI P., SUSENO P.P., SHADOMY S.V., TORRES G., VIGILATO M.A.N., ABELA-RIDDER B. & MÜLLER T. (2020). Role of Oral Rabies Vaccines in the Elimination of Dog-Mediated Human Rabies Deaths. *Emerg. Infect. Dis.*, 26, e1–e9.
- WARNER C.K., WHITFIELD S.G., FEKADU M. & HO H. (1997). Procedures for reproducible detection of rabies virus antigen mRNA and genome in situ in formalin-fixed tissues. *J. Virol. Methods*, 67, 5–12.
- WASNIEWSKI M., LABBE A., TRIBOUT L., RIEDER J., LABADIE A., SCHEREFFER J.L. & CLIQUET F. (2014). Evaluation of a rabies ELISA as an alternative method to seroneutralisation tests in the context of international trade of domestic carnivores. *J. Virol. Methods*, 195, 211–220.
- WASNIEWSKI M., ALMEIDA I., BAUR A., BEDEKOVIC T., BONCEA D., CHAVES L.B., DAVID D., DE BENEDICTIS P., DOBROSTANA M., GIRAUD P., HOSTNIK P., JACEVICIENE I., KENKLIES S., KONIG M., MAHAR K., MOJZIS M., MOORE S., MRENOSKI S., MÜLLER T., NGOEPE E., NISHIMURA M., NOKIREKI T., PEJOVIC N., SMRECZAK M., STRANDBYGAARD B., WODAK E., CLIQUET F. (2016). First international collaborative study to evaluate rabies antibody detection method for use in monitoring the effectiveness of oral vaccination programmes in fox and raccoon dog in Europe. *J. Virol. Methods*, 238, 77–85.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (2005). World Health Organization Expert Committee on Rabies, First Report; WHO Technical Report Series, 931. WHO, Geneva, Switzerland, 1–87.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (2007). Oral Vaccination of Dogs against Rabies. Guidance for research on oral rabies vaccines and field application of oral vaccination of dogs against rabies. WHO, Geneva, Switzerland.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (2013). Expert Consultation on Rabies, Second Report. WHO Technical Report Series, 982. WHO, Geneva, Switzerland, 1–150.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (2018). Laboratory Techniques in Rabies, Fifth Edition, Volumes 1 and 2, Rupprecht C.E., Fooks A.R. & Abela-Ridder B., eds. WHO, Geneva, Switzerland.
- WU X., SMITH T.G. & RUPPRECHT C.E. (2011). From brain passage to cell adaptation: the road of human rabies vaccine development. *Exp. Rev. Vaccines*, 10, 1597–1608.

*
* *

ЖИЧ: Галзуу өвчний 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>).

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

ЖИЧ: 1989 ОНД АНХ, 2023 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

ҮХРИЙН ЭНЗООТ ЛЕЙКОЗ ӨВЧИН

А. УДИРТГАЛ

Үхэрт лимфосаркома үүсэх нь хэд хэдэн шалтгаантай байж болох ч тодорхой мэдэгдэж байгаа ганц шалтгаан бол үхрийн лейкоемийн вирус (ҮЛВ) болох ретровирус бөгөөд энэ вирус үхрийн энзоот лейкоз (ҮЭЛ) өвчин үүсгэдэг. "Үхрийн тохиолдлын лейкоз" (ҮТЛ) гэгдэх нэр томъёог ихэвчлэн төл малд (тугал), түүнчлэн өвчилсөн малын нас, хавдрын тархалтаар тодорхойлогддог арьсны болон сэрээ булчирхайн хэлбэрийн лимфомагийн үед хэрэглэдэг. ҮТЛ-ийн шалтгаан тодорхойгүй байна. Түүнчлэн ҮТЛ эсхүл ҮЭЛ ангилалд хамаарахгүй тухайлбал бие гүйцсэн амьтанд хааяа тохиолдох, шалтгаан нь тодорхойгүй олон голомтот лимфома зэрэг лимфосаркомат эмгэгүүд байдаг. Зөвхөн ҮЛВ-ийн халдварын улмаас үүссэн лимфомаг "лейкоз" эсхүл "үхрийн энзоот лейкоз" гэж нэрлэнэ (Gillet нар, 2007).

Хэдийгээр мал ямар ч насандаа ҮЛВ-ийн халдвар авч болох боловч хавдар (лимфосаркома) ихэвчлэн 3-аас дээш насны малд илэрдэг. 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 үүснэ. 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 лимфоцитийн 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 нэмэгдсээр байна. 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-ийн 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.

Вирусийг захын цусны нэг бөөмт эс (ЗЦНБЭ)-ийн *in-vitro* өсгөвөрлөлтөөр илрүүлж болно. Вирус халдвар авсан эсийн ДНХ-д нэгдсэн провирус хэлбэрээр ЗЦНБЭ болон хавдрын эсүүдэд байна. Түүнчлэн вирус биеийн төрөл бүрийн шингэнд (хамар, мөгөөрсөн хоолойн шүүрэл, шүлс, сүү) агуулагдах эсийн хэсэг дотор олддог. Байгалийн халдвар нь халдвартай эсийн дамжилтаар, жишээ нь мал төллөх үеэр дамжин халдварлана. Цусаар бохирдсон зүү, мэс заслын багаж, шулуун гэдсээр суйлалт хийхэд хэрэглэсэн бээлий зэргээр механикаар дамжих нь тохиолдоно. Эдгээр бодит хүчин зүйл байхгүй нөхцөлд халдварын хөндлөн дамжилт үндсэндээ бага байдаг (Monti нар, 2005). Вирусийн эсрэгтөрөгч, провирусийн ДНХ-г халдвар авсан малын үрийн шингэн, сүү, уураг (гал) сүүнээс ялган тодорхойлж болно (Dus Santos нар, 2007; Romero нар, 1983). Дээрх шүүрлээр байгалийн халдвар дамждаг талаар тодорхой нотолгоо хараахан байхгүй байна.

Вирусийг хэд хэдэн зүйлийн амьтанд зориуд халдварлуулж болох боловч байгалийн халдвар зөвхөн үхэр (*Bos taurus*, *Bos indicus*), усны одос үхэр, капибарад тохиолддог. Зохиомол халдвар хийхэд хонь маш мэдрэмтгий бөгөөд үхэртэй харьцуулахад голдуу өсвөр насандаа хавдартай болно. Буга, туулай, харх, усан гахай, муур, нохой, хонь, макак сармагчин, шимпанзе, гөрөөс, гахай, ямаа, одос үхэрт хийсэн зориудын халдварын дараа эсрэг биеийн хариу урвал тогтмол илэрч байж болно.

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 импортлосон 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.

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). Ийнхүү энэ өвчнийг малаас хүнд халдварладаг гэж дүгнэхээр нотолгоо бүрдээгүй учраас өдгөө ҮЛВ хүнд аюул учруулахгүй гэж ерөнхийдөө үздэг болжээ.

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

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

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүйг батлах	Бодгалийн халдваргүйг тогтоох	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх	Сэжигтэй эсхүл эмнэл зүйн тохиолдлыг батлах	Сүргийн халдварын тархалт тогтоох – тандалт	Вакцинжуулалтын дараа бодгаль эсхүл популяцийн дархлааны статусыг тогтоох
Үүсгэгч илрүүлэх¹						
Вирус ялгах	–	+	–	+	–	хамаарахгүй
ПГУ	+	++	+	++	+	хамаарахгүй
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
АГНТУ	+++	+++	+++	+++	+++	хамаарахгүй
ЕЛИЗА	+++	+++	+++	+++	+++	хамаарахгүй

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 гелд нэвчин тунадасжих урвал.

1. Үүсгэгчийг 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 р12, капсидийн уураг р24, трансмембраны глико уураг рр30, дугтуйн глико уураг рр51, 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 нэг бөөмт эс (ЗЦНБЭ)-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 ЗЦНБЭ-ийг нягтын үеийн зөрүүгээр үелүүлэгч фиколл/натрийн метризоатын уусмал ашиглан салгаж, үнээний хээлийн уушги (ҮХУ)-ны 2×10^6 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. ЗЦНБЭ-ийг ҮХУ-ны эсгүйгээр 24 үүртэй хавтанд 3 өдөр өсгөвөрлөх замаар богино хугацааны өсгөвөр бэлтгэж болно (Miller нар, 1985). Үүний дараагаар өсгөврийн дээд шингэнд р24 ба рр51 эсрэгтөрөгчийг радио идэвхт дархлаа судлал (РИДС), энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА), иммунблот эсхүл агар гелд нэвчин тунадасжих урвал (АГНТУ)-ын аргаар илрүүлэх боломжтой бөгөөд ҮЛВ-ийн хэлтэрхий 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 полимеразыг гинжин урвал (ПГУ)-ыг хэрэглэх талаар хэд хэдэн судлагчид тодорхойлсон байдаг (Fechner нар, 1996; Rola-Luszczak 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

¹ Үүсгэгчийг ялган таних төрөл бүрийн шинжилгээг эмнэл зүйн нэг ижил сорьцод хийхийг зөвлөдөг.

нь gp51-ийг кодлогч *env* генийн праймерийн дараалалд суурилсан энгийн ПГУ болон *pol* генийг илрүүлэхэд суурилсан бодит цагийн ПГУ юм. Эдгээр аргыг зөвхөн молекул биологийн түвшний вирус судлалын шинжилгээ хийх тоног төхөөрөмжтэй лабораторид хэрэглэх боломжтой бөгөөд 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. ҮЛБ-ийн халдварыг ПГУ-аар дараах нөхцөлд бодгаль амьтанд илрүүлэх нь тохиромжтой:

- i) Уураг сүүгээр дамжсан эсрэг бие 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) ҮЛБ-ийн халдварын эсрэг бие 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 ҮЛБ байхгүй болохыг баталгаажуулах.

1.2.1. Аргын мэдрэх чанарын тохирол

i) Аналитик мэдрэх чанар

Хэдийгээр ПГУ-ын шинжилгээний онолын хувьд тооцолсон 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 ламинар агаарын урсгалын 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 арга барилыг мөрдөнө.

iii) Хуурамч-сөрөг дүн

ЗЦНБЭ-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 илрүүлэхийн тулд урвал тавих бүрдээ нэгээс доошгүй эерэг хяналт хэрэглэнэ. Үүнээс гадна дээж бүрд нэмэх дотоод хяналтыг шинжилгээнд ашиглаж болно. Дотоод хяналт нь өөрчилсөн бай молекул байх ба жинхэнэ байг онилсонтой ижил праймераар олширдог бөгөөд ПГУ-аас гарах бүтээгдэхүүн нь агароз гелийн электрофорезд харах боломжтой, харин өөр хэмжээтэй байдаг. Жинхэнэ байг олшруулах нөхцөлийг бүрдүүлэхийн тулд бага төвшрүүлэгтэй дотоод хяналтыг нэмнэ (Ballagi-Pordany & Belak, 1996). Гэсэн ч дотоод хяналт жинхэнэ байтай өрсөлдөн олшрох боломжтой тул дээж бүрийг дотоод хяналттай болон хяналтгүй аль алианаар нь шинжлэх шаардлагатай.

1.2.2. Дээж бэлтгэх

Нягтаар нь салган харилдуурдах аргаар ЭДТА-тай цусны дээжээс ЗЦНБЭ-ийг салгана. Зарим тохиолдолд, тухайлбал дээжийг хөлдөөсөн зэрэг тохиолдолд цагаан эсийн 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. 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. Энэ аргад ҮЛВ-ийн gp51 уургийг кодлогч *env* генийг бай болгон ашигласан байна. Праймерийг боловсруулахад ашигласан K02120 дугаартай дарааллыг GenBank-аас авах боломжтой.

1.2.4.1 Фехнер нарын боловсруулсан арга (1996)

i) Праймерийн дараалал

Олиго	Env-Дараалал (5'-3')	Байрлал
BLV-env-1	TCT-GTG-CCA-AGT-CTC-CCA-GAT-A	5032-5053
BLV-env-2	AAC-AAC-AAC-CTC-TGG-GAA-GGG	5629-5608
BLV-env-3	CCC-ACA-AGG-GCG-GCG-CCG-GTT-T	5099-5121
BLV-env-4	GCG-AGG-CCG-GGT-CCA-GAG-CTG-G	5542-5521

BLV-env-1/BLV-env-2-ын ПГУ-ын бүтээгдэхүүний хэмжээ 598 хос суурь (bp); BLV-env-3/BLV-env-4-ийн ПГУ-ын бүтээгдэхүүний хэмжээ 444 хос суурь (bp) байна.

ii) Урвалын холимог

Тус тусын урвалын цодонд нэмэхийн өмнө урвалын уусмалыг (ДНХ-ийн дээжээс бусад) нийлүүлж холино. Таван дээж тутамд сөрөг нэг хяналт (давхар нэрмэл ус), эерэг нэг хяналт нэмнэ. Арга зүйд заасан эзлэхүүний хяналтыг оруулаад дээжийн нийт тоо (түүн дээр илүү нэгийг нэмж)-д үржүүлж холимогийн нийт эзлэхүүнийг тооцоолно.

50 мкл урвалын бүтээгдэхүүн хэрэглэж эхний ПГУ-ыг явуулж болно. Нэг урвалд ПГУ-ын 5 мкл (10×) буфер, 20 мкл ДНХ (~1 мкл ДНХ), BLV-env-1 болон BLV-env-2-ын *env*-өөрмөц праймераас тус бүр 1.25 мкл (20 пмоль/мкл), 0.15 dNTP (тус бүр 25 mM), 3 мкл MgCl₂ (25 mM), 0.25 мкл *Taq* полимераза (1.25U), 19.1 мкл нэрмэл ус орно. Урвалыг явуулах температурын нөхцөл: денатурацийн шатыг 94°C-д 2 минут; 95°C-д 30 секунд, 58°C-д 30 секунд, 72°C-д 60 секундээр 30 мөчлөг; төгсгөлд нь 72°C-д 4 минут байна.

50 мкл урвалын бүтээгдэхүүн хэрэглэж угсраа ПГУ-ыг явуулж болно. Нэг урвалд ПГУ-ын 5 мкл (10×) буфер, 20 мкл ДНХ (~1 мкл ДНХ), BLV-env-1 болон BLV-env-2-ын *env*-өөрмөц праймер тус бүр 1.25 мкл (20 пмоль/мкл), 0.15 dNTP (тус бүр 25 mM), 3 мкл MgCl₂ (25 mM), 0.25 мкл *Taq* полимераза (1.25U), 19.1 мкл нэрмэл ус орно. Урвалыг явуулах температурын нөхцөл: денатурацийн шат 94°C-д 2 минут; 95°C-д 30 секунд, 58°C-д 30 секунд, 72°C-д 60 секундээр 30 мөчлөг; төгсгөлд нь 72°C-д 4 минут байна.

iii) Лабораторийн арга ажиллагаа

Эхний эсхүл угсраа ПГУ-ын урвалжуудыг хольж, ДНХ-ийн дээжийг цодон тус бүрд нэмэхдээ шинэ бээлий эсхүл цодон онгойлгогч ашиглана. Дээжийг мөсөнд суулгана. Дулаан сэлгэгчийн халаах хэсгийг 94°C хүртэл халаана. Халаах хэсгийн үүрэнд дээжийг байрлуулж ПГУ-ын программыг эхлүүлнэ.

iv) Агароз гель электрофорез

0.01%-ийн этидиумбромид (түүний оронд ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг харж болох илүү аюулгүй будгийг хэрэглэж болно) агуулах 2%-ийн агароз гелд угсраа ПГУ-ын 10 мкл орчим бүтээгдэхүүнийг 20 мкл ачаалах буфертэй хамт ачаална. 0.5× Трис/борат/ЭДТА (ТВЕ) буферийг хэрэглэж электрофорезийг 90 mA-аар 2 цаг явуулна. Олсрох бүтээгдэхүүнийн хэмжээг хянахын тулд 100 хос суурь (bp) жиших хяналт хэрэглэхийг зөвлөдөг. Гарсан ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг UV гэрэлд тавьж шалгана.

v) Үр дүнг үнэлэх

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

vi) Баталгаажуулах шинжилгээ

ПГУ-ын бүтээгдэхүүний дарааллыг тогтоож, пробтой эрлийзжүүлэх эсхүл таслагдах хэрчмийн уртын полиморфизмын (RFLP) шинжилгээгээр ялган таньж баталгаажуулна (Fechner нар, 1997).

1.2.5. Бодит цагийн ПГУ-ын арга зүй

ҮЛВ-ийн провирусийн дарааллыг илрүүлэхэд зориулсан бодит цагийн ПГУ-ын хэд хэдэн арга зүй нийтлэгдсэн ба Rola-Łuszczak нарын (2013) боловсруулсан аргыг жишээ болгон энд дэлгэрэнгүй оруулав. Энэ аргад ҮЛВ-ийн *pol* генийг бай болгон ашигласан. Праймерийг боловсруулахад ашигласан K02120 дугаартай дарааллыг GenBank-аас авах боломжтой.

1.2.5.1. Rola-Łuszczak нарын боловсруулсан арга (2013)

i) Праймерийн дараалал

Олиго	<i>Pol</i> -дараалал (5'-3')	Байрлал
MRBLVL	CCT-CAA-TTC-CCT-TTA-AAC-TA	2321-2340
MRBLVR	GTA-CCG-GGA-AGA-CTG-GAT-TA	2421-2440
MRBLV проб	6FAM GAA-CGC-CTC-CAG-GCC-CTT-CA BHQ1	2341-2360

ПГУ-ын бүтээгдэхүүний хэмжээ: 120 хос суурь

ii) ПГУ-ын холимог

Тус тусын урвалын цодонд нэмэхийн өмнө урвалын уусмалыг (ДНХ-ийн дээжээс бусад) нийлүүлж холино. Таван дээж тутамд сөрөг нэг хяналт (давхар нэрмэл ус), эерэг нэг хяналт нэмнэ. Арга зүйд заасан эзлэхүүнийг хяналтыг оруулаад дээжийн нийт тоо (түүн дээр илүү нэгийг нэмнэ)-гоор үржүүлж холимгийн нийт эзлэхүүнийг тооцоолно.

ПГУ-ын нэг урвал явуулах холимог нь 12.5 мкл 2× ПГУ-ын мастер холимог, тус бүр нь 1.25 мкл праймер, 0.2 мкМ ҮЛВ-д өвөрмөц проб, 500 нг геномын ялгасан ДНХ агуулах бөгөөд эцсийн эзэлхүүн нь 25 мкл байна. Олшруулалтыг дараах нөхцөлд: анхны инкубац ба полимеризаг идэвхжүүлэх шатыг 95°C-д 15 минут, денатурацийн шатыг 94°C-д 60 секунд, праймер холбогдох шатыг 60°C-д 60 секундээр 50 мөчлөг тус тус явуулна.

iii) Лабораторийн арга ажиллагаа

ПГУ-ын урвалжуудыг хольж, ДНХ-ийн дээжийг цодон тус бүрд нэмэхдээ шинэ бээлий эсхүл цодон онгойлгогч ашиглана. Дээжийг мөсөнд суулгана. Дулаан сэлгэгчийн халаах хэсгийн үүрэнд дээжийг байрлуулж, тохирох параметрийн дагуу урвал явуулна.

iv) Үр дүнг үнэлэх

- 40.95-аас бага эсхүл тэнцүү мөчлөгийн босго (Ct) утгатай дээжийг эерэг гэж үзнэ.
- Мөчлөгийн босго утга гараагүй эсхүл 40.96-аас их утгатай дээжийг сөрөг гэж үзнэ.
- Эерэг хяналт сөрөг, эсхүл сөрөг усан хяналт эерэг дүн үзүүлбэл шинжилгээг давтана. Эргэлзээтэй буюу босго утгатай ойролцоо (жишээ нь: мөчлөгийн босго утга нь 40) дээжийг дахин шинжлэн баталгаажуулна.

v) Баталгаажуулах шинжилгээ

ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг түүний дарааллыг тогтоон баталгаажуулна.

2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ

ҮЛВ-ийн халдвар үхэрт амьдралынх нь турш хадгалагдах учир эсрэг биеийн хариу урвал тогтмол үүснэ. Эсрэг биеийг халдвар авснаас хойш 3-16 долоо хоногт илрүүлэх боломжтой. Эхээс дамжсан эсрэг бие арилах хүртлээ 6 эсхүл 7 сар хадгалагдана. Эхээс дамжсан буюу идэвхгүй эсрэг биеийг жинхэнэ халдварын улмаас үүссэн эсрэг биеэс ялгаварлах боломжгүй. Харин ҮЛВ-ийн провирусийг ПГУ-аар илрүүлэх замаар идэвхтэй буюу жинхэнэ халдвар болохыг баталгаажуулж болно. Эхээс дамжсан идэвхгүй эсрэг бие тугалыг халдвараас хамгаалж байдаг. Эсрэг бие цуснаас уураг сүү рүү шилждэг төллөхийн өмнөх ба дараах үед үнээний ийлдсэнд эсрэг бие 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 gr51 болон p24 уурагт чиглэсэн эсрэг биеийг илрүүлэхэд хамгийн хялбар байдаг. Глико уургийн gr51-ийн эсрэг бие 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 чанараараа ЕЛИЗА ихэвчлэн илүү байна.

ХБНГУ-д байрлах ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториос ЕЛИЗА урвалд хэрэглэх цацраг туяагаар боловсруулж, хөлдөөн хатаасан лавлагааны сул эерэг болон сөрөг ийлдсийг авах боломжтой (Энэ *Газрын амьтны өвчний оношилгоо, вакцины гарын авлагын* Дөрөвдүгээр хэсэг дэх хүснэгтийг үз). Эдгээр ийлдсийг янз бүрийн АГНТУ болон ЕЛИЗА урвалыг хэрэглэн өмнөх лавлагааны ийлдэс болох Е4-тэй харьцуулан баталгаажуулсан "Е05" гэгдэх чанарын баталгаатай ДМАЭМБ-ын лавлагааны ийлдсийг ашиглан 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 шинжлэгдэхүүнээс сорьц авч 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 эсрэг бие 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 эсрэг бие илрүүлэхэд дараах арга тохиромжтой.

2.1.1.1. Шинжлэх арга зүй

i) Хавтангийн үүрийг бүрэх

Хавтангийн бүх үүрийн ханыг бүрэгч буферт урьдчилан шингэлсэн ҮЛВ-ийн эсрэг бие (100 мкл/үүр)-ээр бүрж, хавтанг битүүмжлэн 4°C-д 18 цаг инкубацлана. 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 битүүмжлэн 37°C-д 2 цаг инкубацлана. 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 битүүмжлэн 4°C-д 18 цаг инкубацлана. Угаагч уусмалаар үүрийг дүүргэсэн даруйдаа хоосло маягаар угаалтыг түргэн хийнэ.

iii) Конъюгат болон субстрат бэлтгэх, нэмэх

Үнээний хээлийн 10%-ийн ийлдэс нэмсэн угаагч буферээр урьдчилан шингэлж биотинжүүлсэн эсрэг биеийг бүх үүрэнд (100 мкл/үүр) нэмж, хавтанг битүүмжлэн зайлагч дээр тавьж 37°C-д 1 цаг инкубацлана. Стандарт угаалтыг өмнө дурдсантай адил хийнэ. Пероксидазагаар конъюгатласан авидиныг угаагч буферт урьдчилан шингэлж үүр бүрд (100 мкл/үүр) нэмнэ. Хавтанг битүүмжлэн зайлагч дээр тавьж 37°C-д 30 минут инкубацлана. 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.

2.1.1.2. 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-оос бага байвал дээрх iii дахь шат (конъюгат 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 $\times 0.25$ -аар бага байна.

Хосоор шинжилсэн сорьцын үүр тус бүрийн гэрэл шингээлтийн утга сөрөг дөрвөн үүрний гэрэл шингээлтийн дунджийн $\times 0.5$ 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 $\times 0.65$ утгатай тэнцүү эсхүл илүү байвал дээжийг сөрөг гэж үзнэ.

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

2.1.1.3. Энзим холбоост дархлааны урвалын мэдрэх чанар

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

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

Нийлүүлсэн сүүний сорьцод эсрэг бие илрүүлэхэд дараах арга тохиромжтой.

2.1.2.1. 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, цэцгийгүй, хадгалааслагчгүй сүүгээр шингэлнэ.

2.1.2.2. Шинжлэх арга зүй

- 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 битүүмжилж, зайлагч дээр тавьж холино.
- iv) Хавтанг $2-8^{\circ}\text{C}$ -д 14-18 цаг инкубацлана.
- 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 конъюгатыг үүр бүрд нэмж хавтанг тасалгааны хэмд 90 минут инкубацлана.
- 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. vi, vii дахь шатыг давтана.
- viii) ABTS (2,2'-азино-бис-[3-этилбензотиазол-6-сульфоны хүчил]) субстратаас 200 мкл-ийг нэмж хавтанг тасалгааны хэмд 90 минут харанхуй газар тавьж инкубацлана. Зогсоогч уусмалаас 50 мкл-ийг нэмж урвалыг зогсооно.

2.1.2.3. 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. Хосоор шинжилсэн дээжүүдийн үүрний гэрэл шингээлтийн нийт утгыг гаргаж дундаж утгыг олно. Үүнтэй адилаар хосоор шинжилсэн сул эерэг хяналтын дундаж утгыг олно. Хоёр үүрний гэрэл шингээлтийн утга бие биенээсээ 0.1 нэгж дотор байх ёстой.

Сул эерэг хяналтын нийт гэрэл шингээлтийн дунджилсан утга 0.2-0.6 нэгж байвал шинжилгээг хүчинтэй гэж үзэнэ. 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 = $0.40 \times 0.750 = 0.30$ 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 гелд нэвчин тунадасжих урвал

АГНТУ нь бодгаль малаас авсан ийлдсэнд эсрэг бие 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 эерэг 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 тохирх аргаар 50-100 дахин өтгөрүүлнэ. Энэ өтгөрүүлгийг полиэтилен гликолд дүрсэн Вискингийн гуурсанд өтгөрүүлэх замаар, эсхүл аммонийн сульфатаар тунадасжуулсны дараа маш нарийн шүүлтүүрээр шүүх (*ultrafiltration*) замаар, эсхүл полиэтилен гликолд тунадасжуулсны дараа давсгүйжүүлэн полиакриламидын үрлэн багана ашиглан хэмжээгээр нь салгах замаар хийж болно. Эсрэгтөрөгч нь зонхилон gr51-ийг агуулах боловч p24-ийг бас агуулж болно.

ДМАЭМБ-ын лавлагааны E05 ийлдэсний эсрэг титрлэж дараах байдлаар эсрэгтөрөгчийг gr51 глико уургаар нь стандартчилж болно: хоёр дахин шингэлсэн эсрэгтөрөгчийн бэлдмэлийг бэлтгэнэ. ДМАЭМБ-ын лавлагааны E05 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 арга зүй

- i) Агарыг усан ваннад 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

- BALLAGI-PORDANY A. & BELAK S. (1996). The use of mimics as internal standards to avoid false negatives in diagnostic PCR. *Mol. Cell. Probes*, **10**, 159–164.
- 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 laboratory. *Mol. Cell. Probes*, **7**, 241–248.
- BEYER J., KÖLLNER B., TEIFKE J.P., STARICK E., BEIER D., REIMANN I., GRUNWALD U. & ZILLER M. (2002). Cattle infected 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., BLANKENSTEIN P., LOOMAN A.C., ELWERT J., GEUE L., ALBRECHT C., KURG A., BEIER D., MARQUARDT O. & EBNER D. (1997). Provirus variants of the bovine leukemia virus and their relation to the serological status of naturally infected cattle. *Virology*, **237**, 261–269.
- FECHNER H., KURG A., GEUE L., BLANKENSTEIN P., MEWES G., EBNER D. & BEIER D. (1996). Evaluation of polymerase chain 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 leukemia 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 leukemia virus DNA. *Retrovirology*, **13**, 75.
- JOHNSON R. & KANEENE J.B. (1992). Bovine leukaemia virus and enzootic bovine leukosis. *Vet. Bull.*, **62**, 287–312.
- 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.
- NEKOU EI 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 DNA sequences in the majority of patients with large granular lymphocyte leukaemia. *Br. J. Haematol.*, **109**, 64–70.
- PUNTES R., DE BRUN L., ALGORTA A., DA SILVA V., MANSILLA F., SACCO G., LLAMBÍ 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.

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

ZHANG R., JIANG J., SUN W., ZHANG J., HUANG K., GU X., YANG Y., XU X., SHI Y. & WANG C. (2016). Lack of association 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.oie.int/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.

ЖИЧ: 1991 ОНД АНХ, 2018 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 зэрэгцэн 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 Мавритани, Мали, Гана, Либерид 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 (WAHO/WAHIS) авна уу¹). 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 (Turpurainen нар, 2015).

Арьс товруутах өвчний вирус (АТӨВ) нь *Poxviridae* овгийн *Chordopoxvirinae* дэд овогт хамаарах *Capripoxvirus* (*Каприпоксвирус*)-ийн төрөлд хамаарна. Бусад поксвирусийн адилаар АТӨВ халдвар авсан эсийн цитоплазмд репликацлагдаж, бөөм тойрсон вирусийн өвөрмөц бие үүсгэнэ. Арьс товруутах өвчний вирусийн амьд эсийн гадна орших хэлбэр болох 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) 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 гогцоогоор холбогддог. АТӨВ-ийн геномын төв хэсэгт вирусийн репликац, хэлбэржилтэд 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 кодлоно.

Удам зүйн шинжилгээгээр АТӨ -ий вирусийн дийлэнх омог нэг гарал үүсэлтэй 1.1 ба 1.2 гэсэн хоёр кластерд хуваагдана (Biswas нар, 2020; Van Schalkwyk нар., 2021). 1.1 кластер нь АТӨВ/Ниэтлин/LW-1959 вакцины омгоос (Kara нар 2003; Van Rooyen нар 1959; van Schalkwyk нар 2020) эхтэй АТӨ-ий вирусийн Ниэтлин вакцины омгууд болон Өмнөд Африкийн гаралтай, дээхнэ үеийн зэрлэг омгуудаас бүрдэнэ. Харин 1.2 кластер Африкийн өмнөд хэсэг, Кени болон экватороос хойш орших нутгаас гаралтай зэрлэг омгууд, Кенийн вакцины Kenyan KSGP O-240 омгоос бүрдэнэ. Энэ хоёр кластераас гадна саяхан Орос улс, төв Азийн нутагт дэгдсэн АТӨ-ий эмнэл зүйн тохиолдлоос (Flannery нар 2021; Sprygin нар 2018; 2020; Wang нар 2021) ялган авсан АТӨ-ий рекомбинант омгууд бий. Рекомбинант эдгээр вирус нь АТӨ-ий зэрлэг болон вакцины аль аль омгийг төлөөлөх, зөвхөн тухайн омгийн генд байдаг аллелуудыг агуулсан үл давтагдам онцлогтой ажээ.

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 Channel Island 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) байдаг. 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.

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°C-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, цавинд 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

¹ <https://www.woah.org/en/what-we-do/animal-health-and-welfare/disease-data-collection/>

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 ширхгэнцэрт 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 гэргийж үхэжсэн масс шигдсэн эд агуулах ба ихэвчлэн мөхлөгт эдээр хүрээлэгдэж, аажмаар ширхгэнцэрт 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 & Abouloudb, 2016). Бүх 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 нийлсэн 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 дерматофиллоз, дерматофитоз, үхрийн нокардио, гэрэлд хэт мэдрэмтгий болох, актиномикоз, актинобациллоз, чонон яр, шавжид хазуулах, безнойтоз, нокардио, 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 цэврүүт үрэвсэл зэрэг өвчнөөс ялгаварлан оношилно.

АТӨ хүнд халдварладаггүй. Хэдий тийм ч лабораторийн бүх ажлыг биологийн эрсдэлийн дүн шинжилгээнд тулгуурлан тогтоосон тусгаарлалтын зохих түвшинд гүйцэтгэнэ (1.1.4 *Биоаюулгүй байдал ба биоаюулгалал: Мал эмнэлгийн лаборатори, мал, амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандарт* бүлгийг үз).

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	++	+++	++	+++	+	–
Дамжуулагч электрон микроскоп	–	–	–	+	–	–
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 = полимеразын гинжин урвал;
- ВСУ = вирус саармагжуулах урвал;
- ФЭШБУ = флюоресценц эсрэг биеийн 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 эсрэг бие үүсэхээс өмнө авбал илүү зохистой (Davies, 1991; Davi нар, 1971); гэхдээ арьсанд үүссэн зангилаанаас вирусийг 3-4 долоо хоногт ялгаж авах боломжтой. Энгийн эсхүл бодит цагийн полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ)-аар ген илрүүлэх сорьцыг саармагжуулах эсрэг бие 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 (Turraigainen нар, 2005; Weiss, 1968). Арьс товруутах өвчний вирус цусаар тарах шатанд (эмгэгшил нэлэнхий тархахаас өмнө эсхүл нэлэнхий тархсанаас хойш 4 хоногийн дотор) гепарин эсхүл EDTA (этилен диамин тетра цууны хүчил)-ээр үл бүлэгнүүлж авсан цусны сорьцын цагаан эсийн хөвмөл (бафи коат)-ийг вирус ялгахад мөн ашиглаж болно.

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 сорьц авахдаа эмгэгшсэн хэсгийг эргэн тойрных нь (гэмтэлгүй) эдийг хамруулах ба хамгийн ихдээ 2 см³ 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. Бичил бие бүтцийн судалгааны сорьцыг стандарт арга зүйн дагуу бэлтгэж, гематоксилин-эозины (H&E) 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 (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 (арсны 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 (Faу нар, 2020). Хурганы төмсөг (LT) зэрэг анхдагч эс мөн адил вирусийн ургалтыг дэмждэг боловч үхрийн диарейн вирус гэх мэт вирусийн бохирдолгүй байхад анхаарах шаардлага гардаг. Дээд тунгалаг шингэн хэсэг эсхүл цагаан эсийн хөвмөлөөс 1 мл-ийг авч эсийн өсгөврийн 25 см² эзлэхүүнтэй колбонд 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 үйлчилнэ.

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 захилах 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. Колбонд эс эмгэгшүүлэх нөлөө үүссэн анхны шинж илрэх эсхүл түүнээс арай эрт халдварлуулсан бүрхүүл шил хэрэглэж байгаа бол хэд хэдэн бүрхүүл шил авч ацетонд бэхжүүлж гематоксалин-эозины (Н&Е) будгаар будна. Цитоплазмын доторх зоиноор будагдсан оршихууны бүтэц нь эсийн бөөмийн тал хэртэй янз бүрийн хэмжээтэй, тунгалаг цагаригаар хүрээлэгдсэн байвал поксвирусийн халдвар гэж оношилно. Н&Е-ийн 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 герпесвирус нь бөөмд Коудригийн А хэлбэрийн оршихуун үүсгэдэг. Түүнчлэн нийлсэн эс бас үүсгэдэг байна.

Хонины төмсгийн дамжмал эс (ОА3.Ts)-д каприпоксвирусийн өсгөврийг цааш ургуулж үнэлсэн (Babiuk нар, 2007) боловч энэ дамжмал эс пестивирүсээр бохирдсон болох нь тогтоогдсон тул болгоомжтой хэрэглэх хэрэгтэй.

1.3. Полимеразагийн гинжин урвал

Гельд суурилсан ПГУ-ын доор дурдсан энгийн арга нь EDTA-тай цус, үрийн шингэн, эсхүл эдийн өсгөврийн дээжээс каприпоксвирусийн геномыг илрүүлэх хялбар, түргэн, мэдрэмтгий арга юм (Turpurainen нар, 2005).

1.3.1. Шинжлэх арга зүй

Доор дурдсан ДНХ ялгах аргыг худалдаанд гарсан ДНХ ялгах цомгоор орлуулж болно.

- i) 200 мкл EDTA-тай цус, үрийн шингэн эсхүл эдийн өсгөврийн дээд шингэн хэсгийг хөлдөөн гэсгээсний дараа 5 М гуанидин тиоцианат, 5 mM калийн хлорид, 10 mM Трис/НСI (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. 56°C-д 2 цаг эсхүл хонуут инкубацласны дараа 100°C-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°C-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°C-д 1 цаг байлгасны дараа 4°C-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°C-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°C-д хадгална (Turpurainen 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 боловсруулсан байна. Гарах ампликоны хэмжээ 192 хос суурь байна (Ireland & Bineral, 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 MgCl₂ (50 mM), 1мкл dNTP (10 mM), 1 мкл хөтлөх праймер, 1 мкл буцаах праймер, 1 мкл ДНХ-ийн темплайт (~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°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, сэлгэлт дуустал 4°C.

- vii) 10 мкл дээж бүрийг ачаалагч будагтай хольж, ТАС буфер (EDTA 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 Ниэтлин (Neethling)-д суурилсан АТӨВ-ийн омог болон АТӨВ-ийн кластер 1.2 зэрлэг омгийг хооронд нь ялган илрүүлэх зорилгоор тоон утгаар тодорхойлох бодит цагийн ПГУ-ын шинжилгээний аргыг боловсруулжээ (Agianniotaki нар, 2017; Pestova нар, 2018; Vidanovic нар, 2016). Халдвар авсан болон вакцинжуулсан малыг ялган илрүүлэх шинжилгээ (DIVA) нь тухайлбал кластер 1.2 вирусийн зэрлэг омгийн халдварын улмаас үүссэн өвчнийг АТӨВ-ийн Ниэтлин вакцины омог болон вакцинжуулснаар үүссэн "Ниэтлингийн хариу урвал"-аас ялгаварлан оношлох боломжтой. Гэвч халдвар авсан болон вакцинжуулсан малыг ялган тодорхойлох ПГУ-ын энэ шинжилгээгээр АТӨВ-ийн Ниэтлин вакцины омгийг саяхан Азид гарсан дэгдэлтээс ялгаж авсан шинэ рекомбинант АТӨВ-ийн омог болон вакцинжуулсан малыг ялган илрүүлэх энэ шинжилгээ нь АТӨВ-ийн Ниэтлин вакцины омог болон Өмнөд Африкаас гаралтай саяхан тодорхойлсон (түүхэн) кластер 1.1-т хамаарах зэрлэг омгийн вирусийг хооронд нь ялган илрүүлэх боломжгүй байна (Van Schalkwyk нар, 2020; 2021). Иймээс рекомбинант омог (одоогийн байдлаар Азид, магадгүй өөр бусад газар) эсхүл кластер 1.1 зэрлэг 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 дарааллыг тогтоох нь зүйтэй.

1.4. Дамжуулагч электрон микроскоп

Поксвирусийн амьд эсийн гадна орших хэлбэр болох вирионы өвөрмөц шинж төрхийг сөрөг будалтын аргаар будсаны дараа электрон микроскопоор харж болно. Сөрөг будалтын олон янзын арга зүй байдаг бөгөөд тэдгээрээс нэг жишээг доор оруулав.

1.4.1. Шалгах арга

Хурилдуурдахын өмнө дамжуулагч электрон микроскопоор харж шинжлэх материалыг биопсийн эх цийдмэгээс бэлтгэхдээ пентиламины уураар 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 рН 7.8-тай Трис/EDTA буферт шилжүүлэн 20 секунд байлгаж дараа нь нэг дусал рН 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 ялгагддаггүй ба үхэрт ховор тохиолддог, тархмал халдвар үүсгээд байдаггүй үхрийн цэцэгийн вирус болон вакцина вирусээс бусад ортопоксвирус үхэрт эмгэг үүсгэдэггүй байна. Гэхдээ вакцина вирус дархлаа суларсан тугалд тархмал халдвар үүсгэж болно. Харин ортопоксвирус тэжээвэр одос үхэрт арьсны өвчин үүсгэх нь элбэг бөгөөд ихэвчлэн дэлэн дээр цэврүүт гүвдрүү үүсэх шинж тэмдгээр илэрдэг ч мөн хязан, 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 үргэлжилсэн нэг гуурсанцраар бүрхэгдсэн байдаг. Каприпоксвирус нь хуурамч арьс товруутах өвчин ("Аллертон" эсхүл үхрийн херлес вируст дэлэнгийн үрэвсэл гэгддэг) үүсгэдэг херлесвирусээс мөн ялгагдана.

1.5. Флюоресценц эсрэг биеийн арга

Каприпоксвирусийн эсрэгтөрөгчийг вирус халдварлуулсан бүрхүүл шил эсхүл эдийн өсгөврийн тавиур шил дээр флюоресценц эсрэг биеийн аргаар 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 конъюгат шууд бэлтгэж болно. Эсрэг бие 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. Иммуногистохимийн арга

Зориудын халдвар хийсэн үхрийн арьсанд каприпоксвирусийн ORF 057-д өвөрмөц F80G5 ижил гарлын эсрэг биеийг ашиглан АТӨВ-ийн эсрэгтөрөгч илрүүлэх иммуногистохимийн 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; Mugaу нар, 2013). Das нарын боловсруулсан LAMP аргыг цааш баталгаажуулсан талаар нийлэгдсэн байна (Omoga нар, 2016)

2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ

Каприпоксвирусийн төрлийн бүх вирус нь саармагжуулах эсрэг бие 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 титрийн (100 TCID₅₀ [эдийн өсгөвөрт халдварлуулах 50%-ийн тун]) эсрэг титрлэх эсхүл саармагжуулах индексийг тооцоолох зорилгоор шинжлэх ийлдэсний тогтмол шингэлэлтийн эсрэг вирусийн стандарт омгийг титрлэж болно. Каприпоксвируст эдийн өсгөврийн мэдрэх чанар янз бүр байхаас гадна хавтангийн үүрийг 100 TCID₅₀/үүр хэмжээг нарийн барьж олон дахин цэнэглэх нь төвөгтэй байдаг тул ихэнх лаборатори хэдийгээр их хэмжээний шинжилгээний ийлдэс шаардагддаг ч саармагжуулах индексийн аргыг хэрэглэхийг чухалчилдаг. 96 үүртэй хавтгай ёроолтой эдийн өсгөврийн зориулалтын бичил титрийн хавтан ашиглан урвал тавих аргыг энд тодорхойлов. Урвалыг эсийн өсгөврийн цодонд эзлэхүүнийг нь тохируулан өөрчлөөд мөн адил явуулж болох боловч эсийн өсгөврийн цодонд урвалын төгсгөлийн цэгийн титрийг уншихад илүү төвөгтэй байдаг юм.

2.1.1. Шинжлэх арга зүй

- 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 титрийн 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 log₁₀ 6 TCID₅₀-аас дээш титртэй каприпоксвирусийн лавлагаа омог (ихэвчлэн эдийн өсгөвөрт сайн ургадаг вакцины омог)-ыг нэг мл тутамд log₁₀ 5.0, 4.0, 3.5, 3.0, 2.5, 2.0, 1.5 TCID₅₀-тай (50 мкл тутамд log₁₀ 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 титрээр шингэлсэн вирусийн бэлдмэл А мөрөнд хийгдэнэ.
- v) Хавтанг бүрхэж 37°C-д 1 цаг инкубацлана.
- vi) Тохирох эсийн цийдмэг (MDBK эс зэрэг)-ийг антибиотик, үнээний хээлийн ийлдэс 2%-иар агуулсан Ийглийн тэжээлт орчинд 10⁵ эс/мл цийдмэг болгон урьдчилан ургуулсан дан үе эсээс бэлтгэнэ. Бичил титрийн хавтанг инкубацласны дараа тэжээлт орчны хяналт болгон ашиглах H11 ба H12 үүрнээс бусад бүх үүрэнд 100 мкл эсийн цийдмэгийг нэмнэ. Н мөрний үлдсэн үүрийг эс болон ийлдэсний хяналтаар ашиглана.
- vii) Бичил титрийн хавтанг бүрхэж 37°C-д 9 хоног инкубацлана.

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 титрлэлт бүрийн вирусийн титрийг Kärber-ийн аргаар тооцоолно. Хэрэв удаан орхивол вирус эхлээд саармагжих, эсрэг биеэс салах байдлаар эсэд гэнэтийн өөрчлөлт гарна.

ix) *Үр дүнг үнэлэх:* Саармагжуулах индексийг сөрөг ийлдэс болон шинжилсэн ийлдэс дэх вирусийн титр хоорондын лог титрийн зөрүүгээр үнэлнэ. ≥ 1.5 индексийг эерэг гэж үзнэ. Нэг малаас халдварын өмнө болон дараа нь ийлдэс авч шинжилбэл урвалын мэдрэх чанар нэмэгдэнэ. Каприпоксвирусийн эсрэг дархлаа ихэвчлэн эсээр дамжин үүсэх тул ийлдсийн шинжилгээгээр сөрөг үр дүн үзүүлэх, ялангуяа вакцинжуулалтын дараа эсрэг биеийн хариу урвал бага байж болох тул тухайн ийлдэс авч шинжилсэн малыг дархлааны хамгаалалтгүй байна гэж үзэж болохгүй.

Каприпоксын эсрэг биеийг эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрснээс хойш 1-2 хоногт тодорхойлж болно. Эсрэг бие 7 сар хүртэл илэрсээр байх болно.

2.2. Энзим холбоост дархлааны урвал

Каприпоксвирусийн эсрэг бие илрүүлэх энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА) нь нийтлэг хэрэглэгддэг арга бөгөөд урвалжууд нь цомог хэлбэрээр худалдаанд гарчээ (Milovanovic нар, 2019; Samojlovic нар, 2019).

2.3. Флюоресценц эсрэг биеийн шууд бус арга

Каприпоксвирусээр халдварлуулж бүрхүүл шил дээр ургуулсан эдийн өсгөвөр эсхүл микроскопын тавиур шил дээрх эдийн өсгөврийг флюоресценц эсрэг биеийн 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 конъюгатласан үхэр-эсрэг гамма-глобулинаар илрүүлнэ. Халдварын дараа эсрэг биеийн титр 1/1000-аас илүү гарч болно. Ийлдсийг 1/50, 1/500 титртэй 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 эсрэг биеийг 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 глицинийн 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 гелд салгасан уургийг электрофорезын аргаар нитроцеллюлозын мембранд шилжүүлнэ. Шилжүүлсний дараа нитроцеллюлозын мембраныг фосфатын буфержүүлсэн давсны уусмал (ФБУ)-аар сайтар зайлж, ФБУ-д уусгасан 3%-ийн үхрийн ийлдэсний альбумин (YIA) 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 гар аргаар тууз болгон зүсээд тууз бүрийг тус тусад нь инкубацлана. Нитроцеллюлозын мембраныг эргэлдүүлэн зайлагч дээр тавьж ФБУ-ыг 5 минутаар таван удаа сольж сайтар угаасны дараа саатуулагч буфер (ФБУ-д уусгасан 3%-ийн YIA, 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 инкубацлана. Мембраныг дахин сайтар угааж, шингэлэлтийг нь титрлэлтээр тогтоосон мал, амьтны зүйл-эсрэг иммуноглобулин тунхууны-пероксидаза-конъюгаталсан иммуноглобулин бүхий саатуулагч буферт инкубацлана. Тасалгааны хэмд 1.5 цаг үргэлжлүүлэн инкубацласны дараа мембраныг угааж, диаминобензидин тетрагидрохлоридын уусмал (50 мл-т 10 мг pH 7.5-тай 50 мМТрис/HCl, 20 мкл 30%-ийн [v/v] устөрөгчийн хэт исэл) нэмнэ. Зайлагч дээр тасалгааны хэмд ойролцоогоор 3-7 минут байнга ажиглан инкубацласны дараа дэвсгэр

өнгө хэт тодрогоос 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

Каприпоксвирусийн амьд сулруулсан омгийг ялангуяа арьс товруутах өвчинтэй тэмцэх зорилгоор хэрэглэж ирсэн байна (Brenner нар, 2006; Capstick & Coakley, 1961; Carn, 1993). Каприпоксвирусийн төрлүүд хоорондоо солбицох урвалд ордог учраас хонь, ямаанаас гаргаж авсан каприпоксвирусийн омгийг хэрэглэж үхрийг арьс товруутах өвчнөөс хамгаалах боломжтой (Coakley & Capstick, 1961). Хэдий тийм ч үхэрт тэр бүр хэрэглэдэггүй вакцины омгийг хэрэглэхийн өмнө хамгийн мэдрэмтгий үүлдэр дээр хяналт бүхий туршилт хийхийг зөвлөдөг. Арьс товруутах өвчний вакцинжуулалтын үр дүнд үүсэх хамгаалалтын хугацаа тодорхойгүй байна.

Bos taurus зүйлийн үхэрт Каприпоксвирусийн омгуудаар бэлтгэсэн вакцин тарьсан газарт хэсэг газрын хүчтэй хариу урвал үзүүлдэг (Davies, 1991) тул үүнд малын зарим эзэд таагүй ханддаг. Хэдийгээр АТӨ-ий дэгдэлтийн үр дагавар мэдээж ямагт илүү ноцтой байдаг ч энэ хандлага вакцины хэрэглээ буурахад нөлөөлсөн байна. Иймд сонирхогч талуудыг оролцуулсан хэлэлцүүлгийн дараа вакцинжуулалтын эрсдэл-үр ашгийг үнэлэх хэрэгтэй.

2. Уламжлалт вакцин үйлдвэрлэлийн тойм, 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 эх омог бүрд түүний гарал үүсэл, өсгөвөр, эдийн өсгөвөр эсхүл мал, амьтнаар зорчуулсан түүхийг тодорхой, үнэн зөв тодорхойлсон бүртгэлийг дагалдуулна. Каприпоксвирусийн зүйл, омгийн шинж чанарыг ПГУ эсхүл ДНХ дараалал тогтоох аргаар тогтоохыг эрхэмлэнэ.

Вакцины вирусийн эх омгийг тодорхой хэмжээгээр бэлтгэн хөлдөөж эсхүл хатааж -80°C зэрэг нам температурт хадгалан вакциныг тогтмол үйлдвэрлэж байхад хэрэглэх ажлын тогтвортой эх омгийг бэлтгэхэд хэрэглэнэ.

Мастер эх омог тус бүр халдвар дамжуулдаггүй, эдийн өсгөврөөр цааш зорчуулахад анх сулруулсан хэвээрээ байж, хоруу чанартай хээрийн омгоор халдвар хийхэд нэгээс доошгүй жилийн хугацаанд бүрэн хамгаалж байх ёстой. Эх омог нь үхэрт зөвлөсөн замаар олгоход эмнэл зүйн хариу урвал хамгийн бага үүсгэх ёстой.

Шаардагдах аюулгүй чанар болон идэвхийн шалгалтыг В.2.2.4 *Эцсийн бүтээгдэхүүний цувралын шалгалт* бүлэгт оруулав.

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

Эх омог бүрд түүнийг ялган таних, түүнчлэн хөндлөнгийн вирус, ялангуяа хилийн өвчний вирус, үхрийн диарейн вирус зэрэг пестивирүс агуулаагүй, бактери, мөөгөнцөр эсхүл микоплазмаар бохирдоогүй болохыг тогтоох шинжилгээ хийнэ.

Ариун чанар эсхүл цэвэршилтийн шалгалт хийх ерөнхий аргачлалыг 1.1.9. *Мал эмнэлгийн зориулалтаар хэрэглэх биологийн материалын ариун чанар, бохирдоогүй болохыг шалгах* бүлэгт оруулав.

2.2. Үйлдвэрлэлийн арга

Үйлдвэрлэлийн аргыг үйлдвэрлэлийн тойм маягаар боловсруулж баримтжуулна.

2.2.1. Үйлдвэрлэлийн явц

Вакцины цувралыг MDBK зэрэг тохирох дамжмал эс ашиглан үйлдвэрлэнэ. Эх вирус бүхий цодонг шаардагдах тоогоор авч GMEM эсхүл бусад тохирох тэжээлт орчноор уусган сэргээж,

дан үе эсэд халдварлуулна. Эсийг 3-4 хоногийн дараа, эс эмгэгшүүлэх нөлөө 50-70%-д хүрсэн үед эсхүл хэрэв эс эмгэгшүүлэх нөлөө эрчимтэй явагдаж, эс салахад бэлэн болсон тохиолдолд түрүүлж хурааж авна. Хэт авиагаар үйлчлэх эсхүл олон дахин хөлдөөх-гэсгээх зэрэг аргаар эсийн доторх вирусийг цитоплазмаас чөлөөлнө. Үүний дараа эсийн үлдцийг зайлуулахын тулд эсийн задардасыг тунгалагжуулна (жишээ нь 600 g-д 20 минут хурилдуурдаж, дээд шингэн хэсгийг авч үлдэнэ). Вакцины цуврал үйлдвэрлэлд ашиглах хангалттай хэмжээний вирус үйлдвэрлэхийн тулд вирусийн хоёр дахь зорчуулалт хийх шаардлага гарч болно.

Вирусийн цийдмэгийн жижиглэн тасалж хуваасан хэсгийн вирусийн титрийг шалгах зорилгоор титрлэнэ. Вирус агуулж буй цийдмэгийг ижил хэмжээний ариун, хөргөсөн 5%-ийн лактальбумины задраг, 10%-ийн сахароз (давхар нэрмэл ус эсхүл тохирох тэнцвэржүүлсэн давсны уусмалд уусгасан) зэрэг тохирох хамгаалагч бодистой хольж тус бүрийг нь дугаарласан тохирох саванд хийж -80°C зэрэг нам температурт эсхүл хөлдөөн хатааж хадгална. Вакцины цуврал бүрийн үйлдвэрлэлийн үйл явцыг бичиж баримтжуулан хадгална.

2.2.2. Субстрат, тэжээлт орчинд тавих шаардлага

Үйлдвэрлэлд хэрэглэж буй бүх бодисын техникийн тодорхойлолт, эх үүсвэрийг баримтжуулж, гаднын зүйл (бактери, мөөгөнцөр, микоплазм, вирус) агуулаагүй болохыг шалгана. Шалгах дэлгэрэнгүй арга зүйг 1.1.9 дүгээр бүлэгт оруулав. Антибиотикийг түүнийг хэрэглэх зөвшөөрөл олгодог эрх бүхий байгууллагын шаардлагыг мөрдөн хэрэглэнэ.

2.2.3. Үйлдвэрлэлийн явцын хяналт

i) Эс

Эх эсийн нөөцийн эх үүсвэрийн бүртгэл хөтөлнө. Вакцин үйлдвэрлэхэд хэрэглэж болох эсийн хамгийн олон ба цөөн зорчуулалтын тоог үйлдвэрлэлийн тоймд заавал зааж өгнө. Вирусийн омог зөвхөн анхдагч эсэд ургадаггүй л бол дамжмал эсийг (MDBK гэх мэт) хэрэглэх нь зохимжтой. Анхдагч эстэй харьцуулахад дамжмал эсийн гол давуу тал нь гаднаас элдэв зүйл нэвтэрч орж ирэх эрсдэл бага байдаг.

ii) Ийлдэс

Өсгөвөрлөх болон хадгалах тэжээлт орчинд хэрэглэх ийлдэс каприпоксвирусийн эсрэг бие агуулаагүй, пестивирүс болон бусад вирус, гаднын бактери, микоплазм, мөөгөнцрийн бохирдолгүй байна.

iii) Тэжээлт орчин

Хэрэглэхийн өмнө тэжээлт орчныг ариутгасан байна.

iv) Вирус

Эх вирус болон бэлэн болсон вакциныг заавал титрлэх бөгөөд эдгээр нь үйлдвэрлэгчийн тогтоосон хамгийн бага титрийн шаардлагыг хангасан байх хэрэгтэй. Жишээ нь Өмнөд Африкийн Ниедлин (Neethling) омгийн вакцины хамгаалалтын хамгийн бага тун нь $\log_{10} 2.0 \text{ TCID}_{50}$ боловч хээрийн зөвлөсөн хамгийн бага тун нь $\log_{10} 3.5 \text{ TCID}_{50}$ байдаг (Mathijs нар, 2016). Каприпоксвирус нарны гэрэлд ч идэвхээ алдаж болохоор маш мэдрэмтгий учир хээрийн нөхцөлд вакцины идэвхийг алдагдуулахгүй байхад анхаарна.

Румыны хонины цэцэгийн вакцины үхэрт зөвлөсөн хээрийн тун нь $\log_{10} 2.5$ хонь халдварлуулах тун (SID_{50}), харин Румыны хонины цэцэгийн вакцины RM65-д тохирох омгийн үхэрт зөвлөсөн тун нь $\log_{10} 3 \text{ TCID}_{50}$ (Coakley & Capstick, 1961) байдаг.

2.2.4. Эцсийн бүтээгдэхүүний цуврал шалгах

i) Ариун чанар/цэвэршилт

Вакцины дээжийн ариун чанар/цэвэршилтийг заавал шалгана. Шалгах аргачлалыг 1.1.9. *Мал эмнэлгийн зориулалтаар хэрэглэх биологийн материалын ариун чанар, бохирдолгүй болохыг шалгах* бүлгээс лавлаж болно.

ii) Аюулгүй чанар ба үр нөлөө

Вакцинжуулсан малд зориудаар халдвар хийж шалгадаг статистикийн хувьд хүчинтэй судалгааг АТӨВ-д мэдрэмтгий, ийлдсийн шинжилгээгээр сөрөг урвалтай, сүүний чиглэлийн залуу үхэрт хийж үр нөлөө, аюулгүй чанарыг нотлон харуулна. Доор дурдсан бүлгийн тоог статистик үндэслэлтэй бол өөрчилж болно. Арван таван үхрийг чанд тусгаарлалттай малын байранд маллаж цаашид ийлдэсний сорьц авч шинжилнэ.

Хөлдөөн хатаасан таван цодон вакциныг санамсаргүй байдлаар сонгож ариун ФБУ-аар уусган сэргээсний дараа нийлүүлж холино. Хоёр үхэрт вакцины хээрийн тунгаас 10 дахин их тунгаар, найман үхэрт хээрийн тунгаар тус тус тарина. Үлдсэн таван үхрийг вакцин тарилгүйгээр хяналтад байлгана. Эдгээр үхэрт өдөр бүр эмнэл зүйн үзлэг хийж, биеийн халууныг шулуун гэдсээр хэмжиж тэмдэглэнэ. Вакцин тарьснаас хойш 21 хоногийн дараа дахин ийлдэсний сорьц авч каприпоксвирусийн хоруу чанартай омгоор үхрийг халдварлуулна. Халдварлуулах вирус бүхий уусмал нь өөр вирус агуулаагүй болохыг шалгаж баталгаажуулна. Эмнэл зүйн хариу урвалыг дараагийн 14 хоногийн турш тэмдэглэнэ. Вакцинжуулаагүй хяналтын бүлгийн үхэрт арьс товруутах өвчний эмнэл зүйн ердийн шинж тэмдэг илрэх ба харин вакцин тарьсан бүлэгт вакцин тарьсан газрын арьс товойхоос өөр хэсэг газрын болон эрхтэн тогтолцоог хамарсан хариу урвал илрэхгүй. Үүссэн энэ товгор 4 хоногийн дотор арилна. Вакцин тарьснаас хойш 30 хоногийн дараа ийлдэсний сорьцыг дахин авна. Вакциныг бохирдуулсан байж болзошгүй гэж үзсэн вирусийн гаралтай өвчин үүсгэгчийн эсрэг бие ийлдсэнд байгаа эсэхийг 21 дэх хоногийн ийлдэсний сорьцод шалгаж 0 болон 30 дахь хоногт авсан ийлдсийн сорьцынхтой харьцуулж пестивирүсийн эсрэг бие байхгүй болохыг баталгаажуулна. Үхэрт арьсны товруут өвчний зориудын халдвар хийхэд янз бүрийн хариу урвал илэрдэг тул вакцинжуулаагүй хяналтын бүх үхэрт тархмал халдварын шинж тэмдэг ажиглагдахгүй боловч хэсэг газрын хариу урвал илэрнэ.

Вакцин үйлдвэрлэхэд ашиглаж байгаа тухайн омгийн үр нөлөөг дархлаа тогтооход шаардагдах хамгийн бага тунгаар тодорхойлж, тухайн үеийн вирусийн титрийг тогтоосон тохиолдолд эцсийн бүтээгдэхүүний цуврал бүрийн үр нөлөөг шалгах шаардлагагүй.

iii) Цувралын идэвхийг шалгах

Хэрэв дархлаа тогтоох хамгийн бага тун тодорхойгүй бол каприпоксвирусийн вакцины омгийн идэвхийг үхэрт шалгана. Шалгалтыг ихэвчлэн вакцин тарьсан болон хяналтын амьтны цавины урд талын хэвлийн тууш булчинд халдвар хийсэн хоруу омгийн титрийг харьцуулах замаар хийнэ. Вакцин тарьсны дараа наад зах нь гурван амьтныг хяналтын гурван амьтны хамт сонгож цавины урд талын хэвлийн тууш булчингийн үсийг хусна. Халдвар хийх вирусийг ариун ФБУ-д 10-тын зэрэг (Log_{10})-ээр 6 цэгээр шингэлэн бэлтгэж, шингэлэлт тус бүрийг 0.1 мл-ээр цавины урд талын хэвлийн тууш булчингийн дагуу арьсан дор тарина; шингэлэлт тус бүрээс дөрвөн удаа 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. Вакцин тарьсан болон хяналтын амьтанд халдварын вирусийн титрийг тооцохдоо: титрийн зөрүү нь $>\text{log}_{10} 2.5$ байвал хамгаалж байгаагийн нотолгоо гэж үзнэ.

2.3. Зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага

2.3.1. Аюулгүй чанарт тавих шаардлага

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

Вакцин нь түүнийг хэрэглэхээр заасан бүх үүлдрийн үхэр, тэр дундаа өсвөр, хээлтэй малд аюулгүй байна. Түүнчлэн вакцинаас халдвар дамжихгүй, эсийн өсгөвөрт цааш зорчуулахад хоруу чанар нь сул хэвээрээ байх ёстой.

Цуврал бүрийн эцсийн бүтээгдэхүүний аюулгүй чанарын шалгалтыг В.2.2.4 дүгээр бүлэгт заасны дагуу хийнэ.

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 нь үхрийн популяцид байнга хадгалагдахгүй байх ёстой. АТӨ-ий вирусийн омог нь хүний эрүүл мэндэд аюулгүй байна.

2.3.2. Үр нөлөөнд тавих шаардлага

i) МАА-н үйлдвэрлэлд

Вакцины үр нөлөөг вакцин тарьсан амьтанд лабораторийн нөхцөлд халдвар хийж шалгах статистикийн хувьд хүчин төгөлдөр аргаар нотлон харуулна. Статистикийн хувьд хэрэв

үндэслэлтэй гэж үзвэл туршилтын бүлэгт байх амьтны тоо янз бүр байж болно. Том малын маш чанд тусгаарлалттай байранд арван таван үхэр маллаж цаашид цусны сорьц авч шинжилнэ. Хөлдөөн хатаасан вакцинаас тавыг санамсаргүй байдлаар сонгоод ариун ФБУ-аар уусган сэргээж хооронд нь нийлүүлнэ. Хээрийн тунг 10 дахин өсгөсөн тунгаар вакциныг хоёр үхэрт тарьж найман үхрийг хээрийн ердийн тунгаар тарина. Үлдсэн таван үхрийг вакцин тарилгүй хяналтад авна. Үхэрт өдөр бүр эмнэл зүйн үзлэг хийж шулуун гэдсээр температурыг хэмжин тэмдэглэнэ. Вакцин тарьснаас хойш 21 дэх хоногт үхрээс цусны сорьц дахин авч каприпоксвирусийн хоруу чанартай тогтсон омгоор хураагуур судсаар болон арьсан дор тарьж халдвар хийнэ (халдвар хийх вирусийн омгийг шалгаж өөр вирус агуулаагүй болохыг нотлон харуулна. Дараагийн 14 хоногт эмнэл зүйн хариу урвалыг ажиглаж тэмдэглэнэ. Хяналтын бүлгийн малд АТӨ-ий эмнэл зүйн шинж тэмдэг тод илэрч байхад вакцин тарьсан малд вакцин тарьсан хэсэг газар товойгоод 4 хоноод арилахаас өөр хэсэг газрын болон тогтолцооны хариу урвал илрэхгүй байх ёстой. Ийлдсийн сорьцыг вакцин тарьснаас хойш 30 хоногийн дараа дахин авна. 21 дэх хоногт авсан ийлдсэнд вакциныг бохирдуулсан байж болзошгүй гэж үзсэн өвчний вирусийн эсрэг бие байгаа эсэхийг шалгаж 0 ба 30 хоногт авсан сорьцынхтой харьцуулж пестивирүсийн эсрэг бие байхгүй болохыг баталгаажуулна. Үхэрт арьс товруутах өвчний зориудын халдвар хийхэд янз бүрийн хариу урвал илэрдэг тул вакцинжуулаагүй хяналтын бүх үхэрт тархмал халдварын шинж тэмдэг ажиглагдахгүй боловч хэсэг газрын хариу урвал хүчтэй илэрнэ.

Вакцин үйлдвэрлэхэд ашиглаж байгаа тухайн омгийн идэвхийг дархлаа тогтооход шаардагдах хамгийн бага тунгаар тодорхойлсон, тухайн үеийн вирусийн титрийг тогтоосон тохиолдолд эцсийн бүтээгдэхүүний цуврал бүрийн идэвхийг шалгах шаардлагагүй.

ii) Өвчинтэй тэмцэх, устгах арга хэмжээнд

Энэ өвчин эндемик байдлаар дэгдэж байгаа улс оронд АТӨ-тэй тэмцэх цорын ганц үр дүнтэй арга нь вакцинжуулалт бөгөөд энэ нь эндемик бус оронд гарсан дэгдэлтэд ч мөн адил хэрэгтэй болохыг энэ өвчин саяхан гарсан Зүүн Европ, Балканы орнуудын туршлага харуулав. Хэдийгээр зарим вакцины тухайд халдвар авсан болон вакцин тарьсан малыг ялгаварлах ПГУ-г хязгаарлагдмал хүрээнд хэрэглэж байгаа ч харамсалтай нь халдвар авсан болон вакцин тарьсан малыг ялгаварлах жишиг хяналтын бэлдмэл бүхий вакцин хараахан гараагүй байна.

АТӨ-ий вирусийн вакцины омгийн үүсгэх дархлааны үргэлжлэх хугацааг хараахан тогтоогоогүй байна.

2.3.3. Тогтвортой чанар

Бүх вакцинд эхлээд 24 сарын хүчинтэй хугацаа өгдөг ба улмаар тодорхой хугацаанд вакцины тогтворшлыг шалгаж түүний хүчинтэй бодит хугацаа зөв эсэхийг баталгаажуулна. Вакцины тогтворшлыг тодорхойлохын тулд вакцины цувралуудын титрийг хүчинтэй хугацааных нь дотор үе үе дахин тогтоож байх хэрэгтэй.

Зохих ёсоор зөв хөлдөөн хатаасан АТӨВ-ийн вакцин, ялангуяа сахароз, лактоальбуман зэрэг бодисоор хамгаалсан вакциныг -20°C -д хадгалахад 25 жилээс дээш, 4°C -д хадгалахад 2-4 жил тогтвортой байна. Дээрхээс өндөр температурт хадгалахад тогтвортой байсан нотолгоо байдаг ч түүнийг урт хугацаанд шалгаж туршсан мэдээ байхгүй. Хөлдөөн хатаах бэлдмэлд сахароз, лактоальбумин зэрэг хамгаалагч бодисоос бусад хадгалааслагч шаардлагагүй.

3. Биотехнологид суурилсан вакцин

Цэцэг өвчний шинэ үеийн вакциныг хөгжүүлж байгаа бөгөөд давхар хамгаалалт үүсгэх боломжтой хивэгч малын бусад эмгэг төрүүлэгчийн дархлааны хамгаалалтын уургийг экспреслэх, түгээх (Boshra нар, 2013; Wallace & Viljoen, 2005), мөн түүнчлэн дархлааны илүү хүчтэй хариу урвалыг өдөөдөг дархлаа дэмжих генийг онилон (Kara нар, 2018) энэ ажилдаа АТӨ-ий вирусийг вектор болгон ашиглаж байна.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

AGIANIOTAKI E.I., CHAINTOUTIS S.C., HAEGEMAN A., TASILOUDI 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,
- BYADOVSKAYA O., PESTOVA Y., KONONOV A., SHUMILOVA I., KONONOVA S., NESTEROV A., BABIUK S. & SPRYGIN A. (2021). Performance of the currently available DIVA real-time PCR assays in classical and recombinant lumpy skin disease viruses. *Transbound. Emerg. Dis.*, 68, 3020–3024. doi: 10.1111/tbed.13942. Epub 2021 May 13. PMID: 33253485.
- 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.
- BOSHRA H., TRUONG T., NFON C., GERDTS V., TIKOO S., BABIUK L.A., KARA P., MATHER A., WALLACE D. & BABIUK S. (2013). Capripoxvirus-vectored vaccines against livestock diseases in Africa. *Antiviral Res.*, 98,
- 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.
- CAPSTICK P.B. & COAKLEY W. (1961). Protection of cattle against lumpy skin disease. Trials with a vaccine against Neethling type infection. *Res. Vet. Sci.*, 2, 362–368
- CARN V.M. (1993). Control of capripoxvirus infections. *Vaccine*, 11, 1275–1279.
- 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.
- COAKLEY W. & CAPSTICK P.B. (1961). Protection of cattle against lumpy skin disease. Factors affecting small scale production of tissue culture propagated virus vaccine. *Res. Vet. Sci.*, 2, 369–371.
- 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.
- 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
- HAIG D. (1957). Lumpy skin disease. *Bull. Epizoot. Dis. Afr.*, 5, 421–430.
- 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.
- KARA P.D., MATHER A.S., PRETORIUS A., CHETTY T., BABIUK S. & WALLACE D.B. (2018). Characterisation of putative immunomodulatory gene knockouts of lumpy skin disease virus in cattle towards an improved vaccine. *Vaccine*, 36, 4708–4715. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.06.017.
- KITCHING R.P. & SMALE C. (1986). Comparison of the external dimensions of capripoxvirus isolates. *Res. Vet. Sci.*, 41, 425–427.
- 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.

- MATHIJS E., VANDENBUSSCHE F., HAEGEMAN A., KING A., NTHANGENI B., POTGIETER C., MAARTENS L., VAN BORM S. & DE CLERCQ K. (2016). Complete Genome Sequences of the Neethling-Like Lumpy Skin Disease Virus Strains Obtained Directly from Three Commercial Live Attenuated Vaccines. *Genome Announc.*, 4 (6). pii: e01255-16. doi: 10.1128/genomeA.01255-16.
- 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.
- 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. & ABOULSOUD 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., LOZOVY 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,
- 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
- WALLACE D.B. & VILJOEN G.J. (2005). Immune responses to recombinants of the South African vaccine strain of lumpy skin disease virus generated by using thymidine kinase gene insertion. *Vaccine*, 23, 3061–3067.
- WEISS K.E. (1968). Lumpy skin disease. *Virol. Monogr.*, 3, 111–131.

ЖИЧ: Арьс товруутах өвчнийг 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>).

Арьс товруутах өвчнийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлагаа лабораториудтай холбогдож авна уу.

ЖИЧ: 1989 ОНД АНХ, 2023 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

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, хортой 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, гадуур шамархайд агуулагдах салслаг шүүрэл, халдвартай гүүний үтрээний салсанд байдаг учраас энэ өвчин эвцэлдүүлгийн явцад азарганаас гүүнд халдварлах нь илүү нийтлэг боловч гүүнээс азарганд халдварлах нь бас бий. Эхэн үедээ энэ шимэгч шинээр халдвар авсан амьтны салст бүрхэвчийн гадаргуу эсхүл эпителийн эсүүдийн хооронд сул орших ба цаашаа эдэд нэвтэрч үржлийн эрхтний замд хавагнасан товгорууд 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; Nagos 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 эдгэрэх тохиолдол бий. 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 өвчлөхгүй өнгөрнө.

Өвчин үргэлжлэх хугацаанд үржлийн эрхтний замд трипаносом байнга байгаад байдаггүй учраас халдвар авсан амьтан эвцэлдүүлэгт 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) иммунистохимийн 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 илэрнэ. 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. Энэ өвчнөөр амьтан өвчилж үхсэн тохиолдлоос дүгнэвэл өвчний явц удаан, тэжээлийн дуршил ямагт сайн байдаг байсан ч цус багасах, эцэж турах нь даамжирсаар үхдэг байна.

Үхсэний дараах задлан шинжилгээгээр арьсан доорх эслэгт цэлцэгнүүр маягийн шүүдэс илэрнэ. Азарганд хуухнаг, шамархай, төмсгийн ширхэглэг холбогч эд зузаарч нэвчдэс үүссэн байна. Зарим тохиолдолд төмсөг жижгэрч хатууран тэмтрэгдэхээргүй болсон байдаг. Гүүний үтрээний үүдэвч, үтрээний салст бүрхэвч, сав, давсаг, дэлэн цэлцэгнүүр 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 байдаг.

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Нийлүүлгийн 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)						
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 эсрэг биеийн шууд бус урвал;
- ЕЛИЗА = энзим холбоост дархлааны урвал;
- ИХС = иммунохроматографын сорил

^(a) үүсгэгчийг ялган таних төрөл бүрийн шинжилгээг эмнэл зүйн нэг ижил сорьцод хийнэ.

1.1. Шимэгч судлалын арга зүйн тойм

Эмнэл зүйн шинж тэмдгийг зөв таньж, шимэгчийг илрүүлэн харуулж, эвцэлдүүлгээр халдвар дамжсаныг нотолбол өвчний онош баталгаатай тогтоогдоно. Гэвч ийм тохиолдол ховор юм. Учир нь: (a) эмнэл зүйн шинж тэмдэг, эмгэг хувиралт нь өвчин нэлээд лавширсан үед л өвөрмөц байдаг

учраас тэдгээрийг ялангуяа өвчний эхэн болон нууц үед тэр бүр онож илрүүлж чаддаггүйгээс гадна эвцэлдүүлгээс үүссэн арьсны тууралт эсхүл *T. evansi* зэрэг бусад трипаносомоор үүссэн халдварын үеийн шинж байдалтай андуурагдах боломжтой (Büscher нар, 2019); (б) амьтны бие дэх трипаносомын тархалт ихэвчлэн сийрэг байдаг учир 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) саявтар ялган авчээ (Nagos 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 хусах болон угаах аргаар 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 арга зэрэг баяжуулалтын аргыг 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 шалгуураар 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 митохондрий 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. Магадлахаар 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 глико уургийн 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 Төрөл бүрийн амьтны Су-аура [*Trypanosoma evansi* халдвар]-ыг үз). *Trypanozoon* дэд төрлийн шимэгч илрүүлэх өндөр мэдрэмтгий бодит цагийн ПГУ-аар нийлүүлгийн өвчний байгалийн халдвар авсан адууны эд, шингэний дээжийг шинжлэхэд уг шимэгчийг цөөн тоотой байлаа ч илрүүлэх боломж олгодог (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	Лавлагаа
177 bp repeats	TBR1: GAA-TAT-TAA-ACA-ATG-CGC-AG TBR2: CCA-TTT-ATT-AGC-TTT-GTT-GC	164bp	Masiga нар, 1992
177 bp repeats	Tb177F: AAC-AAT-GCG-CAG-TTA-ACG-CTA-T Tb177B: ACA-TTA-AAC-ACT-AAA-GAA-CAG-CGT-TG	134 bp	Becker нар, 2004; Pascucci нар, 2013
18S rDNA	M18SF: CGT-AGT-TGA-ACT-GTG-GGC-CAC-GT M18SR: ATG-CAT-GAC-ATG-CGT-GAA-AGT-GAG M18SP: TCG-GAC-GTG-TTT-TGA-CCC-ACG-C-MGB-VIC	150 bp	Benfodil нар, 2020

2. Ийлдэс судлалын арга

Халдвар авсан амьтанд эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрсэн эсэхээс үл хамааран шингэний дархлаа 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 болон эмнэл зүйн оношилгооны зорилгоор флюоресцент эсрэг биеийн 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 хэд хэдэн 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* and *T. Evansi*-тай ойр хамааралтай. Энэ дэд төрөлд хамаарах бүх трипаносомын эсийн араг яс нэг ижил тогтмол элементээс тогтох учир 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 эсрэг биеийг 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 эсрэг биеийг гарган авах шаардлагатай.

2.1. Хавсарга холбох урвал

Стандарт эсхүл бичил хавтангийн арга хэрэглэнэ. Усан гахайн ийлдсийг (худалдаанд бий) хавсарга болгон ашиглана. Бусад урвалжид вероаланы буферт хийж угаасан хонины улаан эс (УЭ), цус задлах туулайн ийлдэс (хонины цусны улаан эсийн эсрэг үүссэн туулайн эсрэг бие), 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 жишиг 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* өсгөөрт 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 арга зүйг боловсруулав. *Trypanosoma equiperdum* OVI (ITMAS 241199C, 2008 онд Антверп дахь Трофикийн анагаах ухааны хүрээлэнгээс худалдаж авсан)-ийг *in-vitro* өсгөврийн орчинд дасгасан байна. Эсийн өсгөөрт дасгаж шингэн азотод хөлдөөсөн трипаносомын нөөц омгийг хүсэлт гарган авах боломжтой¹.

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 ₂ O	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

¹ ДМАЭМБ, Нийлүүлгийн өвчний лавлах лабораториос авах боломжтой: <https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3>

Магнийн сульфат × 7 H ₂ O	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 ₂ HPO ₃ × 12 H ₂ O	CAS	10039-32-4
NaH ₂ PO ₃ × 2 H ₂ O	CAS	10049-21-5
Орнитин/HCl	CAS	3184-13-2
Тимидин	CAS	50-89-5
Гипоксантин 100× нөөц уусмал	225 мл H ₂ O, 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-дисульфат 100× нөөц уусмал	225 мл H ₂ O, 705 мг батокупроин-дисульфат, 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 H₂O хийгээд дээр нь MEM нунтаг 3 уут, 6.6 г NaHCO₃, 17.85 г 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/батокупроин-дисульфатын 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 H₂O, 0.14 г NaH₂PO₄ × H₂O, 0.19 г KCl, 2.34 г NaCl, 0.13 г MgSO₄ × 7 H₂O, 1.80 г D(+)-Глюкоз х H₂O 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% поливинилпирролидон (PVP), 0.01% мертолиат-давсны хүчлийн уусмал бэлтгэх

0.5 мл H₂O-д 4.25 мг NaCl, 5 мг натрийн этил мөнгөн усны тиосалицилат уусгаж 1% мертиолат натри хлорын уусмал бэлтгэнэ. 50 мл-ийн колбонд 40 мл H₂O нэмж 425 мг NaCl, 2.5 г PVP 25 хийж уусгана. 0.5 мл 1% мертиолат натри хлорын уусмал нэмээд 50 мл болтол H₂O нэмнэ. 0.22 мкм шүүлтүүрээр шүүнэ. 4°C-д хадгална.

v) Нэг мл тус бүрд гадаргуу-эзлэхүүний харьцаа 3.25 см² буюу гурван давхар T-500 өсгөврийн колбонд 154 мл тэжээлт орчин хийгээд 1 × 10⁵ трипаносом/мл агуулсан трипаносомын өсгөвөр бэлтгэн 37°C-д CO₂ бүхий орчинд инкубацлана.

vi) Трипаносомыг 1.5–2 × 10⁶/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 болохыг шалган баталгаажуулна.

vii) Бүх тунаш дахь нийт эсийн тоог тодорхойлно. Шинээр поливинилпирролидон-мертолиатын уусмал (1 мл тутамд 1 × 10⁹ трипаносом) бэлтгэнэ. Хөлдөөсөн тунашийг нунтаг мөсөн дээр тавьж гэсгээгээд дээр нь тооцоолсон эзлэхүүний 50% хэмжээтэй 5% поливинилпирролидон, 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% поливинилпирролидон, 0.01% мертолиат-давсны хүчлийн уусмалаар дүүргэнэ. 200 мкл эсрэгтөрөгчийн уусмалыг мөлгөр амсартай ариутгасан 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 титрийн эсрэг ийлдсийг 1/5-аар шингэлэн титрлэх 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 зөвхөн дор дурдсан *in-vivo* үржүүлэх асуудлыг авч үзнэ.

- i) хөлдүүгээр нь хадгалж байгаа *T. equiperdum*-ийн эх нөөцийн амьдрах чадвартай эсэхийг цусны түрхцийн аргаар тогтоосны дараа эмгэг төрүүлэгчгүй орчинд үржүүлсэн харханд CO_2 эсхүл изофлуранаар мэдээгүйжүүлсний дараа халдвар хийнэ. Хөлдүү үүсгэгч (стабилят)-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 адилхан хүнд хэлбэрийн 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) Трипаносом агуулсан үеийг хөлдөөн хатаалтын орчинтой (5% ПВП) хольж эсрэгтөрөгч бэлтгэхээр 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 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 спектрофотометрээр эсхүл ижил төстэй аргаар тодорхойлж энэхүү эсрэгтөрөгчийн бэлдмэлийг жижиг хэмжээгээр хуваагаад -80°C -д хадгална. Эсрэгтөрөгчийг 1/5-аар шингэлсэн нам титртэй эсрэг ийлдсээр титрлэж 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 арга зүйд ийлдсийг 35 минут идэвхгүйжүүлэхээр заасан байдаг (АНУ-ын ХАА департамент, 2016). Илрүүлэх шинжилгээнд эерэг гарсан ийлдэсний шингэлэлтийг эсрэгтөрөгчийн хоёр нэгжийн эсрэг титрлэнэ. 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 үл мөр төдий илэрвэл түүнийг үл хэрэгсэнэ. Хавсаргын эсрэг нөлөөтэй бусад бүх ийлдсийн идэвхийг титрлэн 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 титрийг заана. Эхний мөрний титрлэлтийн 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 Na₂HPO₄ 12 H₂O, 2 mM NaH₂PO₄ H₂O, 5 mM KCl, 80 mM NaCl, 1 mM MgSO₄ 7 H₂O, 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 титрлээд 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 титрийн аргад 2%-ийн уусмал хэрэглэхээр заасан байдаг (ХАА департамент, 2016). Хонины улаан эсийн эсрэг туулайн, цус задлах титрлэсэн ийлдэс нь түүний цус задлах титрээс 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 арга зүй

- 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, инкубатор эсхүл чийгээ барьдаг хайрцагт \ 1 цаг инкубацлана.

- х) Цус задлах системийг бэлтгэнэ. Инкубацийн 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 инкубацлана.
- xi) Инкубацийн 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 инкубацлана. Инкубацийн 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 титрлэлт:* 1/5 шингэлэлтэд эерэг урвал өгсөн бүх ийлдсийг дараалан давхар шингэлээд төгсгөлийн цэгийн титрлэлтийг дээр дурдсан аргаар шинжилнэ.

2.2. Флюоресцент эсрэг биеийн шууд бус урвал

Нийлүүлгийн өвчинд зориулсан флюоресцент эсрэг биеийн 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 вакуум 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. Конъюгат

Флюорофороор тэмдэглэсэн адуу-эсрэг иммунглобулин (худалдаанд гарсан).

2.2.4. Шинжлэх арга зүй

- i) Эсрэгтөрөгч бүхий түрхцийг чийг шингээгчтэй саванд тавьж тасалгааны хэмтэй болгоно. Эсхүл түрхцийг хөлдөөгчөөс шууд гаргаад ацетонор 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 рН 7.2 бүхий ФБУ-аар 3 удаа тус бүр 5 минутаар угаагаад агаарт хатаана.
- v) Зөв шингэлэлт бүхий флюоресценц тэмдэглээтэй конъюгат нэмнэ. Конъюгатын шингэлэлтийг хамгийн оновчтой тогтоохын тулд тухайн цуврал эсрэгтөрөгч болон конъюгатыг өөр хооронд нь хяналтын ийлдэс ашиглан титрлэнэ. 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 сөрөг будалт хийж ФБУ-аар угааж агаарт хатаах өөр хувилбар бий.
- vii) Түрхцийг глицерин/ФБУ (50/50), иммерсийн тос (худалдаанд гарсан, гэрэлтэлт өгдөггүй) эсхүл гэрэлтэлттэй 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 ийлдсэнд шимэгчийн гэрэлтэлт тод харагдаж байвал ихэвчлэн эерэг дээжид тооцдог. Гэрэлтэлтийн эрчмийг үнэлэхэд 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: Na₂CO₃ (1.59 г); NaHCO₃ (2.93 г); нэрмэл ус (1литр). Эсрэгтөрөгчийн уусмал бэлтгэх өөр хувилбар нь: ФБУ (KH₂PO₄ [0.2 г]; Na₂HPO₄ 12 H₂O [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 конъюгатын 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. Конъюгат

Пероксидазагаар тэмдэглэсэн адуу-эсрэг IgG (худалдаанд гарсан).

2.3.6. Эсрэгтөрөгч

Б.2.1.хэсэгт заасан ХХУ-ын эсрэгтөрөгч бэлтгэх арга зүйг үз

2.3.7. Шинжлэх арга зүй

- 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/конъюгатын буферээр урьдчилан 1/100 харьцаагаар шингэлсэн адууны хяналтын ийлдсийг эсрэгтөрөгчтэй болон эсрэгтөрөгчгүй үүрэнд зэрэгцүүлэн нэмнэ. Хавтанг 1 цаг инкубацлаад гурван удаа ФБУТ-ээр угаана.
- iii) Дээж/конъюгатын буферээр зөв шингэлсэн конъюгатыг 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, иммуноэлектрофорезийн түргэн арга, агарын гелд нэвчүүлэх арга зэрэг ийлдэс судлалын бусад арга хэрэглэж ирсэн ч тэд өдгөө үеэ өнгөрөөжээ. Тун саяхнаас *T. evansi*-аас рекомбинант эсрэгтөрөгч бэлтгэн иммунохроматографын, *T. equiperdum* OVI омгийн хувиргаагүй эсрэгтөрөгчөөр иммуноблотын 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 эвцэлдүүлгийн 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., GEERTSM., BALHARBI F. & AIT-OU DHIA 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 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., АМГАЛАНБААТАР Т., МУСИНГУЗИ С.П., СUGANUMA 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 FEBE T., ORSINI M., KRASTOVA I., CATTANE O.A., PODALIRI VULPIANI M., DI PANCAZIO 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. & CAPOREALE 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. & CAPOREALE 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.

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.

(ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас мэдээлэл авна уу:

<https://www.oie.int/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.

АДУУНЫ ЦУС БАГАСАХ ХАЛДВАРТ ӨВЧИН

А. УДИРТГАЛ

Адууны цус багасах халдварт өвчин (АЦБХӨ) дэлхий даяар тохиолдоно. Өмнө нь намгийн халуурал гэж нэрлэгдэж байсан энэ халдвар зөвхөн адууны овгийн амьтанд гарна. 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 хүргэхээгүй бол өвчин архагшиж халдвар далдлагдах хандлагатай болно. Өвчний нууц үе ихэвчлэн 1-3 долоо хоног, гэхдээ 3 сар хүртэл байж болно. 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 (Бүлэг 3.6.10), *Anaplasma phagocytophilum*, хаван суух, халуурах, цус багасах эсхүл ялтаст эс цөөрөх, арьс цайх бусад эмгэгээс ялгаварлан оношилно.

АЦБХӨ-ий вирус нь *Retroviridae* овгийн *Orthoretrovirinae* дэд овгийн *Lentivirus* төрөлд багтана. Энэ төрлийн бусад вируст: үхрийн дархлаа хомсдолын вирус; ямааны үе, тархины үрэвслийн вирус; муурын дархлаа хомсдолын вирус; хүний дархлаа хомсдолын вирус-1; хүний дархлаа хомсдолын вирус-2; бичний дархлаа хомсдолын вирус; маеди/висна өвчний вирус орно.

Адуу 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*) эмнэл зүйн хувьд өвчтэй 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. Эхийн хэвлий дэх ураг халдвар авах тохиолдол бий. (Kemen & Coggins, 1972). Эмнэл зүйн шинж тэмдэгтэй адуунд вирусийн титр өндөр байх бөгөөд ийм адуунаас халдвар дамжих эрсдэл вирусийн титр багатай тээгч адууныхаас өндөр байна. Гэвч халдвартай луусанд хийсэн судалгаагаар энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА)-аар эерэг, агарын гельд нэвчин тунадасжих урвал (АГНТУ)-аар тодорхойгүй урвалтай амьтанд байх вирусийн хэмжээ эсрэг биеийн илт эерэг урвалтай амьтныхтай адил түвшинд байсан нь тэд вирус дамжин халдварлах боломжтой адилхан эх үүсвэр байх магадлалтай болохыг харуулжээ (Scicluna нар, 2013).

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 байдал ба биохамгаалал: Мал эмнэлгийн лаборатори, мал, амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандарт* бүлгийг үз).

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

АГНТУ (Coggins нар, 1972) болон ЕЛИЗА (Suzuki нар, 1982) арга нь халдварын эхэн үе эсхүл халдвартай эхээс төрсөн унаганаас бусад тохиолдолд (McConnico нар, 2000; USDA 2007) АЦБХӨ-ийг адуунд мадаггүй, найдвартай илрүүлдэг арга юм. Өвчний цочмог үед эсрэг биетэй холбогдоход хангалттай хэмжээний вирус цусанд эргэлдэж байвч үүссэн эсрэг бие анхны түвшнээсээ нэмэгдэж шинжилгээнд мэдрэгдэж илрэх хэмжээнд хүрээгүй л бол төөрөгдөлд оруулам үр дүн өгдөг нь хэдийгээр ховор боловч тохиолдоно (Томе, 1980). Хэдийгээр ЕЛИЗА аргыг АГНТУ аргатай харьцуулахад эсрэг биеийг заримдаа эрт, бага агууламжтай байхад нь илрүүлэх боловч ЕЛИЗА шинжилгээний үр дүнг АГНТУ-аар баталгаажуулдаг. Энэ нь ЕЛИЗА шинжилгээгээр хуурамч эерэг үр дүн илэрч байсантай холбоотой юм. АГНТУ нь өвөрмөц учраас эсрэг бие АЦБХӨ-ий эсрэгтөрөгчтэй болон АЦБХӨ-ий бус эсрэгтөрөгчтэй холбогдох урвалыг ялгаварлах давуу талтай. Шинжилгээний аргын хоорондын зөрөөтэй байдал эсхүл шинжилгээний эргэлзээтэй үр дүнд цаашид иммунблотын аргаар үнэлгээ өгнө (Issel нар, 1999; 2013; Rusvai нар, 2009).

Хүснэгт 1. Адууны цус багасах халдварт 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 илрүүлэх¹						
ПГУ	–	+/-	–	+/-	–	–
Вирус ялгах	–	–	–	+	–	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
АГНТУ	++	++	++	++	++	–
ЕЛИЗА	++	++	++	+	+	–
Иммунблот	–	++	++	++	–	–

Түлхүүр үг:

+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
 ++ энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
 + = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
 – = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй;
 ЕЛИЗА= энзим холбоост дархлааны урвал;
 ПГУ = полимеразгийн гинжин урвал;
 АГНТУ = агарын гелд нэвчин тунадасжих урвал.

1. Үүсгэгчийг илрүүлэх

1.1. Вирус ялгах, ялган таних

Онош тогтооход вирус ялгах шаардлага ихэнхдээ гардаггүй.

Халдваргүй нь тогтоогдсон адуунаас бэлтгэсэн цагаан эсийн өсгөөрт өвчний сэжиг бүхий адууны цуснаас тарилт хийж вирус ялгаж болно. АЦБХӨ-ий өвөрмөц эсрэгтөрөгчийг ЕЛИЗА (Shane нар, 1984), иммун флюоресценцийн (Weiland нар, 1982), эсхүл молекул түвшний аргаар илрүүлэх замаар өсгөөрт вирус үржиж байгааг баталгаажуулна. Адууны цагаан эсийн өсгөврийг ургуулахад төвөгтэй учраас түүнийг вирус ялгахад төдийлөн ашигладаггүй.

1.2. Полимеразгийн гинжин урвал

АЦБХӨ-ий провирусийн буюу эзэн эсэд нэгдсэн АЦБХӨ-ий вирусийн ДНХ-г адууны захын цусанд илрүүлэх полимеразгийн гинжин угсраа урвал (угсраа ПГУ)-ыг боловсруулсан байна (Nagarajan & Simard, 2001). 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 транскрипт ПГУ-ын шинжилгээг мөн боловсруулжээ (Cook нар, 2002). 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 (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:

- Ийлдэс судлалын шинжилгээний үр дүн хоорондоо зөрөх;
- Халдварын сэжигтэй ч ийлдэс судлалын шинжилгээгээр сөрөг эсхүл эргэлзээтэй дүн үзүүлэх;

¹ Үүсгэгчийг ялган таних төрөл бүрийн шинжилгээг эмнэл зүйн нэг ижил сорьцод хийхийг зөвлөдөг.

- iii) Эсрэг үр дүнг баталгаажуулахад ийлдсийн шинжилгээнд хавсарга болгох;
- iv) АЦБХӨ-ий вирусийн эсрэг бие ийлдсэнд үүсэхээс өмнө халдварыг эрт илрүүлэх;
- v) Эсрэг ийлдэс эсхүл вакцин үйлдвэрлэхэд ашиглах эсхүл цусны донор болох адуунд АЦБХӨ-ий вирус байхгүй болохыг баталгаажуулах;
- vi) Халдвартай гүүний унаганы халдварын байдлыг баталгаажуулах.

2. Ийлдэс судлалын арга

Халдвар авсан адууны овгийн амьтанд АЦБХӨ-ий вирус орогнодог учир ийлдсэн дэх эсрэг биеийг илрүүлэх нь АЦБХӨ-ий вирусийн халдварын оношийг баталгаажуулна.

2.1. Агарын гелд нэвчин тунадасжих арга

АГНТУ арга нь АЦБХӨ-ий вирусийн халдварын хариу урвалын дүнд үүссэн эсрэг биеийн 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 дурдсаны 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 (Malmquist нар, 1973), нохойн сэрээ булчирхайн халдварлуулсан дамжмал эсээс (Bouillant нар, 1986), эсхүл рекомбинант ДНХ технологи ашиглан бактери эсхүл бакуловирусийн экспресслэсэн уургаас (Archambault нар, 1989; Kong нар, 1997) 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.

Шаардлага хангах эсрэгтөрөгч дэлүүнээс бэлтгэхийн тулд адууг АЦБХӨ-ий вирусийн хоруу омгоор халдварлуулна. Өвчний нууц үе 5-7 хоног байх ба халдвар хийснээс хойш 9 хоногийн дараа вирусийн титр дээд цэгтээ хүрэх үед, тунадасжуулах эсрэг бие мэдрэгдэж илрэх хэмжээнд хүрэхээс өмнө дэлүүг авна. Дэлүүний махам эдийг шингэлэлгүйгээр иммун нэвчилтийн аргын эсрэгтөрөгч болгон ашиглана (Coggins нар, 1973). Дэлүүнээс давсны уусмалаар салгаж аваад аммонийн сульфатаар өтгөрүүлсэн эсрэгтөрөгч нь түүнийг бэлтгэхээр сонгосон АЦБХӨ-ий эсрэгтөрөгчийн өндөр титртэй дэлүүнд байсантай ижил хэмжээнд байж чаддаггүй.

Дээрх аргын оронд 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% полиэтиленгликогелоор тунадасжуулж эсхүл үлэмж хурдаар хурилдуурдах аргаар тунааж ялгана. Вирусийг угаалгын бодис эсхүл эфирээр боловсруулж оношилгооны р26 эсрэгтөрөгчийг ялгаруулж авна (Malmquist нар, 1973). Бактери эсхүл бакуловирусийн экспресслэсэн АЦБХӨ-ий вирусийн үндсэн уургийг худалдаанд гаргасан ба түүнийг ийлдэс судлалын шинжилгээний өндөр чанартай эсрэгтөрөгчөөр ашиглаж байна.

Вирусийн дотоод бүтцийн уураг болох р26-г *gag* ген кодолно. р26 нь АЦБХӨ-ий вирусийн омгууд дотроос эсрэгтөрөгчийн хувьд вирионы gr45 ба gr90 глико уургуудаас илүү тогтвортой (Montelaro нар, 1984). Р26 уургийн амин хүчлийн дарааллаараа омгуудыг ялгаж болох нотолгоо байдаг ч энэ ялгаатай байдал нь ийлдэс судлалын аливаа шинжилгээнд нөлөөлдөг тухай нотолгоо байхгүй (Zhang нар, 1999).

2.1.2. Стандарт эсрэг ийлдэс бэлтгэх

Өмнө нь АЦБХӨ-ий вирусийн халдвар авсан адуунаас эерэг урвалтай болох нь илэрхий эсрэг ийлдэс цуглуулж болно. Шинжлэх ийлдэс ямар урвал үзүүлэхийг тодорхой урвал бүхий стандарт ийлдэстэй харьцуулж шалгахад АЦБХӨ-д өвөрмөц тунадасжилтын нэгэн жигд нягт зурвас үүсэж байх ёстой. Шинжилгээний мэдрэх чанарыг хамгийн оновчтой байлгахын тулд эсрэгтөрөгч болон эсрэг биеийн төвшрүүлгийг тэнцвэржүүлэх нь чухал ач холбогдолтой. Эсрэгтөрөгч, эсрэг бие хийсэн үүрний хоорондын зайн яг дунд нь тунадасжилтын нарийн зурвас үүсэж байхаар тооцож урвалжийн төвшрүүлгийг тохируулна.

2.1.3. Шалгах арга, ажиллагаа – COGGINS L., 1973

- i) Шилэн аяга гулсаж болзошгүй учраас хуванцар Петрийн аяганд цутгасан агарын үе дээр дархлааны нэвчүүлэх урвал тавина. 100 мм голчтой Петрийн аяганд 0.145 М боратын рН 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) 24-48 цагийн дараа аягыг хар дэвсгэр дээр барьж байгаад тод, ташуу тусгалтай зурвас гэрлээр 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 эерэг махийсан байна. АЦБХӨ-ий АГНТУ тавихад сул эерэг урвалын тунадасжилтын зурвасын үзүүр үл мэдэг махийх эсхүл дээжийн үүр рүү дугуйрсан мэт харагдана. Тунадасжуулагч эсрэг бие өндөр титртэй агуулагдах ийлдэсний хувьд ялгагдах өвөрмөц зурвас нь бүтэн үүсэх эсхүл цааш нэвчих хандлагатай тунадасжилтын өргөн тууз үүсгэнэ. Ийм урвал өгсөн ийлдсийг 1/2 эсхүл 1/4-өөр шингэлж дахин шинжлээд үүсэх тод ялгарах зурвасаар нь уг урвал АЦБХӨ-д өвөрмөц болохыг баталгаажуулна. АЦБХӨ-ий эсрэг биегүй 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 цус авна. Нялх унаганд энэ өвчнийг оношлохын тулд эхийн бие дэх эсрэг биеийн агууламжийг тодорхойлох шаардлагатай. Хэрэв унага эхийн уураг сүүгээр дамжуулан АЦБХӨ эсрэг биеийг 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 эсрэг бие 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.

2.2. 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 р26 үндсэн уургийн эсрэг үүсэх эсрэг биеийг амьтны ийлдсэнд илрүүлэх зориулалттай боловч gr45 эсрэгтөрөгчийн эсрэг үүссэн эсрэг биеийг 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 р26 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 АГНУТ-аар баталгаажуулдаг. ЕЛИЗА шинжилгээний үр дүнг иммунблот аргаар баталгаажуулж бас болно. Дархлааны нэвчүүлэх урвалд хэрэглэх, дотроо эсрэг биеийг хэмжигдэх түвшинд агуулж байгаа стандарт эсрэг ийлдсийг ДМАЭМБ-ын лавлах лабораториос олж авч болно. Энэ стандартыг ЕЛИЗА урвалын илрүүлэх доод хязгаарын лавлагааны материалаар ашиглаж болохгүй. АЦБХӨ-тэй тэмцэх нэгдсэн арга хэвлэгдсэн байна (USDA, 2007).

В. 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. 1990 оноос хойш халдварын тархалт буурсан тул АЦБХӨ-тэй тэмцэхдээ вакцинжуулалтаас хорио цээрийн дэглэм хэрэгжүүлэх стратегид шилжсэн ба үүний үр дүнд оношлох шинжилгээнд вакцинаас үүссэн эсрэг бие нөлөөлөх явдалгүй болжээ.

Хэдийгээр АЦБХӨ-ий сулруулсан вируст вакциныг БНХАУ-д хэрэглэхэд аюулгүй байдалтай холбоотой асуудал гараагүй ч АЦБХӨ-ий вирус бусад лентивирусийн адилаар мутацид орохдоо амархан учраас эзэн биеийн геномд нэгдчих боломжтой юм. Иймд АЦБХӨ-ий вакцин хэрэглэх асуудлыг эрсдэлийн үнэлгээ хийсний дараа авч үзэх нь зүйтэй.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

ASSOCIATION FRANÇAISE 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 Pressensé, 93571 Saint-Denis La Plaine Cedex, France.

ARCHAMBAULT D., WANG Z., LACAL J.C., GAZIT A., YANIV A., DAHLBERG J.E. & TRONICK S.R. (1989). Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for equine infectious anaemia virus detection using recombinant Pr55gag. *J. Clin. Microbiol.*, **27**, 1167–1173.

BOUILLANT A.M.P., NELSON K., RUCKERBAUER C.M., SAMAGH B.S. & HARE W.C.D. (1986). The persistent infection of a canine thymus cell line by equine infectious anaemia virus and preliminary data on the production of viral antigens. *J. Virol. Methods*, **13**, 309–321.

CAPPELLI K., CAPOMACCIO S., COOK F.R., FELICETTI M., MARENZONI M.L., COPPOLA G., VERINI-SUPPLIZI A., COLETTI M. & PASSAMONTI F. (2011). Molecular detection, epidemiology, and genetic characterization of novel European field isolates of equine infectious anemia virus. *J. Clin. Microbiol.*, **49**, 27–33.

CHEEVERS W.M. & MCGUIRE T.C. (1985). Equine infectious anaemia virus; immunopathogenesis and persistence. *Rev. Infect. Dis.*, **7**, 83–88.

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.

COOK R.F., COOK S.J., LI F.L., MONTELARO R.C. & ISSEL C.J. (2002). Development of a multiplex real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction for equine infectious anemia virus (EIAV). *Virol. Methods*, **105**, 171–179.

ISSEL C.J., COOK S.J., COOK R.F. & CORDES T.R. (1999) Optimal paradigms for the serological diagnosis of equine infectious anemia. *J. Eq. Vet. Sci.* **19**, 720–724.

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. *Vet Rec.*, **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.

KONG X.K., PANG H., SUGIURA T., SENTSU H., ONODERA T., MATSUMOTO Y. & AKASHI H. (1997). Application of equine infectious anaemia virus core proteins produced in a Baculovirus expression system, to serological diagnosis. *Microbiol. Immunol.*, **41**, 975–980.

MALMQUIST W.A., BARNETT D. & BECVAR C.S. (1973). Production of equine infectious anaemia antigen in a persistently infected cell line. *Arch. Gesamte Virusforsch.*, **42**, 361–370.

MCCONNICO R.S., ISSEL C.J., COOK S.J., COOK R.F., FLOYD C. & BISSON H. (2000). Predictive methods to define infection with equine infectious anemia virus in foals out of reactor mares. *J. Eq. Vet. Sci.* **20**, 387–392.

MONTELARO R.C., PAREKH B., ORREGO A. & ISSEL C.J. (1984). Antigenic variation during persistent infection by equine infectious anaemia, a retrovirus. *J. Biol. Chem.*, **16**, 10539–10544.

NAGARAJAN M.M. & SIMARD C. (2001). Detection of horses infected naturally with equine infectious anemia virus by nested polymerase chain reaction. *J. Virol. Methods*, **94**, 97–109.

NAGARAJAN M.M. & SIMARD C. (2007). Gag genomic heterogeneity of equine infectious anemia virus (EIAV) in naturally infected horses in Canada: implication on EIA diagnosis and peptide-based vaccine development. *Virus Res.*, **129**, 228–235.

PEARSON J.E. & COGGINS L. (1979). Protocol for the immunodiffusion (Coggins) test for equine infectious anaemia. *Proc. Am. Assoc. Vet. Lab. Diagnosticians*, **22**, 449–462.

QUINLIVAN M., COOK F.R. & CULLINANE A. (2007). Real-time quantitative RT-PCR and PCR assays for a novel European field isolate of equine infectious aenemia virus based on sequence determination of the gag gene. *Vet. Rec.*, **160**, 611–618.

RUSVAI M., BAKONYI T., HORNYÁK A., BALKÁ G., HANS A. & NOWOTNY N. (2009). RT-PCR detection and phylogenetic analysis of Hungarian equine infectious anaemia virus strains. In: Proceedings of the 8th International Congress of Veterinary Virology, 23–26 August 2009, Budapest, Hungary. Veterinary Medical Research Institute, Hungarian Academy of Sciences Budapest Hungary.

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.

SHANE B.S., ISSEL C.J. & MONTELARO R.C. (1984). Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of equine infectious anemia virus p26 antigen and antibody. *J. Clin. Microbiol.*, **19**, 351–355.

SUZUKI T., UEDA S. & SAMEJIMA T. (1982). Enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of equine infectious anaemia. *Vet. Microbiol.*, **7**, 307–316.

TOMA B. (1980). Réponse sérologique négative persistante chez une jument infectée. *Rec. Med. Vet.*, **156**, 55–63.

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

WEILAND F., MATHEKA H.D. & BOHM H.O. (1982). Equine infectious anaemia: detection of antibodies using an immunofluorescence test. *Res. Vet. Sci.*, **33**, 347–350.

ZHANG W., AU YONG D.B., OAKS J.L. & MCGUIRE T.C. (1999). Natural variation of equine infectious anemia virus Gag- protein cytotoxic T lymphocyte epitopes. *Virology*, **261**, 242–252.

*

ЖИЧ: АЦБХӨ-ийг 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>).

АЦБХӨ ийг оношлох шинжилгээ, урвалж, вакцины талаарх нэмэлт мэдээллийг ДМАЭМБ-ын лавлагаа лабораториудтай холбогдож авна уу.

ЖИЧ: 1989 ОНД АНХ, 2019 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.

АДУУНЫ ТОМУУ ӨВЧИН (АДУУНЫ ТОМУУ ӨВЧНИЙ ВИРУСИЙН ХАЛДВАР)

А. УДИРТГАЛ

Адууны томуу өвчин томуу өвчний А хүрээний (*Orthomyxoviridae* овгийн *Influenzavirus A* 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 үүсгэгч тээсэн хүн, машин, халдвартай 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 вирусийг 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 (WAHO WHIS) авна уу (<https://wahis.oie.int/#/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 хариу урвалын эсрэг бие илрүүлэхийг зорьж болно. Эдгээр аргыг хослуулан хэрэглэвэл бүр сайн. Адууны томуу өвчний вирусийг тахианы үр тогтсон өндөг, эсхүл эсийн өсгөвөрт ялгаж авна. Мөн эсрэгтөрөгч баригч энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА) ашиглан амьсгалын замын шүүрэлд вирусийн эсрэгтөрөгч илрүүлэх эсхүл урвуу транскрипт полимеразын гинжин урвал (УТ-ПГУ) ашиглан вирусийн геномыг илрүүлэх замаар халдварыг нотолж болно. Томуу өвчний аливаа вирус мэдрэмтгий амьтанд өндөр халдвартай бөгөөд солбицох бохирдол санамсаргүй байдлаар үүсгэхгүйн 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 найдвартай 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 өнгөрөөх хангалттай 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	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
Үүсгэгчийг ялган таних¹						
Вирус ялган авах	—	+	—	++	—	—
Бодит цагийн ПГУ	—	+++	+++	+++	+++	—
RAD	—	+	—	++	+	—
Эсрэгтөрөгч баригч ЕЛИЗА	—	++	++	+++	++	—
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ЦНСУ	++	++ ^a	—	+++ ^a	+++	++
ЦЗБУА	++	++ ^a	—	+++ ^a	+++	+++
ЕЛИЗА	++	+	++ ^b	+a	+++	+

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 транскрипт полимеразгийн гинжин урвал;

ФЭБШУ = флюоресцент эсрэг биеийн шууд урвал;

RAD = эсрэгтөрөгч түргэн илрүүлэх арга;

ЦНСУ = цус наалдалтыг саатуулах урвал;

ЦЗБУА = цус задралын бүс үүсгэх арга;

^a Дээжийг хосоор нь шинжлэх шаардлагатай;

^b Шаардлага хангах вакцин хэрэглэж байгаа бол вакцины болон халдварын улмаас үүссэн эсрэг биеийг ялгаварлахад ашиглаж болно.

¹ Үүсгэгчийг ялган таних аргыг хамтруулан хэрэглэхдээ эмнэл зүйн ижил сорьц ашиглана.

1. Үүсгэгчийг ялган таних

Төрөл бүрийн эмнэл зүйн сорьцыг эсийн өсгөвөрт дараалан зорчуулахгүй бол эсэд ургахдаа муу учраас адууны томуу өвчний вирусийг өндгөнд өсгөвөрлөн ялган авах 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 төлөөлөх өөр вирусийг сонгон өсгөвөрлөх чанартай байжээ (Ilobi *et al.*, 1994). (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 илэрч 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 эсрэг бие (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 лавлагааны 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 хөврөлжсөн өндгийг цаашид ашиглахаар сонгоно. Хийн зайн дээд гадаргууг спиртээр цэвэрлэн хальсыг цоолж жижиг нүх гаргана. Халдварлуулах зүйлийг амнионы эсхүл аллантоисын хөндийд тарина. Сонгосон хэд хэдэн өндөгний амнионы хөндийд дээжийг шингэлэлгүйгээр (дээжийг антибиотик агуулсан ФБУ-д 1/10 ба 1/100-аар шингэлж болно) (өндөг/дээж 0.1 мл) тарина. Тариурыг 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 аллантоисын хөндийд халдвар хийдэг өөр хувилбар бий. Нүхнүүдийг вакс эсхүл Село наалтаар бөглөөд 34–35°C-д 3 хоног инкубацлана. Халдвар хийснээс хойш 24 цагийн хугацаанд үхсэн үр 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 (ЦҮЭ) (ФБУ-д 0.5% [э/э] тунамал эс) хольж V- эсхүл U-ёроолтой үүр бүхий бичил титрийн хавтанд эсхүл 0.4% усан гахайн улаан эстэй хольж (ФБУ-д 0.4% [э/э] тунамал эс) V- эсхүл U-ёроолтой үүр бүхий бичил титрийн 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 титрлэнэ. Наалдуулах идэвхийн титр 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 титр бага байвал цааш зорчуулна. Халдварлуулах зүйлийг 1/10, 1/100, 1/1,000-аар урьдчилан шингэлэх замаар вирусийн гэмтсэн хэлтэрхийнүүд 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 үргэлжилсэн битүү 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 ийлдэсгүй трипсин (2 мкг/мл) агуулсан 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]-оор 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 титр $\geq 1/16$ бол өсгөврийн шинж чанарыг яаралтай тодорхойлно. Сөрөг урвалтай шингэн болон $< 1/16$ титртэй шингэнийг тав хүртэл удаа зорчуулна.

1.3. Гемагглютининий (Н) дэд хэвшил тогтоох

Адууны томуу өвчний вирусийн шинэ өсгөврийн гемагглютининий 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 шинжлэгдэхүүнтэй зэрэгцүүлэн титрлэнэ. 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 агууламжийг ямагт урвуу титрлэлт хийж баталгаажуулна.

1980-аад оноос эхлэн адуунаас зөвхөн H3N8 дэд хэвшил ялган авсан байна. Адууны H3 өсгөврийн гемагглютининий дарааллыг 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 эсрэг бие 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. Неираминидазгийн дэд хэвшил тогтоох

Неираминидазгийн 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 неираминидазгийн 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, 2013а). 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 хөдөлгөөн хийхийн өмнө бодгаль амьтныг халдваргүй болохыг тогтооход ашиглах зорилгоор баталгаажуулж байгаа юм.

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 арга зүйг 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 дээжийг 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 шатлалт 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 шатлалт 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 μ M ажлын шингэлэлттэй болгоод хадгална.
- iv) Бодит цагийн нэг шатлалт 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 rPHX, праймер тус бүрээс 0.8 мкл (эцсийн төвшрүүлэг 0.32 μ M), проб 0.2 мкл (эцсийн төвшрүүлэг 0.08 μ M), 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°C-д 10 минут явуулсны дараа денатурацийн шатыг 95°C-д 10 минут явуулна. хДНХ-г 95°C-д 15 секундээр 40 мөчлөг, 60°C-д 45 секундээр олшруулна.
- vii) Жич: хугацаа, температурыг өөрчилж болох ба хэрэглэх урвалж, цомгоос хамааруулан хамгийн оновчтой тохиргоо хийнэ.

1.5.1. Үр дүнг үнэлэх

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 тэмдэглэгэ олшруулах урвалын хянах дэлгэц (координатын хавтгай) дээрх шугаман хамааралтай хэсгийн дунд хэрд тогтмол ΔR_n 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 гемагглютининий 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 мэдээлэлтэй 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. Ампликон 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 урвал хялбар явагдана. Доорх арга зүй нь ерөнхий аргачлал 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 μ M), 7 мкл устай 70°C орчинд 4 мкл РНХ-г 10 минут байлгаж денатурацид оруулна (мөсөөр хөргөхийн өмнө). Дараа нь dNTP холимог (эцсийн төвшрүүлэг dNTP тус бүр 0.5 μ M), DTT (10 mM эцсийн төвшрүүлэг), 1 $\times$ урвалын буфер ба 200U урвуу транскриптаза энзимийг урвалын эцсийн эзлэхүүн 20 мкл рүү нэмнэ. Урвалыг 42°C-д 1 цаг тавьсны дараа 65°C-д 20 минут байлгаж идэвхгүйжүүлнэ. Урвуу транскрипцийн 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 μ M), 1 $\times$ урвалын буфер, 1U ДНХ полимераза, ус, хос праймераас (0.2 μ M тус бүрийн эцсийн төвшрүүлэг) бүрдэнэ. Дулаан сэлгэлтийн дараах нийтлэг нөхцөлийг хэрэглэж байгаа ДНХ полимеразагаас хамааруулан тохируулах шаардлага гарна: эхний денатурац 98°C-д 30 секунд, дараа нь 98°C-д 10 секундээр 30 мөчлөг, 50°C-д 30 секунд, 72°C-д 30 секунд, төгсгөлд нь сүүлийн уртасгалт 72°C-д 2 минут байна. Хос праймер тутамд сөрөг хяналтыг оруулах ба үүний тулд хДНХ-г урвуу транскрипцийн 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-GTAAAACGACGGCCAGTCAGGTGTCACTCAAACG	428–1032
HA/BR	GC-AACAGCTATGACCATGGGATTTGCTTTTCTGGTAC	
HA/CF	GC-GTAAAACGACGGCCAGTGGTTACATATGGAATGCC	939–1336
HA/CR	GC-AACAGCTATGACCATGGAGCCACCAGCAATTCT	
HA/DF	GC-GTAAAACGACGGCCAGTGAAGGAAGAATTCAGGA	1251–1733
HA/DR	GC-AACAGCTATGACCATG GAGTAGAAACAAGGGTGTTTTAAC	
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 этанолаар тунадасжуулах аргаар цэвэршүүлнэ. ДНХ-ийн аль ч утаслагийн дараалал тодорхойлох ПГУ-ын бүтээгдэхүүн нэг бүрд дидеоксинуклеотидууд болон M13 хөтлөх (5'-GTA-AAA-CGA-CGG-CCA-GT-3') болон буцаах (5'-AAC-AGC-TAT-GAC-SATG-3') праймер ашиглан нуклеотидийн дараалал тогтоох урвал явуулна. Эцсийн дарааллыг нуклеотидийн нийлэлт бүхий ампликонуудаас угсран тогтоох ба праймерээс үүссэн нуклеотидийн 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 эсрэг биеийн 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 эсрэг бие 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)-д² бий. Эдгээр ийлдсэнд цус задралын бүслүүр үүсгэх утгыг олон улсын хамтын ажиллагааны шугамаар тогтоосон ба шинжилгээнд анхдагч 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. Урвалыг бичил титрийн хавтанд шингэлэлт хийхэд тохиромжтой хэрэгсэл ашиглан явуулах нь хамгийн зохистой. Гемаглютининий эцсийн титр үүр бүрд 1/8 байхаар эсрэгтөрөгчийг шингэлээд ФБУ, ийлдэс, эсрэгтөрөгчөөс тус бүр 0.5 мл эзлэхүүнийг авч урвалыг том эзлэхүүнээр тавьж болно. Ийлдсийг урьдчилан боловсруулж өвөрмөц бус гемаглютининийг арилгаад дараа нь 56°C-д 30 минут идэвхгүйжүүлнэ. Дараах аль нэг арга хэрэглэн урьдчилан боловсруулалт хийнэ: (а) 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 хэрэглэнэ. Боловсруулсан ийлдсийг ФБУ-аар шингэлээд эсрэгтөрөгчийн стандарт тунг нэмж (бичил титрийн хавтангийн үүр бүрд ГА титр 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 титр болно. V-ёроолтой бичил титрийн хавтанд тахианы ЦУЭ (1% [э/э] тунасан эс) эсхүл V- эсхүл U- ёроолтой бичил титрийн хавтанд 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 суутлаа удна. Цус наалдалтыг саатуулах титр нь наалдалтыг бүрэн саатуулж байгаа хамгийн их шингэлэлтийн эсрэг утга юм. Эдүгээ эерэг дээжийн босго утгыг ЦНСУ-д тогтоогоогүй байгаа учир нам титртэй дээжийг лавшруулан шинжлэх хэрэгтэй. Халдвар аваад удаагүй тохиолдолд шинжилсэн хос ийлдэсний хоорондын титр дөрөв дахин эсхүл түүнээс илүү нэмэгдэнэ.

2.1.1. Вирусийг Твин 80/эфирээр боловсруулах

- Халдвартай аллантоисын 39.5 мл шингэн дээр ФБУ-д уусгасан Твин 80-ын 10%-ийн цийдмэгийг 0.5 мл нэмж Твин 80-ын төвшрүүлгийг 0.125% (э/э) болгоно.
- 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.
- Хөдөлгөөнгүй байлгаж үе тогтсоны дараа вирусийн хэлтэрхий 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.
- Боловсруулсан вирусийг хэсэгчлэн хувааж -70°C-д хадгална.

2.1.2. Цус наалдалтыг титрлэх

- Бичил титрийн хавтангийн мөрний бүх үүрэнд 25 мкл ФБУ нэмнэ.
- Эхний үүрэнд 25 мкл вирус нэмж түүнээсээ хавтангийн бүх үүрэнд хоёр дахин дараалсан шингэлэлт хийх ба харин сөрөг хяналт хийх хамгийн сүүлийн үүрийг үлдээнэ.
- Бүх үүрэнд дахин 25 мкл ФБУ нэмнэ.
- Бүх үүрэнд ЦУЭ 50 мкл нэмнэ. Тасалгааны хэмд эсхүл 4°C-д (ялангуяа орчны температур өндөр байвал) 30 минут байлгана. Цус наалдалтын титр нь цус наалдалт хэсэгчлэн үүсгэж байгаа вирусийн сүүлийн шингэлэлт болно.

2.1.3. Ийлдсийг калийн периодатаар боловсруулах

- 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.
- Периодатын илүүдлийг саармагжуулахаар ФБУ-д уусгасан 3%-ийн нэг эзлэхүүн глицеринийг нэмж хольсны дараа тасалгааны хэмд (23°C ± 2°C) 15 минут тавина.

² Удирдах төв: Франц улс, Страсбург хот, Кастнерийн өргөн чөлөө, CS 30026, F-67081, EDQM – Европ дахь төлөөлөгчийн газар

- iii) Усан халаагуурт 56°C-д 30 минут тавьж идэвхгүйжүүлнэ.

2.1.4. Шинжлэх арга зүй

- ii) Бичил титрийн 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 (4 × хамгийн бага наалдуулах тун, өөрөөр хэлбэл титр/4).
- v) Үүр бүрд 25 мкл нэмж тасалгааны хэмд 22°C ± 2°C) 30 минут инкубацлана.
- 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 бүртгэнэ.

2.2. Цус задралын бүслүүр - цагариг үүсгэх арга

Цус задралын бүслүүр үүсгэх энэ арга нь вирусийн эсрэгтөрөгчийг усан гахайн хавсарга (C') бүхий агарозод тархсан цусны бэхлэмэл 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 эсрэг биеийн төвшинтэй шууд хамааралтай байна (Morley нар, 1995).

Шинжилгээнд дархлааны тунадасжих урвалын тусгай хавтан (MP Биомедикал) ашиглаж болох ба Петрийн энгийн аяга ч тохирно. Алсөврийн 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 M 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 M) 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); Na₂PO₄ (1.45 г); KH₂PO₄ (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 хувааж 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 титрлэлтийн 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 арга зүй

- 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 эзлэхүүнээр³ 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 хааяа 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 соруураар 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.
- v) Шинжлэх 16 ийлдэс, эерэг хяналтын ийлдэс шинжлэхээр бэлтгэсэн үлгэр ашиглан 3 мм голчтой үүрийг биежсэн гелд 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 соруураар 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 хүлээсэн үр дүнд нийцэж байх ёстой. Хяналтын ийлдэсний цус задралын бүс тод, хяналтын ийлдсийн лаборатори доторх шинжилгээний үр дүнгийн хэлбэлзэл 5%-иас хэтрэхгүй байх ёстой. Үр дүнг мм²-аар эсхүл хяналтын ийлдсийн утгатай харьцуулах замаар гаргана. Хяналтын хавтанд эерэг үр дүн үзүүлсэн ийлдсийг хонины улаан эсэд шингээнэ. Оношилгооны зорилгоор бол өвчний цочмог болон өвчлөөд өнгөрсөн үеийн ийлдсийг нэг хавтанд аль алийг хосоор нь шинжилнэ. Өвчлөөд эдгэрсэн үеийн ийлдэсний үүсгэсэн бүслүүрийн талбайн хэмжээ томорсон бол халдвартай

³ 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.

байгаагийн нотолгоо болно. 25 мм² эсхүл 50%-ийн талбайн томролтыг аль нь бага байгаас үл хамааран их хэмжээтэй гэж үздэг ч энэ нь тухайн лабораторийн шинжилгээний тохирцоос хамаарах ба томролт нь эсрэгбиеийн төвшрүүлгийг хоёр дахин эсхүл түүнээс илүү ихэсгэсэнтэй тэнцүү байна. Дараалан шингэлсэн стандарт эсрэг ийлдэс ашиглан байгуулсан стандартын муруйгаар тайлбайн хэмжээг тооцоолж гаргана.

2.3. Өрсөлдөөнт/саатуулагч ЕЛИЗА

Томуу өвчний вирусийн нуклеопротеин, тунхууны пероксидазатай конъюгаталсан нуклеопротеиний эсрэг ижил гарлын эсрэг биед 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 эсрэг биеийг илрүүлэхэд үр дүнтэй байгаа нь харагджээ (Kittleberger нар, 2011). Шинжилгээ хийх бүрдээ түүнд тохирсон тусгай арга зүйг мөрдөнө.

В. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

1. Оршил

1.1. Бүтээгдэхүүний үндэслэл, 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 тасалдагддаг 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 эсрэг биеийн үүсэлтийг идэвхжүүлэхээс хамаарах ба зарим бүтээгдэхүүний тухайд амьсгалын эрхтний шүүрэл дэх эсрэг биеийг өдөөж өгдөг байна. Вакцин идэвхгүйжүүлэх явцдаа ГА-ны нэгдмэл байдал, бүтцийг адагдуулахгүй байх нь шаардагдах хэмжээний саармагжуулах эсрэг биеийн үүсэлтийг уг вакцинаар өдөөхөд онцгой ач холбогдолтой. Үүнийг ГА-ний эсрэг үүссэн өвөрмөц эсрэг биетэй урвалд орох дархлааны идэвхтэй ГА-ыг хэмждэг дан бүслүүр нэвчүүлэн үүсгэх (ДБНУ) зэрэг дархлаа судлалын аргаар шалгана. Вакцины дархлаа төрүүлэх идэвхийг цөөхөн амьтны загвар бүлэг эсхүл зорилтот зүйлийн амьтанд идэвхжсэн ГА эсрэг биеийг хэмжих замаар баталгаажуулна. Адууны томуу өвчний хэд хэдэн вакцин, үүний дотор идэвхгүйжүүлсэн бүтэн вирионт вакцин, дэд нэгжийн вакцин, канарын шувууны цэцэгийн вектор вакцин нь эсээр дамжих дархлаа төрүүлэх боломжтой (Gildea нар, 2013b).

Томууны вирусийн ГА-г кодлогч ген агуулах амьд вируст вектор вакцины дархлаа төрүүлэх идэвхийг ДБНУ аргаар тогтоож чадахгүй. Энэ аргын оронд вакцины идэвхийг *in-vitro* нөхцөлд шалгахад рекомбинантын халдварлах титрийг ашигладаг ба вакцин хэрэглэж болох заалттай амьтанд үүссэн эсрэг биеийг хэмжих замаар дархлаа төрүүлэх чанарыг үнэлнэ.

Идэвхгүйжүүлсэн бүтэн вирионт вакцин, дэд нэгжийн вакцин, канарын шувууны цэцэгийн вектор вакцинаар бий болсон ГА-ий эсрэг биеийн төвшин томуу өвчний туршилтын халдвараас хамгаалах төвшинтэй сайтар шүтэлцээтэй байгааг ЦЗБҮ аргаар тодорхойлсон байна (Edlund Toulemonde нар, 2005; Mumford, 1983; 1994). Үүний эсрэгээр, хүйтэнд дасгаж температурт мэдрэг болгосон мутант омгийг сулруулсан амьд вакцин болгон хэрэглэхэд амьсгалын дээд замд үржихдээ ГА-ий цусаар эргэлдэх эсрэг биеийг өндөр төвшинд өдөөхгүй боловч туршилтын халдвараас хамгаалдаг байна. Дархлаа нь цусаар эргэлдэх эсрэг биеэс илүүтэй салстын эсхүл эсийн хариу урвалаар илэрдэг гэж таамагладаг. Вектор вакцины адилаар үйл ажиллагааны явцын хяналтын шалгалт нь халдвартай вирусийн титрийг 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 Мэдээлэл сэтгүүл 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 экспертийг 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 тусална.

2. Үйлдвэрлэлийн тойм, 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 цэвэршүүлэлт, аюулгүй чанарыг стандарт аргаар баталгаажуулахын тулд багцын туршилтын загвар цувралыг бэлтгэнэ. Эх омгийн бэлдэц нь өндөр титр 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, цэвэршүүлэлт, гаднын 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 хөврөлжүүлсэн 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 эсрэг бие (ИГЭБ) ашиглан эсрэгтөрөгчийн судалгаа явуулна. Үндсэн эх болон ажлын эх омгийн вирусийг хэсэгчлэн хуваагаад гаднын биетгүй 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, гаднын 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, гаднын зүйлгүй, шинж чанар нь бүрэн судлагдсан байх ёстой. Ажлын эх омгийг хэсэгчлэн хуваагаад вакцин үйлдвэрлэхэд ашиглана.

Үндсэн эх болон ажлын эх омгийн бэлдцийг эмгэг төрүүлэгчгүй тусгай өндөг эсхүл арга ядаж эрүүл сүргээс гаралтай өндөгнд 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 гаднын зүйл агуулаагүй болохыг баталгаажуулна.

Эх омгийн вируст гаднын зүйл, тэр дундаа микоплазм, адууны бусад вирусийг шаардлагатай аргаар, тухайлбал мэдрэмтгий эсийн өсгөөрт халдвар хийх, эс эмгэгшүүлэх нөлөөг шалгах эсхүл эсрэгтөрөгч илрүүлэх флюоресцент эсрэг бие 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. Шинжлэх арга зүй

Шинж чанарыг нь баталгаажуулсан вакцины эх омгийн бэлдцэд тулгуурлан үйлдвэрлэл явуулна. Өндөг хэрэглэдэг бол эрүүл сүргээс гаралтай 9-11 хоногийн настай тахианы хөврөлжүүлсэн өндөгний аллантаисын хөндийд омог тус бүрийг тус тусад нь халдварлуулна. Өндгийг 2-3 өдөр зохих температурт инкубацид аллантаисын шингэнийг хурааж авна. Омог тус бүрийг тусад нь MDCK эсийн өсгөөрт 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 аллантаисын хөндийд халдварлуулж өндгийг 33–37°C-д 3 хоног инкубацилана. Халдвар хийсэн тун бүрийн төвшинд 10 өндөгнөөс 8-аас доошгүй нь амьд үлдэх ёстой. Амьд үлдсэн өндөг тус бүрийн аллантаисын 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. Инкубацийн явцад өндөгний 80%-нь амьд үлдэх шаардлагыг зарим улсад хангах боломжгүй 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.

Нэг цэнт вирусийн цуглуулбар нь тухайн улсын хяналтын эрх бүхий байгууллагын зөвшөөрсөн тахианы хөврөлжүүлсэн өндгөнд халдвар хийх аргаар 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 гаднын 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 титр, (г) гемагглютининий агууламж (тахиааны улаан эсийн наалдуулах нэгж, дэгдээхэйн эсийн наалдалтаар), (д) дархлааны идэвх бүхий гемагглютинин (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 гемагглютининээс 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 эсрэг биеийг 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 эсрэг биетэй уулзаж тунадасжих хүртэл эсрэгтөрөгчийн нэвчсэн зай нь эсрэгтөрөгчийн бэлдмэл дэх гемагглютининий төвшрүүлэгтэй шууд хамааралтай байна.

НБҮА-д хэрэглэх стандарт урвалжуудыг ДЭМБ-ын Биологийн стандартын олон улсын лабораториос⁴ 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 цэвэршүүлэлт

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 хөврөлжүүлсэн 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.

⁴ National Institute for Biological Standards and Control, Blanche Lane, South Mimms, Potters Bar, Hertfordshire EN6 3QG, UK.

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

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 эсрэг бие байгаа эсэхийг шалгана. хэрэв энэ илрүүлэх шинжилгээнд ЦНСУ-ыг ашиглаж байгаа бол шинжилгээний аргын мэдрэмтгий 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 эсрэг биеийг хэмжихэд хэрэглэдэг ийлдэс судлалын аргыг баталгаатай *in-vivo* аргаар стандартчилна. Европын фармакопейгоос⁵ 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 таарц, тохирц муу байдаг учраас эдгээр ийлдсэнд ЦНСУ-ын титрийг тогтоож чадаагүй байна.

Вакцинжуулалтын дараах эсрэг биеийн утгыг ЦЗБҮ аргаар хэмжихэд 150 мм² -аас дээш байх ёстой. Энэ хэмжээ нь Европын фармакопейд адууны томууны идэвхгүйжүүлсэн вакцинд тавигддаг шаардлага (85 мм²) 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 эсрэг биеийн титр 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 эсрэг биеийн түвшин нь зэрэгцүүлэн шинжилж байгаа, адуунд зориудын халдвар хийж туршиж үзэхэд хамгаалж байгааг нь нэгэнт тогтоогдсон стандарт вакцинаар өдөөгдсөн эсрэг биеийн 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 хордуу 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 долоо хоногт эсрэг бие хамгийн өндөр төвшинд хүрэх үеийн дархлааны хамгаалалт

⁵ A/eq/Newmarket/1/77 (Кат. дугаар: E0850010), A/eq/Newmarket/1/93 (E0850021) ба A/eq/Newmarket/2/93 (E0850022)-ийн ийлдэс.

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 хуваарь 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 эсрэг бие агуулаагүй таваас доошгүй усан гахай тус бүрд вакцины нэг тунг тарина. Хорин нэг хоногийн дараа цус авч ийлдсийг ЦЗБҮ эсхүл ЦНСҮ-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 эсрэг биеийн титр нь адуунд хамгаалах төвшний эсрэг бие үүсгэдэг нь тогтоогдсон стандарт вакцины үүсгэдэг титрээс 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 эсрэг биеийн халдвараас хамгаалах түвшинд хадгалагдах хугацааг баримтаар баталгаажуулна. Хамгаална гэж үзэх эсрэг биеийн түвшнийг 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 харуулна (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 тандах судалгааны экспертийн бүлгийн зөвлөмжийг шуурхай биелүүлээд байх боломж вакцин үйлдвэрлэгчдэд олгох хэрэгтэй.

Мал эмнэлгийн бүтээгдэхүүнийг үнэлэх Европын агентлагийн Мал эмнэлгийн бүтээгдэхүүний зөвлөл адууны томууны зөвшөөрөгдсөн вакциныг ДМАЭМБ-ын зөвлөмжид нийцүүлэх зааварчилга боловсруулаад байна. АНУ-д адууны томуу өвчний вакцины омгийн өөрчлөлтийг АНУ, ХААД-ын Мал эмнэлгийн төв лаборатори, албаны 800.111-р санамж бичигт ДМАЭМБ-ын зөвлөмжийг харгалзан авч үзсэн байна.

3. Биотехнологид суурилсан вакцин

3.1. Боловсруулж хэрэглээнд гаргасан вакцин, тэдгээрийн давуу тал

Зарим улсад канарын шувууны цэцэгийн 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 аргыг ашиглаж байв. Канарын шувууны цэцэгийн рекомбинант вакцин адууны томууны вирусийн зөвхөн гемагглютининий генийг экспреслэдэг учраас халдвар авсан, вакцинжуулсан адууг ялгаварлах боломжтой юм. Эхээс дамжсан эсрэг биетэй 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 хувьд өөрчилсөн вакцины үзүүлэх шууд, шууд бус, түргэн эсхүл аажим үзүүлэх боломжтой харш нөлөөний үнэлгээ орно. Вакцины фенотипийн болон генетик тогтвортой чанар, бусад бие махбодтой харилцан үйлчлэлд орох 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, 231–235. [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, 367–371.

EUROPEAN AGENCY FOR THE EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS (EMA), 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 EMA/CVMP/112/98-FINAL, EMA, 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., Rosedale 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. *Viol. 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.

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*, *Malleomyces*, *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 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 залигдах (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 Зүүн өмнөд Азиас гаралтай (I 20°N ба 20°S өргөргийн хооронд орших нутаг) мелоидоз буюу хуурамч ям өвчний үүсгэгч юм (Limmathurotsakul нар, 2016). Энэ бактери дээрх нутагт хаа сайгүй тархсан, органик зүйлийн азотыг задалж өгдөг хөрсний чухал бактери юм. Ийм ч учраас *Burkholderia pseudomallei* нь байгаль орчинд тогтвортой оршдог. 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 болон 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 авчээ. Энэхүү бүлэг нь ямтай илүү төстэй мөртөө төрөл бүрийн өөр өөр шинж тэмдэг 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 мэт болон гэдэсний гүрвэлзэх хөдөлгөөн ширүүсэх шинж үзүүлэх цочмог хэлбэрээр тохиолдоно. Хуурамч ям өвчин амьтанд ихэвчлэн тэжээлийн дуршил алдагдуулахгүйгээр 3 долоо хоногос 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 экземай 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 гэмтэх 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 харагдана. Амьсгалын дээд замын салст бүрхэвч шархлах, хамрын таславч, залгиурын хавхалга дээр сорвижсон эд үүссэн байж магадгүй. 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 баталгаажсан дэглэм байхгүй.

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 боловсруулсан болон мэдээлсэн зүйл байхгүй (Dodin, 1992). Додины судалснаар (1992) Франц улсад халдвар авсан бүх амьтныг зайлуулсны дараа л тэр аж ахуйд өвчний гаралт буурч халдвартай хөрс цэвэршжээ. 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 болон бактери дамжин халдварлахаас хамгаалсан урьдчилан сэргийлэх арга хэмжээ маш сайн авах хэрэгтэй. Лабораторийн сорьцыг аюул учруулахааргүй 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 байдал болон тусгаарлалтын тохирох түвшинд гүйцэтгэнэ (1.1.4 Биоаюулгүй байдал ба биоаюулгүй байдал: Мал эмнэлгийн лаборатори, мал, амьтны байранд биологийн эрсдэлийг удирдах стандарт бүлгийг үз).

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Ям өвчнийг оношлох шинжилгээний арга, 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						
ПГУ	–	–	–	+	–	–
Өсгөвөр	–	–	–	+	–	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ХХУ	++	++ ¹	+++	+	+++	–
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.

¹ Зөвхөн адууны сорьцод – илжигний сорьц шинжилсэн үр дүнг боловсруулахдаа анхаарна.

Хуурамч ям өвчний эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах зорилгоор өсгөвөрлөх болон полимеразыг 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 болон тэрхүү дээжид *B. mallei*-д өвөрмөц эсрэгтөрөгч эсхүл генетик материал илрүүлэн таньж тогтоох аргаар ям өвчний оношийг баталгаажуулна. Хэрэв хавсарга холбох урвалаар (ХХУ) 1/5 титр үзүүлсэн, энэ дүн ХХУ-аас мэдрэх болон 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 эсрэг биед 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 төгсгөлтэй, 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 өсгөөрт харагдана. Үүсгэгч нь эдийн зүсмэгт бөмбөлөг байдлаар харагдах тул түүнийг илрүүлэхэд төвөгтэй. Тэжээлт орчны төрөл, өсгөөрлөсөн хугацаанаас хамаарч үүсгэгч тэжээлт орчин дээр янз бүрээр харагдана. Хуучирсан тэжээлт орчинд үүсгэгчийн хэлбэр, хэмжээ нь ихээхэн өөрчлөгдөнө. Шөлөн өсгөврийн гадаргуу дээр эздэрсэн 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 нөхцөлт 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 инкубацлах нь ашигтай гэж зөвлөдөг. Хонины цустай агар дээр ургасан *B. mallei*-н нимгэн, саарал, гялалзсан колони нь бусад бактери д амархан далдлагдаж ургах учраас 72 цаг инкубацласны дараа бактерийг анзааралгүй өнгөрөөчихгүйн тулд маш анхааралтай ажиглана. Глицеринтэй агар дээр хэд хоногийн дараа бүх талбайг хамарсан, гөлгөр, чийглэг, бага зэрэг наалдамхай цэцгий мэт өнгөтэй ургалт ажиглагдана. Үргэлжлүүлэн инкубацлахад 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 өсгөвөр ашиглана. Нитратын хэмжээ, арганины дигидролизатын арганин ашиглалт, глюкозын шингэлт, N-ацетил глюкозмин, глюконатын хэмжээ тус тус буурах нь биохимийн эерэг урвалд тооцогдоно. Инкубацлахад 48 цаг шаарддаг арабиноз, фруктоз, манноз, маннитол, адипиний хүчил, малат, гурван натрит цитрат, фенил цууны хүчил шингээх урвал болон Voges Проскауэрийн урвал нь омог тус бүрд харилцан адилгүй байна. Өсгөөрт индол үүсээгүй, адууны цус задлахгүй, нэвчмэл нөсөө үүсгээгүй байна.

B. mallei нь филогенезийн явцдаа энзимийн 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 тоо нь байнга нэмэгдсээр байдаг *Burkholderia* төрлийн үүсгэгч нэг бүрийг яг онож ялган таних боломжгүй юм (Glass & Porovic, 2005, Nemaajata нар, 2016; Inglis с 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 эсрэг биеийг 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 шаардлагатай ба бага хэмжээний тарилтаас ч сэжиг бүхий үүсгэгчийг сайн ургуулдаг байх хэрэгтэй. 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 виолет, профлавин) баяжуулах, түүнчлэн пенициллинээр урьдчилан боловсруулах (1000 нэгж/мл 37°C-д 3 цаг) нь тустай болох нь батлагджээ. Глицерин (4%), илжиг эсхүл адууны ийлдээс (10%), хонины гемоглобин эсхүл триптон агар (0.1%) агуулсан мах пептоны агар (МПА) (100 мл) дээр полимиксин Е (1000 нэгж), бацитрацин (250 нэгж), актидион (0.25 мг) нэмсэн хагас сонгомол тэжээлт орчныг бий болгосон байна (Хе 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. Жинхэнэ агаартан бичил биетний ургалтыг саатуулах үүднээс эдгээр дээжийг цустай агар дээр татаж тарьсны дараа агааргүй орчинд 24 цаг инкубацлана. Агааргүйтэн ургуулах орчин цутгасан аяганаас *B. mallei*-г ялган авахын тулд 37°C-д үргэлжлүүлээд 24 цаг инкубацлана. 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, мөн *B. pseudomallei* сонгомол тэжээлт орчныг (BPSA) 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 инкубацласны дараа ихэвчлэн үрчийнэ. Колумбийн агарт салалгүй битүү ургасан эс металлынх шиг гялбаа үүсгэдэг нь түүнийг *B. pseudomallei* гэж урьдчилан ялган танихад 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 (Pumruang нар, 2011), шаварлаг усанд 7 сар хүртэл, лаборатори 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 полимеразгийн 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 лаборатори 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 өсгөвөрөөс 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 инкубацлан 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 dH₂O 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 *flpP* дарааллын 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 (ТАЕ буферт 1%) явуулсан электрофорезийн дараа нуклеин 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 *flpP* дарааллын хоорондын ялгаанд суурилан сонгосон байна. Дарааллын 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 бохирдлыг урацил *N*-гликозилаза ашиглан эхний инкубацийн шатанд идэвхгүйжүүлнэ.

Дахин олшруулах мөчлөгийн босго утгыг титрлэх 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. *flpP* ПГУ-ын 35 pg ДНХ/урвалын шинжилгээ-доторх хэлбэлзэл 0.68% (Ct хэмжээг үндэслэн), 875 fg-д 1.34% байна. *flpP* 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 үндэслэн тогтоосон “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 гел 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. Цаашид молекул түвшинд хэвшил тодорхойлох болон геномын бүрэн дараалал тогтоох арга илүү ач холбогдол өгч магадгүй юм (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 ужирсан 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 хоорондоо салалгүй үргэлжлэн бүрхэж ургах хүртэл нь 37°C-д 48 цаг инкубацлана.
- ii) 48 цагийн өсгөврөөс гогцоогоор (0.5 мм диаметр) авч 3% глицерин бүхий тархи-зүрхний шөлөнд (ТЗШ) тарилт хийгээд 37°C-д 24 цаг инкубацлана.
- iii) Дээр дурдсан шөлөн өсгөврөөс 1 мл авч улмаар 3% глицерин бүхий 100 мл ТЗШ-д тарьж 37°C-д аяархан зайлалттайаар 48 цаг инкубацлана.
- 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 хувааж бэлтгэнэ. Шингэлсэн эсрэгтөрөгчийг бараан өнгийн цодон шилэнд хуваарилан хийж 4°C-д хадгална. Ажлын эцсийн шингэлэлтийг блок титрлэлтийн 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 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 агуулдаг 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 титрийн 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 инкубацлана. 4°C-д хонуут инкубацлаж бас болно.
- vi) Хонины угааж мэдрэгжүүлсэн улаан эсийн 2-3% цийдмэгийг нэмнэ.
- vii) Хавтанг 37°C-д 45 минут инкубацлаад дараа нь 600 g -д 5 минут центрифугдэнэ.

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 титрлэлт + 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 аль аль нь *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 уурагт (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 уураг ашиглажээ. Үүнээс гадна LPS-ын эсрэг ижил гарлын эсрэг бие 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 эсрэг биеийг 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 эсрэг бие 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 баталгаажуулаагүй байна.

3.3. Иммуноблотын шинжилгээний арга

Ям өвчнийг ийлдэс судлалаар оношлох иммуноблотын шинжилгээний аргыг боловсруулсан боловч эерэг ийлдсийн цуглуулга дутагдалтай байсан учраас түүнийг баталгаажуулах боломжгүй байв (Katz нар, 1999). *B. mallei*-н LPS эсрэгтөрөгч ашиглан иммуноблотын 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 эсрэг биеийг тухайн амьтанд өвөрмөц конъюгат болон нитро хөх тетразол 5-бром 4-хлор 3-индолил фосфат (NBT-BCIP)-ын өнгө оруулагч нэгдлээр тодруулна. Хэрэв *B. mallei* ЛПС-ын эсрэг биеийн толбоны байршил 20–60 kDa мужид тод харагдаж байвал иммуноблотын 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 ийлдэс судлалын мал эмнэлгийн хэрэглэх ямар ч арга баталгаажуулаагүй 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 (Nageen 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 баталгаажуулаагүй байна.

4. Эсийн дархлааны шинжилгээ

4.1. Ямлуураар 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. Амьтны 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 ямлуураас 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 уурган ямлуур хэрэглэсэн баримт байхгүй.

В. ВАКЦИН, ОНОШИЛГООНЫ БИО БЭЛДМЭЛД ТАВИХ ШААРДЛАГА

Ям болон хуурамч ям өвчинд зориулсан вакцин байхгүй.

Цэвэршүүлсэн уургийн гаралтай (ЦУГ) ямлуур худалдаанд бий². 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-Хэнлэйн 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 инкубацлана. Дараа нь Кохын ариутгагчид хийж 3 цаг уураар 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 Кельдалийн аргаар тодорхойлоод жижиг цодонд хувааж хийсний дараа хөлдөөн хатаана.

3. Үйлдвэрлэлийн явцын шалгалт

Инкубацлах 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 фармакопейн 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.

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 гахайд, 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 штангенциркульээр хэмжинэ. Үр дүнг харьцуулах хэмжилтийн стандарт арга ашиглан статистикийн аргаар үнэлнэ.

Эш татсан эх сурвалжийн жагсаалт

CHANTRATITA N., VESARATCHAVEST M., WUTHIEKANUN V., TIYAWISUTSRI R., 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.

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

- 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 piroplasmiasis, 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., WONGSUWAN 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.

(ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас мэдээлэл авна уу:

<https://www.oie.int/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.

ХАВЪТАЛ 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, хааяа 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 нь гардаг байна¹. 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* (*Mr*)-ээр үүсгэгдсэн халдварын эмнэл зүйн шинж тэмдэг *Ma*-аар үүсгэгдсэн хавьтал халдварт сохор догол өвчний халдварынхаас ялгагдахааргүй, бараг адил илэрнэ. Үүнээс гадна *Mr* нь ямаанд *Ma*, *Mmc*, *Mcc*-ын халдварын үед илэрдэгтэй маш төстэй дэлэн, үений үрэвсэл үүсгэдэг (Rodriguez нар, 1994). Нэмж дурдахад хивэгч амьтны микоплазмозын асуудлаарх COST²-ын 826 дугаар судалгааны хөтөлбөрийн хавьтал халдварт сохор догол өвчний асуудал хариуцсан ажлын хэсгийн Францын Тулуз хотод 1999 онд болсон хуралдаанаар энэ дөрвөн микоплазмыг хавьтал халдварт сохор догол өвчний үүсгэгчид гэж үзэх талаар санал нэгдсэн байдаг. Францад ямаанаас ялгасан нийт микоплазмын 80 гаруй хувийг *Mmc*, *Mcc*, *Mr*, 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 доголдох, 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 тохиолддоно. 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 үүсч болно. *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 үржлийн эмгэгтэй хонь, үений үрэвсэлтэй эсхүл амьсгалын замын өвчтэй үхрээс ялган авсан байна. *Mmc*-ийн халдварын тохиолдол ихэнхдээ алаг цоог гарах бөгөөд сүргийн дотор өвчин орогнон алгуурхан тархах боломжтой, үүнээс гадна өвчнөөр тайван бүс нутагт энэ өвчин гарахад ишигний өвчлөл, хорогдол нэмэгддэг. Сицилд 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).

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

Францын баруун нутгийн сүүний чиглэлийн ямаан сүрэгт *Mr* 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 *Mr*-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 *Mr*-ээс шалтгаалсан байна (Rodriguez нар, 1994).

Өмнөд Америкийн тэмээний овгийн амьтан, түүний дотор лама гөрөөс, альпака, викунагаас *Mmc*, *Mss*-ийн эсрэг бие илэрсэн (гэхдээ *Ma*-ын эсрэг бие 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*, *Mss* зэрэг микоплазмууд илрэх магадлалтай гэж үздэг.

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Хавьтал халдварт сохор догол өвчнийг оношлох шинжилгээний арга, тэдгээрийн зорилго

Арга	Зорилго					
	Популяци халдваргүйг тогтоох	Бодгалийн халдваргүйг тогтоох	Өвчнийг устгах бодлого хэрэгжүүлэхэд хэрэглэх	Сэжигтэй эсхүл эмнэл зүйн тохиолдлыг баталгаажуулах	Сүргийн 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	+++**	+	+++	+++**	+++**	+++**
Иммуноблот	+	++	+	++	+	++

Түлхүүр үг:

+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;
 ++ энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;
 + = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;
 — = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй;
 * зөвхөн *Mss*, *Mmc*-ийг илрүүлэхэд
 ** зөвхөн *Ma*-ыг илрүүлэхэд
 ПГУ = полимеразгийн 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, эсрэг бие 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 *Mr*-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 арга зүй

- i) Шингэн сорьц (сүү, үений уутны 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. Иммунофлуоресценцийн урвал (Bradbury, 1998), дархлааны цэгэн урвал (Poumarat, 1998) болон сүүлийн үед полимерзагийн 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 генотипийн өсгөврийн дигитонинд мэдрэмтгий 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. *Мр*-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 *Ма*-аар, бага хэмжээгээр *Мр*-ээр үүсгэгдсэн хальс, толбо; казеин ба бүлэгнүүлсэн ийлдэстэй агарын гадаргууд үүссэн *Мсс* ба *Ммм*LC-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 эсрэг биеийн урвалаар (Bradbury, 1998) өсгөврийг ялган танина. Бичил титрийн 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. *Ма*-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 арга зүй

- 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 соруураар зайлуулна.
- ii) Аягыг хатгал 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 инкубацлаж, 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 эрчимтэй явагдана (Poveda & Nicholas, 1998).

Хатуу тэжээлт орчны гадаргууд ургасан колонийг өвөрмөц эсрэг ийлдсээр үйлчлэх замаар шууд бус флюоресцент эсрэг биеийн урвал явуулна. Угаах шатны дараа гомолог эсрэг ийлдэс колонид холбогдсон хэвээр үлдэх ба түүнийг колони дээр флюоресценттэй конъюгатласан глобулины эсрэг бие 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 *Мр*-ийн хувьд мэдээлэгдээгүй ч *Ма*, *Мсс*-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. Нуклеин 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 *Ма*-д өвөрмөц бөгөөд мэдрэх чанараар ижил төстэй хэд хэдэн ПГУ аргын боловсруулсан байна (Dedieu нар, 1995; Subrahmaniam нар, 1998; Tola нар, 1997а). 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 эсрэг бие 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) *Mr* (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 (Gresco нар, 2001). Силлара нар (2015) *Mmc* болон *Mcc*-ыг хооронд нь ялгаварлах зорилгоор *lpaA* генд суурилсан нуклеин 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. Нуклеин хүчлийн молекулыг харьцуулах шинжилгээ

Микоплазм илрүүлэхэд нуклеин 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. MALDI-TOF

Бактери (Randall нар, 2015), түүний дотор микоплазмын зүйлүүд болон хавьтал халдварт сохор догол өвчин үүсгэгч бичил биетнийг ялган тогтооход MALDI-TOF аргыг ашиглана (Péreyre нар, 2013). Бичил биетнийг эхлээд өсгөвөрлөх шаардлагатай ба заримдаа холимог өсгөврөөс зөвхөн давамгайлж ургасан зүйлийг ялган тогтооно.

1.5.5. Шинжлэх арга зүй

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.

ЗАUVRС1-L	СТC-AAA-AAT-ACA-TCA-ACA-AGC
ЗАUVRС1-R	СТT-CAA-CTG-ATG-CAT-CAT-AA

- Микоплазмын өсгөвөр эсхүл эмгэгт дээжээс тохирох аргаар ДНХ-г ялгаж авна (Bolske нар, 1988).
- ПГУ-ын 50 мкл холимгийг дараах байдлаар бэлтгэнэ: 1 мкл дээжийн ДНХ, тус бүр 30 пмоль праймер, тус бүр 1 мМ дезоксинуклеотид триосфат (dNTP), рН 8.3 бүхий 10 мМ Трис/HCl, 1.5 мМ MgCl₂, 50 мМ KCl, 1.25 мМ U Taq ДНХ полимераз.
- Холимгийг дулаан сэлгэгчид хийн 35 мөчлөгөөр дараах горимоор ажиллуулна: 94°C-д 30 секунд, 50°C-д 30 секунд, праймер холбогдох шат 72°C-д 1 минут байна.
- 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 *Ма*-ын эсрэг бие илрүүлэх нь ХХУ-аас илүү мэдрэх чанартай болохыг тогтоожээ (Bergonier нар, 1997). ЕЛИЗА урвалд ижил гарлын эсрэг бие эсхүл G уургийн конъюгат ашигласнаар уг урвал амьтны төрлөөс хамааран өвөрмөц бус байдгийг арилгасан байна (Lambert нар, 1998). Эдгээр конъюгатыг ашигласнаар олон зүйлийн хөхтөн амьтны, түүний дотор тэмээний овгийн амьтны ийлдсийг шинжлэх боломж бүрджээ.

Ма-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. Хавсрага холбох урвал

Ма-г илрүүлэхэд зориулсан стандарт хавсрага 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°C-д 1 цаг идэвхгүйжүүлэн хүйтэнд хонуут эсхүл 37°C-д 3 цаг бэхжүүлсэн бичил титрийн 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: *Ма*, *Мсс*, *Ммс*. ХХУ-г сүргийн түвшинд шинжилгээ хийхэд хэрэглэх ба аль болохоор цочмог өвчтэй болон өвчлөөд эдгэрсэн малтай сүрэг тус бүрээс арваас доошгүй малын ийлдсийн дээж авч шинжилнэ.

Ма-ыг ийлдсээр 1/20 хүртэл шингэрүүлэн хэрэглэх ХХУ-д эрүүл сүргийн ийлдэс урвалд ордог бол бусад хоёр эсрэгтөрөгчтэй бага урвалд ордог. Гэвч *Ма*-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. Иммуноблотын урвал

Ма-г илрүүлэх иммуноблот аргыг мөн боловсруулсан бөгөөд Итали улсад түүнийг өвчний дэгдэлтийг баталгаажуулах шинжилгээ гэж үздэг (Nicholas, 1998; Tola нар, 1997b). *Ма*-ын эсрэг бие агуулсан ийлдэс 80 ба 55 кДа орчимд тод зурвас үлдээдэг бол эрүүл сүргийн 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 *Ма*-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 *Ма*-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 *Ма*-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 титр маш өндөр (нэг мл-т 10^8 – 10^{10} колони үүсгэх нэгж) байх ба лабораторийн омгоос гаргаж авна. *Ма*, *Ммс*, *Мсс* гурвууланг 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 *Ма* дамжин халдварлахаас хамгаалдаг нь тогтоогдсон байна (Gresco 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 сапониныар 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 *Ма*-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) *Ммс*-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 эсрэг биеийн 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 *Мсс* болон *Мр*-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 R.A., 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 *Mycoplasma 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 agalactia 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. & JOHANSSON 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 agalactiae*. *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 Extramadura, Spain. *Vet. Rec.*, 144, 24–25.
- GRECO G., CORRENTE M., BUONOVOLIA 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. & BOUNOVOLIA D. (2001). A multiplex 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. & BUONOVOLIA 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. *capri*. *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 PRÀ NETTO MACHADO L., TRICOT A., BENOIT F., TREILLES M. & BÉBÉAR C. (2013). Identification and subtyping of clinically relevant human and ruminant mycoplasmas 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 small 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 isothermal amplification 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 agalactiae* 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.

(ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас мэдээлэл авна уу:

<https://www.oie.int/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.

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 Н ба F гликопротеиний хооронд гүүр болж өгнө. Түүнчлэн БММӨ-ий вирусийн геном бүтцийн бус С болон V гэсэн хоёр уургийг кодолно.

БММӨ-ийг 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 эсрэг бие, 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. Пестивирүс 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 уулзвар 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 байдал ба биохамгаалал: Мал эмнэлгийн лаборатори, мал, 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	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)						
УТ-ПГУ	–	++	++	+++	+	–
Бодит цагийн УТ-ПГУ	–	++	+++	+++	+	–
Эсийн өсгөвөрт вирус ялгах	–	–	–	++	–	–
Баригч эсрэг бие 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 гелд 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, амины хөндий, шулуун гэдэсний салст бүрхэвчээс арчдас авна. Вирус ялгах, полимеразгийн 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 эсрэг бие бүхий энзим холбоост дархлааны урвал

Вирусийн N уургийн эсрэг гарган авсан хоёр төрлийн ижил гарлын эсрэг бие (ИГЭБ) ашигласан баригч эсрэг бие 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 болно¹. 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 эсрэг биеэр бүрж нийлүүлдэг.
- ii) Шинжлэх дээж, цомогт дагалдах хяналтуудыг холбогдох үүрэнд нэмнэ. БММӨ-ий вирус байвал эсрэг бие, эсрэгтөрөгчийн хам нэгдэл үүснэ.
- iii) Хавтанг угаасны дараа БММӨ-ий вирусийн N уургийн эсрэг ижил гарлын эсрэг бие-тунхууны пероксидазагийн конъюгат нэмэхэд эсрэг бие-эсрэгтөрөгч-ИГЭБ-пероксидазагийн хам нэгдэл үүснэ.
- iv) Дараа дараачийн угаалтаар илүүдэл конъюгатыг 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 өгөхгүй. 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 эсрэг бие бүхий энэ ЕЛИЗА урвалын сандвич 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 эсрэг биеэр барьж авна. Хамгийн багадаа 10^3 TCID₅₀/мл байхад илрүүлэх энэ шинжилгээ нь эс халдварлуулах шинжилгээ (TCID₅₀)-тэй ихээхэн төстэй үр дүн үзүүлдгийг харуулж байна.

2.2. Нуклеин хүчил таних арга

БММӨ-ий өвөрмөц оношилгоонд зориулж үүсгэгчийн N болон F уургийн генийн хэсгийг олшруулахад суурилсан урвуу транскрипт ПГУ (УТ-ПГУ) аргыг боловсруулжээ (Souasy-Humann нар, 2002). Энэ арга нь 10-12 өдөр зарцуулж вирус ялган аваад түүний титрийг Веро эс дээр тогтоох сонгодог аргаас (Souasy-Humann нар, 2002) 1000 дахин илүү мэдрэмтгийгээс гадна РНХ ялган авах шатыг оролцуулаад 5 цагийн дотор үр дүн гаргадаг давуу талтай. Нийтлэг хэрэглэдэг хоёр арга зүйг дор дэлгэрэнгүй оруулав. N болон F уургийн генийн хэсгийг олшруулахад суурилсан мультиплекс УТ-ПГУ-ын талаар мэдээлжээ (George нар, 2006). Түүнчлэн N уургийн генд суурилсан УТ-ПГУ-ыг боловсруулсан байна (Saravanap нар, 2004). Олшруулсан бүтээгдэхүүнийг агарозын гель электрофорезоор шинжлэхийн оронд тэмдэглээт проб ашиглах замаар ампликоныг 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 нуклеин 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, арчдасаас соронзон

¹ <https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3>

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) 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 өсгөвөрийг шалгахад аль нь ч хангалттай үр дүн өгөх нотолгоогүй байна. Энэ төрлийн шинжилгээний арга эрчимтэй хөгжиж байгаа учраас хэрэглэгчид ДМАЭМБ болон ХХААБ²-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 шатлалт УТ-ПГУ-ын цомогт зориулан тохируулна. Бусад урвалж ашиглаж болох ба үүний тулд тохиргоог оновчтой хийж түүнийг баталгаажуулна.

Нэг шатлалт УТ-ПГУ-ын аргаар N генийг олшруулах арга зүй нь Коуси Хайман нарын (2002) боловсруулсан анхны арга зүй дээр суурилдаг. 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 10 μM төвшрүүлэгтэй праймер бий болно.

iii) РНХ-ийн темплатаас 5 мкл-ийг ПГУ-ын дараах найрлагатай 45 мкл мастер холимогт нэмнэ:

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 полимеразыг идэвхжүүлнэ
94°C-д 30 секунд		
60°C-д 30 секунд	40 мөчлөг	хДНХ -г олшруулах ПГУ
72°C -д 1 минут		
72°C-д 5 минут	1 мөчлөг	Сүүлчийн уртасгалт
4°C (тодорхой бус)	—	—

² Нэгдсэн үндэстний байгууллагын Хүнс, Хөдөө Аж Ахуйн Байгууллага

- vi) УТ-ПГУ-аас 351 хос суурь бүхий бүтээгдэхүүн олширч гарна. Бүтээгдэхүүнээс 10 мкл-ийг авч 1.5%-ийн агарозын гель дээр электрофорез явуулна. 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 аргад 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 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 Рназагүй 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 полимерзаг идэвхжүүлнэ
94°C-д 1 минут		
55 °C -д 1 минут	35 мөчлөг	хДНХ -г олшруулах ПГУ
72°C -д 1 минут		
72°C-д 7 минут	1 мөчлөг	Сүүлчийн уртасгалт
4°C (тодорхойгүй)	—	—

- iv) Урвалын 10 мкл бүтээгдэхүүнийг ТВЕ эсхүл ТАЕ 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 удаа ПГУ явуулна. Энэхүү угсраа ПГУ тавихдаа F1 болон F2 праймер болон ПГУ-ын сайн чанарын, зохих ёсоор баталгаажсан урвалж, энзим 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 Рназагүй 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	35 мөчлөг	хДНХ -г олшруулах ПГУ
72°C-д 1 минут		
72°C-д 10 минут	1 мөчлөг	Сүүлчийн уртасгалт
4°C (тодорхойгүй)	—	—

- vi) Урвалын 10 мкл бүтээгдэхүүнийг ТВЕ эсхүл ТАЕ 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 (Vero, B95a) өсгөвөрлөн ялган авч болно. Харамсалтай нь дээрх эсийн өсгөвөрт нэг удаа зорчуулаад БММӨ-ий вирусийг тэр бүр ялган авч 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 (Vero, 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 Vero 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. Өөрчлөлт хийгээгүй Vero эсэд нийлмэл эсийг олж харахад заримдаа төвөгтэй байдаг. Ийм эс үүссэн байлаа ч маш жижиг байна. Гэсэн ч халдвар авсан Vero эсийг гематоксилин, езиноор 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 хэвтээ 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 туузын 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 шаардагдах ба өөр багаж шаардлагагүй. Туузан сорилоор БММӨ-ий бүх дөрвөн шугамын вирусийн өсгөвөр шинжилж баталгаажуулсан бөгөөд мэдрэх чанараараа баригч эсрэг бие 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 гелд нэвчин тунадасжих урвал

Агарын гелд 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 бурилдуурдаад дээд талын шингэнийг авч хэсэгчлэн хуваагаад -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 10⁴ TCID₅₀ (50% эдийн өсгөврийн халдвартай тун) титр 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 аргаар шалгана). Эерэг хяналтын эсрэгтөрөгчийн харалдаа зурвас үүсвэл 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 болно. Багажийг өндөр хүчдэлийн үүсгүүртэй холбоно. Агар эсхүл агарозыг 0.025M 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 зурвас үүссэн бол эерэг гэж үзнэ. Сөрөг хяналт бүхий үүрэнд урвалын зурвас үүсэхгүй.

3. Ийлдэс судлалын арга

Халдвар авсан хонь, ямаанд БММӨ-ий вирусийн эсрэг бие илрүүлэх нь эмнэл зүйн шинж тэмдгийг үндэслэн тавьсан оношилгоонд тус нэмэр болох боловч ийм эсрэг бие одоогоор хэрэглээнд байгаа БММӨ-ий вирусийн аль ч вакцин тарьсан малд үүснэ. БММӨ-ий тогтмолжсон шинжилгээний ажилд вирус саармагжуулах урвал (BCU), 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 титрийн хавтанд тавьж байна. Веро эс хэрэглэхийг илүүд 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; титрлэх ийлдэс (56°C- хүртэл 30 минут халааж идэвхгүйжүүлсэн); эсийн өсгөврийн бүрэн найрлагатай орчин; 1000, 100, 10, 1 TCID₅₀/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 TCID₅₀/мл бүхий (үүр тутамд 100 TCID₅₀) 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 TCID₅₀ (100 мкл) бүхий зургаан үүр; үүр тутамдаа 10 TCID₅₀ (100 мкл) бүхий зургаан үүр; үүр тутамдаа 1 TCID₅₀ (100 мкл) бүхий зургаан үүр; үүр тутамдаа 0.1 TCID₅₀ (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 инкубацлана.
- iv) Үүр бүрд 50 мкл эсийн цийдмэг нэмээд хавтангийн хажуу талаас зөөлөн тогшиж үүрэн дэх эсийг тараагаад таглана. Хавтанг CO₂ бүхий орчинд 37°C хэмд инкубацлана.
- v) Хавтанг 1-2 долоо хоног инкубацласны дараа уншина. Дараах үр дүн гарна:

Хэрэв вирусийг зөв шингэлсэн бол 100 болон 10 TCID₅₀/үүр шингэлэлт бүхий бүх хяналтын үүрэнд эсийн эмгэгшил илэрнэ, 1 TCID₅₀/үүр шингэлэлтэд бүх үүрний 50%-д эсийн эмгэгшил илэрнэ, 0.1 TCID₅₀/үүр шингэлэлтэд эсийн ямар ч эмгэгшил илрэхгүй. Вирусийг зөв шингэлсэн тохиолдолд энэ шинжилгээ баталгаатай юм.

Ийлдэс титрлэх шинжилгээний явцад хавтангийн үүрэн дэх вирус ийлдсээр саармагжих учраас үүрэнд эсийн эмгэгшил илрэхгүй, харин ямар нэг хэмжээгээр илэрвэл вирус ийлдсээр саармагжаагүйг илэрхийлнэ. Саармагжуулах титр нь хавтангийн үүрнүүдийн хагаст нь вирусийг саармагжуулж чадах ийлдсийн шингэлэлт юм. Саармагжуулах титр 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 уурагт (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 эсрэг биеийг 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 өвчнийг оношлох шинжилгээний аргыг баталгаажуулах зарчим, арга* бүлгийг үз) дагуу хийсэн эсэхийг лаборатори баталгаажуулан шалгана.

В. ВАКЦИНД ТАВИХ ШААРДЛАГА

1. Оршил

Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэх удирдамжийг 1.1.8 *Мал эмнэлгийн вакцин үйлдвэрлэлийн зарчим* бүлэгт оруулав. Дор өгүүлсэн болон 1.1.8 дугаар бүлэг дэх зааварчилгаа, 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 тойм, 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 байх хэрэгтэй. Мөн түүнчлэн пестивирүс 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 эсэхийг 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 пестивирүсгүй 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 Дульбескогийн 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 титрлэлтийг ажлын болон үйлдвэрлэлийн эх омгийн цуврал бэлдэц болон эцсийн бүтээгдэхүүнээс авсан сорьц дээр гүйцэтгэнэ.

• Арга зүй

а) Ийлдэсгүй тэжээлт орчин ашиглан титрлэх материалыг арав дахин 10^{-6} хүртэл шингэлнэ (0.5 мл вирус + 4.5 мл шингэлэгч).

б) Веро эсийг трипсинжүүлэн 300,000/мл байхаар бүрэн найрлагат тэжээлт орчинд 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 инкубацлана.

д) Халдвараас хойш 7-10 хоногийн дараа эс эмгэгшлийн нөлөөг шалгах замаар хавтангийн үр дүнг уншина. Вирусийн титрийг Спирман-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 инкубацлана.
- д) Үүр тус бүрд бүрэн найрлагатай тэжээлт орчинд уусган сэргээсэн 100 мкл эс (30,000 эс/үүрл) нэмнэ.
- е) Бичил хавтанг CO₂ орчинд 37°C-д инкубацлана.
- ж) 7–10 хоног инкубацалсны 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 эсрэг бие ИГЭБ ашиглан имунофлюоресценцээр эсхүл баригч эсрэг бие 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 имунофлюоресценц 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 арга технологийг энд тодорхойлов. 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 эмгэг төрүүлэгчгүй 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 ажлын анхдагч болон хоёрдогч 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 хэлтэрхийнүүд хуримтлагдах, улмаар дараагийнхаа бүтээгдэхүүний титрийг унагахад хүргэдэг учраас ажлын анхдагч болон хоёрдогч эх омог бэлтгэхдээ эсийн өсгөврийг вирусийн хэт өндөр тунгаар (халдварлуулах 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 TCID₅₀ байхаар тооцож эсийн өсгөврийн бүрэн найрлагатай орчноор цийдмэгжүүлнэ. Эсийн өсгөвөртэй колбыг вирус/эсийн холимгоор (175 см² багтаамжтай колбод 2 × 10⁷ орчим веро эс) дүүргээд 37°C-д инкубацлана. 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 дарааллаар хоёр удаа боловсруулсны дараа нэг цувралд нэгтгэн ажлын эх омгийн бэлдэц болгоно. Вирусийн цийдмэгийг бага хурдаар хурилдуурдаж (жишээ нь 1250 г-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, титрийг (шаардлага хангах хамгийн бага титр: 10⁵ TCID₅₀/мл) тогтооно. Ажлын анхдагч эх вирусийг –20°C-д хадгалахын тулд түүнийг хөлдөөн хатаах нь хамгийн тохиромжтой. Энэ тохиолдолд хөлдөөн хатаасан вирусийг (таван лонх) титрлэх 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 титр тогтоох (шаардлага хангах хамгийн бага титр: 10⁶ TCID₅₀/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 титр 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. Веибрижийн тэжээлт орчныг хамгийн өргөн хэрэглэдэг бөгөөд энэ нь Хэнксийн давсны тэнцвэржүүлсэн уусмалд (HBSS) 2.5% (ж/э) альбумины усан задраг (LAN), 5% (ж/э) сахароз, 1% (ж/э) глутамат натри уусгасан pH 7.2 бүхий тэжээлт орчин юм. HBSS-д 5% (ж/э) LAN болон 10% (ж/э) сахароз агуулсан (Mariner нар, 2017; Sarkar нар, 2003) эсхүл 20 mM Tris-HCl pH 7.4, 2 mM EDTA, 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 хувааж 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 үлдэгдэл хоруу 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 тогтоохдоо 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 агуулагдахууны өвөрмөц эсрэг ийлдсээр саармагжуулсны дараа өсгөвөрлөлт хийх замаар мөн эсэхийг 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 тарих заалттай малд шалгах (ЦАЧМШ) шаардлага тавихгүй байж болно. Эрх бүхий зарим байгууллага аюулгүй чанарын шалгалтыг цуврал бүрд хийхийг өдгөө ч шаарддаг. Хэрэв шаарддаг бол аюулгүй чанарын шалгалтыг вакцин тарих заалттай малд 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 титр 10^{2.5} TCID₅₀ байхаар тогтоожээ.

ЦАЧМШ-т хийхдээ БММӨ-ий таван лонх вакциныг хэвийн шингэлэгчээр уусган сэргээж холиод 100 тун/мл уусмал болтол шингэлнэ. Нэг орчим насны, БММӨ-ий эсрэг бие 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 титрээр (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 өсгөөрт вирус титрлэх 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 дарааллыг 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 эсрэг бие наад зах нь 1/10 титртэйгээр үүссэн болохыг харуулна.

Шинэ үеийн вакцины идэвхийг вакцины төрлөөс хамааруулан бусад аргаар тогтооно.

2.3. Албан ёсны зөвшөөрөл авахад 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 болоогүйг 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 эсрэг бие 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 байдал

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. Боловсруулж хэрэглээнд гаргасан 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 баталгаажгаагүй 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-HYMAN 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., RUFANEL 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-HYMAN E., HURARD C., GUILLLOU 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*, 11, 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 CLAVERO 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 virus F or H proteins overcomes viral immunosuppression and induces protective immunity against PPRV challenge in sheep. *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 Vero 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., SREENIVASA 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.

ХОНИНЫ ЦЭЦЭГ БА ЯМААНЫ ЦЭЦЭГ ӨВЧИН

А. УДИРТГАЛ

Poxviridae овгийн *Capripoxvirus*-ийн төрөл зөвхөн үхэрт өвчин үүсгэдэг арьс товруутах өвчний вирус (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 мэдрэмтгий үүлдрийн 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 суурин газар эрчимжсэн мал аж ахуй 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 томоохон саад учруулна.

ХЦВ, ЯЦВ-ийн омгууд хонь, ямааны дунд дамжиж байдаг боловч ихэнх нь зөвхөн нэг зүйлийн малд эмнэл зүйн илүү хүнд шинж тэмдгээр илрэх өвчин үүсгэдэг. 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 (WANO/WAHIS) авна уу (<https://wahis.oie.int/#/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 эсхүл халдвар шавжаар дамжсан үед 4 хүртэл хоногоор богиносж 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, цавины хэсгээр 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, хошног, 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 малыг амьд байхад нь илэрдгээс ихэнхдээ онцын ялгаагүй байна. Салст бүрхэвч үхэжсэн мэт, 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 тааралдах ба энэ нь төмсөг дээр мөн ажиглагдсан тухай мэдээлсэн байдаг. Уушги, ялангуяа түүний 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 цөөвөр 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 дунд тархсан эмгэг үүсгэгчид өртүүлэх зэргээс стресст орсон малд ихэвчлэн тархмал, заримдаа үхэлд хүргэхүйц цэцэг өвчнийг үүсгэнэ. Каприпоксын халдвар авсан импортын, дархлаагүй хонь, ямааны үүлдрийн үхлийн хувь өндөр байдаг. Каприпокс хүнд халдварладаггүй.

Б. ОНОШИЛГООНЫ АРГА

Хүснэгт 1. Хонины цэцэг, ямааны цэцэг 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 илрүүлэх¹						
Вирус ялгах	+	++	+	+++	+	–
Эсрэгтөрөгч илрүүлэх	++	+++	++	++	++	–
ПГУ	++	+++	++	+++	++	–
Дархлааны хариу урвал илрүүлэх						
ВСУ	++	++	++	++	++	++
ФЭШБУ	+	+	+	+	+	+

Түлхүүр үг:

+++ = энэ зорилгоор хэрэглэнэ;

++ = энэ зорилгоор хязгаартай хэрэглэнэ;

+ = маш хязгаарлагдмал нөхцөлд тохирно;

– = энэ зорилгоор хэрэглэхэд тохиромжгүй.

ПГУ = полимеразгийн гинжин урвал;

ВСУ = вирус саармагжуулах урвал;

ФЭШБУ = флюоресценц эсрэг биеийн шууд бус урвал.

1. Өвчний үүсгэгчийг ялган таних**1.1. Сорьц авах, илгээх**

Вирус ялгах, эсрэгтөрөгч илрүүлэх сорьцыг арьсанд үүссэн гүвдрүү, уушгины гэмтэл эсхүл тунгалгийн зангилаанаас биопси хэлбэрээр эсхүл задлан шинжилгээний үед авна. Вирус ялгах болон эсрэгтөрөгч илрүүлэх энзим холбоост дархлааны урвал (ЕЛИЗА)-д хэрэглэх сорьцыг эмнэл зүйн шинж тэмдэг илэрсэн эхний долоо хоногт, саармагжуулах эсрэг бие үүсэхээс өмнө авна. Полимеразагийн гинжин урвал (ПГУ)-аар вирусийн геном илрүүлэх сорьцыг саармагжуулах эсрэг биеийн хариу урвал үүсэхээс өмнө эсхүл үүссэний дараа цуглуулж болно. Каприпоксвирусийн халдвар цусаар тарах шатанд (эмгэг өөрчлөлт нэлэнхий тархахаас өмнө эсхүл нэлэнхий тархсанаас хойш 4 хоногийн дотор) гепарин эсхүл EDTA (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.

Формалинд хийсэн эдийг тээвэрлэхэд тээвэрлэлтийн тусгай шаардлага тавьдаггүй. 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, эсрэгтөрөгч илрүүлэх 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.

Вирус ялгах, эсрэгтөрөгч 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),

¹ Үүсгэгчийг ялган таних төрөл бүрийн шинжилгээг эмнэл зүйн нэг ижил сорьцод хийхийг зөвлөдөг.

неомицин (200 IU/мл) агуулсан, өөрчлөн тохируулсан ийлдэсгүй Ийглийн тэжээлт орчин (MEM) бүхий ариун уур нухуур ашиглан цийдмэг бэлтгэнэ. Бэлтгэсэн цийдмэгийг гурван удаа хөлдөөн гэгсээний 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.

1.2. Эсийн өсгөвөрт вирус ялгах

Каприпокс вирусийг үхэр, хонь эсхүл ямааны гаралтай эдийн өсгөвөрт өсгөвөрлөж болох боловч ялангуяа ноосны үүлдрийн хониноос ялгаж авсан хурганы төмсөг (LT) эсхүл хурганы бөөр (LK)-ний эсийн анхдагч эсхүл хоёрдогч өсгөвөр хамгийн тохиромжтой. 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 см² эзлэхүүнтэй колбоны 90%-д ургасан LT эсхүл LK эсэд тарилт хийгээд 37°C-д 1 цаг тавьж шингээнэ. Дараа нь өсгөврийг бүлээн ФБУ-аар угаах, GMEM зэрэг антибиотик, үнээний хээлийн ийлдэс 2%-иар агуулсан 10 мл тохирох тэжээлт орчноор бүрхэнэ. Боломжтой бол LT эсхүл LK эс агуулж байгаа эдийн өсгөврийн хуруу шил, бүрхүүл шил, эсхүл эдийн өсгөврийн микроскопын тавиур шилийг мөн халдвартай зүйлээр үйлчилнэ.

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 гэгсгээж, дээд талын тунгалаг шингэн хэсгийг LT эсхүл LK эсийн шинэ өсгөвөрт тарина. Колбонд 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 (H&E) 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 том 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 сармагчны бөөрний эс) эсэд ургуулж болох ч анх ялгаж байгаа тохиолдолд энэ эсийг хэрэглэхэд тохиромжгүй.

1.3. Электрон микроскоп

Поксвирусийн амьд эсийн гадна орших хэлбэр болох вирионы шинж төрхийг сөрөг будах аргыг ашиглан электрон микроскопоор дурандан шинжилж болно. Сөрөг 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 Tris/EDTA 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. 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 *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 сорьцыг стандарт арга зүйн дагуу бэлтгэнэ. Үүний дараа гематоксилин-эозины (H&E) будгаар будаж, формалинд бэхжүүлсэн биопсийн сорьцын 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 эсрэг биеийн арга

Каприпоксвирусийн эсрэгтөрөгчийг вирус халдварлуулсан бүрхүүл шил эсхүл эдийн өсгөврийн тавиур шил дээр флюоресценц эсрэг биеийн аргаар 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 конъюгатыг бэлтгэж болно. Эсрэг бие эсийн бүрэлдэхүүн хэсэгтэй солбицох урвалд орж болзошгүй учраас халдвар аваагүй эдийн өсгөврийг сөрөг хяналтаар хэрэглэнэ. Эсийн өсгөврийн эсрэгтөрөгчийн эсрэг биетэй солбицох урвалд орж болзошгүй тул халдваргүй эдийн өсгөврийг сөрөг хяналтаар хэрэглэнэ. Флюоресцент эсрэг биеийн эдийн зүсэлтийн аргад гүн хөлдөөж бэлтгэсэн тавиур шилийг мөн хэрэглэж болно.

1.6. Нуклеин хүчлийг ялган таних арга

Вирусийн геномын ДНХ-ийг илрүүлэхэд зориулсан олшруулах урвалын аргууд нь каприпоксвирусийн төрөлд өвөрмөц бөгөөд эсрэг биеийн хариу урвал явагдаж эхлэхээс өмнө, эхэлсний дараа болон өвчний бүхий л явцад илрүүлэх боломжтой мэдрэмтгий 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 эсхүл эдийн өсгөврийн сорьцод каприпоксвирусийн геномыг илрүүлэхэд хэрэглэнэ.

1.6.1. Энгийн ПГУ-ын арга

Өвөрмөц чанараараа янз бүр энгийн ПГУ-ын хэд хэдэн аргаар каприпокс вирус, ХЦВ эсхүл ЯЦВ-ийг илрүүлсэн талаар тэмдэглэжээ (Heine нар, 1999; Ireland & Bineral, 1998; Zro нар, 2014a). Энгийн ПГУ-ыг ялангуяа генийн дараалал тогтоох аргаар мал, амьтны зүйлийг тодорхойлох болон удам зүйн шинжилгээнд хангалттай хэмжээний генетикийн материал ялган авахад хэрэглэнэ (Le Goff нар, 2009).

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; Stubs 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.

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 (Отота нар, 2016) каприпоксвирусийн энэ нийтлэг аргыг LAMP-ын хоёр нэмэлт урвалтай хослуулан хэрэглэж ЯЦВ-ийг ХЦВ-ээс ялгахад ашиглаж болох талаар тэмдэглэсэн байна (Zhao нар, 2014).

2. Ийлдэс судлалын шинжилгээ

2.1. Вирус саармагжуулах урвал

Шинжлэх ийлдсийг каприпоксвирусийн тогтмол титрийн (100 TCID_{50} [эдийн өсгөвөрт халдварлуулах 50%-ийн тун]) эсрэг титрлэх эсхүл саармагжуулах индексийг тооцоолох зорилгоор шинжлэх ийлдэсний тогтмол шингэлэлтийн эсрэг стандарт вирусийн омгийг титрлэж 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 титрийн хавтан ашиглан урвал тавих аргыг энд тодорхойлж оруулсан бөгөөд урвалыг эсийн өсгөврийн цодонд эзлэхүүнийг нь тохируулан өөрчлөөд мөн адил явуулж болох боловч эсийн өсгөврийн цодонд урвалын төгсгөлийн цэгийн титрийг уншихад илүү төвөгтэй юм. Вирус саармагжуулах урвалд Веро эсийг ашиглахад илүү тогтвортой үр дүн өгдгийг тэмдэглэсэн байна (Kitching & Taylor, 1985).

2.1.1. Шинжлэх арга зүй

- 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 титрийн 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 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 Н мөрний бүх үүрэнд тус тус нэмнэ.
 - iii) Нэг мл тутамд $\log_{10} 6 \text{ TCID}_{50}$ -аас дээш титртэй каприпоксвирусийн лавлагаа омог (ихэвчлэн эдийн өсгөвөрт сайн ургадаг вакцины омог)-ыг 1 мл тутамд $\log_{10} 5.0, 4.0, 3.5, 3.0, 2.5, 2.0, 1.5 \text{ TCID}_{50}$ -тай (50 мкл тутамд $\log_{10} 3.7, 2.7, 2.2, 1.7, 1.2, 0.7, 0.2 \text{ TCID}_{50}$ -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 титрээр шингэлсэн вирусийн бэлдмэл А мөрөнд хийгдэнэ.
 - v) Хавтанг бүрхэж 37°C -д 1 цаг инкубацлана.
 - vi) LT эсийг антибиотик, үнээний хээлийн 2%-ийн ийлдэс агуулсан Ийглийн тэжээлт орчинд 10^5 эс/мл цийдмэг болгон урьдчилан ургуулсан дан үе эсээс бэлтгэнэ. Бичил титрийн хавтанг инкубацласны дараа тэжээлт орчны хяналт болгон ашиглах H11 ба H12 үүрнээс бусад бүх үүрэнд 100 мкл эсийн цийдмэгийг нэмнэ. Н мөрний үлдсэн үүрийг эс болон ийлдэсний хяналтаар ашиглана.
 - vii) Бичил титрийн хавтанг бүрхэж 37°C -д 9 хоног инкубацлана.
 - 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 титрлэлт бүрийн вирусийн титрийг Карберийн аргаар тооцоолно. Хэрэв удаан орхивол вирус эхлээд саармагжих, эсрэг биеэс салах байдлаар эсэд гэнэтийн өөрчлөлт гарна.
 - ix) *Үр дүнг үнэлэх:* Саармагжуулах индексийг сөрөг ийлдэс болон шинжилсэн ийлдэс дэх вирусийн титр хоорондын лог титрийн зөрүүгээр үнэлнэ. ≥ 1.5 индексийг эерэг гэж үзнэ. Нэг малаас халдварын өмнө болон дараа нь ийлдэс авч шинжилбэл урвалын мэдрэх чанар нэмэгдэнэ. Каприпоксвирусийн эсрэг дархлаа ихэвчлэн эсээр дамжин үүсдэг тул ийлдсийн шинжилгээгээр сөрөг үр дүн үзүүлэх, ялангуяа вакцинжуулалтын дараа эсрэг биеийн хариу урвал бага байж болох тул тухайн ийлдэс авч шинжилсэн малыг дархлааны хамгаалалтгүй байна гэж үзэж болохгүй.
- $1/5 - 1/500$ хүртэл шингэлэлт бүхий ийлдэс, үнээний хээлийн булчингийн эсийг ашиглан “тогтмол-вирус/хэлбэлзэх-ийлдэс” аргыг тодорхойлсон байна. Эдгээр эс каприпокс вирусийг мэдрэх чанараараа LT эстэй харьцуулахад маш бага учраас вирус гэнэт өөрчлөгддөг асуудал гарахгүй.

2.2. Флюоресценц эсрэг биеийн шууд бус сорил

Каприпоксвирусээр халдварлуулж бүрхүүл шил дээр ургуулсан эдийн өсгөвөр эсхүл микроскопын тавиур шил дээрх эдийн өсгөврийг флюоресценц эсрэг биеийн 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 конъюгатласан үхэр-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 эсрэг биеийг илрүүлэх мэдрэмтгий бөгөөд өвөрмөц систем юм (Chand нар, 1994).

2.4. Энзим холбоост дархлааны урвал

Хонины цэцэг эсхүл ямааны цэцэг өвчнийг ийлдэс судлалын аргаар оношлох баталгаажсан ЕЛИЗА гараагүй 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 эсрэг бие 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 вакциныг өргөн 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 (Turpurainen нар, 2014). Вирусийн омгийг зөв ялган таньж, тэдний шинж чанар нь суларсан эсэхийг сайтар судлаад үхэр, хонь, ямаанд хэрэглэх вакцины омгийг сонгохдоо харгалзан үзэх хэрэгтэй. Ашигласан вакцины омгоос вакцины хамгаалалтын тун хамаарна. 0240 омгоор вакцинжуулсны дараа хонь, ямаанд үүсэх каприпоксийн 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 түүнээс тогтворын хувьд сул боловч биологийн хувьд чухал ач холбогдолтой дугтуйтай, эсийн гаднах вирион агуулахгүй. Үүний улмаас вакцин нь эсийн гаднах дугтуйтай вирионоос хамгаалах дархлааг өдөөхгүй тул хамгаалалт сул байдаг. Каприпоксийн үхүүлсэн вакцин нь их сайндаа түр зуурын хамгаалал үүсгэнэ.

2. Уламжлалт вакцин үйлдвэрлэлийн тойм, 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 (CA3)-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 тодорхойлсон 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 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 пестивирүс 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 каприпоксийн эсрэг бүрэн дархлааг наад зах нь нэг жилийн турш тогтоох ёстой. Шаардагдах аюулгүй байдал болон идэвхийн шалгалтыг В.2.2.4 *Эцсийн бүтээгдэхүүний цувралын шалгалт* бүлэгт оруулав.

2.2. Үйлдвэрлэлийн арга

Үйлдвэрлэлийн аргыг үйлдвэрлэлийн тойм хэлбэрээр баримтжуулна.

2.2.1. Үйлдвэрлэлийн явц

Вакцины эх омгийг хөлдөөн хатааж 2 мл-ийн цодонд -20°C -д хадгална. Эх омгийг нойтон байдлаар -20°C -д хадгалж болох ч -70°C 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 төмсгийн (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°C -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°C хэмд хадгална. Хадгалахын өмнө ариун чанарыг хянах зорилгоор сав бүрээс 0.2 мл-ийг авна. Вирус титрлэх 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 үйл 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 явцад хэрэглэж буй бүх найрлагын техникийн тодорхойлолт, эх үүсвэрийг баримтжуулж, гаднын зүйл (бактери, мөөгөнцөр, микоплазм, вирус) агуулаагүй болохыг шалган баталгаажуулна. Шалгах дэлгэрэнгүй арга зүйг 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 YHI (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 эсрэг бие агуулаагүй бөгөөд пестивирүс болон бусад вирус, гаднын бактери, микоплазм, мөөгөнцрийн бохирдолгүй болохыг шалгасан байна.

iii) Тэжээлт орчин

Тэжээлт орчин нь пестивирүс болон бусад вирус, гаднын бактери, микоплазм, мөөгөнцрийн бохирдолгүй болохыг шалгасан байна.

iv) Вирус

Эх вирус болон эцсийн вакциныг эдийн өсгөврийн цодон эсхүл бичил титрийн хавтанд титрлэнэ. Вакцины дээжид хөндлөнгийн вирус, түүний дотор пестивирүсийн эс эмгэгшүүлдэг эсхүл эмгэгшүүлдэггүй омог байгаа эсэхийг шалгах бөгөөд энэ шинжилгээнд вакцины вирусийн өөрийн үзүүлж болох нөлөөг арилгах үүднээс дээжийг пестивирүсийн эсрэг бие илрүүлэх шинжилгээгээр сөрөг дүн үзүүлсэн, каприпоксвирусийн эсрэг өндөр титр бүхий дархлааны ийлдэстэй хольж бэлтгэнэ. Вакциныг ариун чанарын шалгалт, титрлэлтийг 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 титр нь $\log_{10} 4.5 \text{ TCID}_{50}$ байх ба энэ нь $\log_{10} 2.5 \text{ TCID}_{50}$ хээрийн тунтай тэнцэнэ. Титрийг баталгаажуулахын тулд хөлдөөж хатаасан бэлдмэлээс санамсаргүй байдлаар сонгосон таван цодонд дахин титрлэнэ.

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 арга зүй 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 хорюу чанартай вирусийн титрийг харьцуулах замаар хийнэ. Вакцин тарьсны дараа наад зах нь гурван амьтныг хяналтын гурван амьтны хамт сонгож цавины урд хэвлийн тууш булчингийн арьсны үсийг хусна. Халдвар хийх вирусийг ариун ФБУ-д 10-тын зэрэг ($\log_{10}$)-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 удаа 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 титрийг тооцохдоо: титрийн зөрүү нь $>\log 10 2.5$ байвал хамгаалж байгаагийн нотолгоо гэж үзнэ.

2.3. Зөвшөөрөл олгоход тавих шаардлага

2.3.1. Аюулгүй чанарт тавих шаардлага

i) Вакцин хэрэглэх 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 сулруулсан омог хэвээрээ байх ёстой.

Аюулгүй чанарын шалгалтыг эцсийн бүтээгдэхүүний цуврал бүрд В.2.2.4 дүгээр бүлэгт заасны дагуу хийнэ.

Вакцин нь түүнийг хэрэглэх заалтгүй амьтанд аюулгүй болохыг тогтоох шалгалтыг хулгана, усан гахайд В.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 байна. Ариун, хөндлөнгийн үүсгэгч агуулаагүй байх зэрэг дээр дурдсан зүйлээс өөр сэрэмжлүүлэх зүйл байхгүй.

2.3.2. Үр нөлөөнд тавих шаардлага

i) МАА-н үйлдвэрлэлд

Вакцины үр нөлөөг В.2.2.4 дүгээр бүлэгт заасны дагуу лабораторийн нөхцөлд вакцинжуулсан малд халдвар хийх туршилтаар харуулна. Вакцин үйлдвэрлэхэд ашиглаж байгаа тухайн омгийн үр нөлөөг дархлаа тогтооход шаардагдах хамгийн бага тунгаар тодорхойлж, одоогийн вирусийн титрийг 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 байдал

Бүх вакцины хүчинтэй хугацааг эхэлж 24 сарын хугацаатай тогтоодог. Вакцин тогтвортой эсэхийг бодит хугацаагаар шалгаж хүчинтэй хугацааны тохирцыг баталгаажуулна. Олон цуврал вакциныг хүчинтэй хугацаанд нь титрлэх замаар тогтмол шалгаж вакцины тогтвортой чанарыг тодорхойлно.

Зохих ёсоор зөв хөлдөөн хатаасан каприпокс вакцин, ялангуяа сахароз, лактоальбуман зэрэг бодисоор хамгаалсан вакциныг -20°C -д хадгалахад 25 жилээс дээш, 4°C -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°C-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.
- 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.
- 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., 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.
- LE GOFF C., LAMIEN C.E., FAKHFACH E., CHADEYRAS A., ABU-ADULUGBAD E., LIBEAU G., TUPPURAINEN E., WALLACE D., ADAM T., SILBER R., GULYAZ V., MADANI H., CAUFOR 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.
- STUBBS S., OURA C.A., HENSTOCKA 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.

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 (ДМАЭМБ-ын цахим хуудаснаас мэдээлэл авна уу:
<https://www.oie.int/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, 2017 ОНД ШИНЭЧЛЭН БАТЛАВ.