

ИТТЕРДІҢ ВИРУСТЫҚ ЭНТЕРИТТІҢ ДИФФЕРЕНЦИАЛДЫҚ БАЛАУ ӘДІСТЕРІ

А. Г. Дарменова, ветеринарлық медицина магистры
Ғылыми жетекші: **Қ. Ж. Кушалиев**, вет. ғылымдарының докторы, профессор

Жәңгір хан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық университеті

Зерттеулеріміздің басты мақсаты иттердің вирустық энтеритін дифференциальді диагностикасы арқылы бастапқы сатысында анықтау. Клиникалық белгілердің пайда болуынан бұрын, нәжіс құрамындағы Canis coronavirus-ты, анықтап уақтылы терапевтикалық көмек көрсетуге болады. Иттердегі вирустық энтеритті уақтылы емдеп және профилактикалық шаралардың нәтижесінде аурудың алдын алуына мүмкіндік береді.

Основной задачей наших исследований явилась дифференциальная диагностика вирусного энтерита собак на ранней стадии. Определение в фекалиях Canis coronavirus до появления клинического проявления болезни позволит своевременно оказать квалифицированную терапевтическую помощь животному. Профилактика и своевременная диагностика вирусного энтерита собак позволит предотвратить распространение болезни.

The primary goal of our researches was differential diagnostics of virus enteritis of dogs at early stage. Definition in faeces Canis coronavirus before occurrence of clinical display of illness will allow to render the qualified therapeutic help to animal in due time. Preventive maintenance and timely diagnostics of virus enteritis of dogs will allow to prevent the spread of illnesses.

Вирустық энтерит барлық елде кездесетін және аса қауіпті төндіретін иттердің вирустық ауруы болып табылады. Иттердің жасына және тұқымымен түріне қарамастан бұл індетке шалдығады. Кейде бұл ауруды «өлімге әкелетін вирус» деп те атайды. Ауруға қарсы вакциналар мен аурудан емдеу әдістері ұсынылып, олар қолданылуда. Алайда, иттерді өлім-жітімге ұшыратып, ит қожаларын емдеу қолдануға қажет шығындарға мәжбүрлеп, шаруашылықтарды үлкен экономикалық зиянға ұшырататын иттің вирустық ауруы Орал қаласы мен оның маңайында кең таралған. Яғни, бұл жұқпалы мәселерін зерттеудің өзектілігі күмән келтірмейтін өндірістік қажеттілік.

Қазіргі таңда вирустық аурулар ішектің асқынулармен (вирустық энтерит) сипатталады. Ал негізгі ішектің асқынуында шектелетін бөлім бұл иттердің вирустық энтеритінде кездеседі. Иттердегі вирустық энтериттің даму жолдары. Қабыну процесі толығымен зерттелмеген. Вирус ішектің крипталарында дамиды. Лизиспен дамиды. Ішектің кілегей қабығы ішек қабырғасынан ысырылып, бүршіктер түзеді. Содан кейін вирус қан мен лимфамен аралас масса түзіп, асқазан ішек жолында ыдырап, бүкіл организмге тарайды, организмнің паренхиматозды мүшелері мен бұлшық ет пен басқа ұлпаларға енеді. 4-5 апталық жастағы күшіктерді миокардит дамиды. Вирустық энтеритке шалдыққан қан сарысуындағы спецификалық антиденелер түзіле бастағаны анық көрінеді [1].

Вирустық энтеритке шалдыққан иттердің организмнің жағдайы туралы ақпаратты алу үшін ғылыми әдістерді тиімді пайдаланып, мәліметтерді алу әдісі мен тәсілін құрастырдық. Осы тұрғыда алынған мәліметтер иттерде кездесетін ауруларын балау, емдеу және алдын алу іс

шараларын өткізуге тиімді пайдаланады, сонымен қатар жалпы ветеринариялық шаралардың сапасын жоғарлатады. Вирус алғашқы-трипсинделген клетка өсіндісінде (күшіктің бүйрегінен алған), тұрақты клетка өсінділерінде өсіріледі. Вирус – адам, жануар, құс, өсімдік және бактериялардың вирус ауруларын қоздырушылар. Вирус тек клетканың ішінде ғана тіршілік ететін тоғышарлар. Себебі олар тек тірі клеткалар немесе организмдер ішінде ғана өсіп жетіледі. Вирустар жоғарғы сатыдағы организмдер сияқты жыныстық жолмен де, бактериялар сияқты бөліну жолымен де көбеймейді. Сондықтанда көбею деген сөздің «репродукция» деген латынның – өндіру, пайда болу деген сөздеріне шыққан термин қолданылады. Вирустарда ерекше дисъюнктивтік көбею жолы кездеседі. Бұл ерекшеліктерді мынадай жағдайдан байқауға болады: зақымдалған клеткада вирус жоғалып кетеді де олардың компоненттерінің құралуы біраз уақытқа созылады [2, 3].

Күшіктердің вирустарға қарсы тұру реакциясы дененің қызуы көтерілуімен, көңіл-күйінің болмауымен ерекшеленеді. Сондай-ақ қанның құрамында өзгерістер пайда болып, антиденелер түзіледі, басқада клиникалық белгілер (қан айналым, тыныс алу, ас қорыту жүйелерінің жұмысының бұзылуымен) пайда болады, патологиялық-анатомиялық өзгерістер пайда болады. Вирустық энтеритпен ауырып жазылған иттерде көптеген жағдайда ұзақ уақытқа дейін вирусты тасымалдаушы болып табылады. Иттердің вирустық энтеритіне диагноз қою үшін биологиялық, морфологиялық, зерттеулер жүргізіп анықтаймыз. Солардың көмегімен аурудың қоздырғышын анықтап, таза түрде бөліп алып және ауру және ауырған иттердің қанындағы арнайы антиденелерді анықтауға болады [4].

Вирусты анықтаудың нәтижесі тексерілетін патматериалды дұрыс алып, сақтап зертханаға дер кезінде жеткізуіне байланысты. Бөліп алынған вирустың биологиялық қасиеттері зерттеледі. Әр түрлі температураға төзімділігі, бояуларға, ортадағы рН мөлшеріне қатынасы. Ауырған иттердің қанындағы антиденелерді (белгілі антиген арқылы) анықтауға болады.

Иттердің вирустық энтеритінің интенсивті дамуы негізінен келесідей жағдайларға байланысты:

- ауру қоздырғышының дозасына;
- организмнің физиологиялық жағдайына;
- ішектің өзге патогендеріне де байланысты болады.

Вирустық энтеритпен ауырған иттердің несепін зерттеу. Сынамаға талдау жасау үшін 20-40 мл-ден таңертенгілік несепті алдын ала стерильденген пробиркаға немесе флаконға алады. Сынаманы алдын ала өңдеу. Несеп құйылған флаконды шайқап, кейін 20-40 мл көлемді пробирканың бетін жауып, центрифугалайды 10 минут 1000 g (12000 мин/айн) ұстайды. Вакумды сорғыш қолдану арқылы тұңбаға әсер етпей-ақ супернатантты алады. Тұңбаға 0,2 мл көлемінде № 2 транспорттық ортаны қосу арқылы араластырады.

Алдын ала өңделіп дайындалған несеп үлгілері:

- 2-8° С температурада 1 апта бойы сақтау;
- минус 20° С температурада 2 айға дейін уақытқа;
- минус 70° С температурада ұзақ уақытқа.

Материалдың тек бір қайтара қатыру мен еріту қарастырылған.

Алдын ала дайындалған материалдарды тасымалдау үшін мұзы бар немесе салқындатқыш элементтері орналасқан арнайы термоконтейнерде жүзеге асырылады. Вирустық энтеритпен ауырған иттердің нәжісін зерттеу. Көлемі шамамен 1-3 г (1-3 мл) массалы нәжісті сынамаға алып зерттейміз. Көп жағдайда нәжіс құрамында қоздырғыштардың аз болуына байланысты жұғынды жасау арқылы зерттеулер жүргізеді. Нәжісті алдын ала дезинфекцияланған ыдысқа жинаймыз. 1 гр (шамасындағы) сынаманы арнайы қасықтармен стерильді флаконға салады.

Алдын ала зерттеулер үшін фекальді суспензия (егер де көпіршікті немесе сұйық күйіндегі нәжіске суспензия дайындалмайды) дайындалады.

Фекальді суспензия дайындау: көлемі 1,5 мл болатын пробиркаға 0,9 мл фосфатты буфер немесе натрий хлоридтің стерильді изотоникалық ерітіндісі қосамыз.

Фосфатты буфер құрамына: NaCl 137мМ, KCl 2,7 мМ, NaHPO₄ 10 Мм, K₂HPO₄ 2 Мм, Рн 7,5 + 0,2. Әрбір пробиркаға 0,1 г (0,1 мл) нәжіс салып, ресуспендирлеу арқылы гомогенді суспензияға айналдырады.

Фекальді алғашқы тәулікте зерттеу мүмкін болмаған жағдайда фосфатты буферге 10-20 % суспензия нәжіске глицериннің 10-15 % концентрациясын қосу арқылы қатырады.

Вирустық агенттерді табу үшін нәжістің түссіз экстрактін дайындау қажет. Нәжістің экстрактын дайындау үшін сулы консистенциялы нәжіс немесе жаңа дайындалған фекалий суспензиясы мен суспензия қажет.

Алынған суспензияны 1000 g (12000 мин/айн) 5мин бойы центрифугалау арқылы түссіздендіреді. Супернатантты (0,1 м) теріс үлгі түрімен араластырып, тұзды-фосфат буферінде ажыратылған і.қ.м 50 % қан сарысуын 1:1 қатынасында ДНҚ бөлу үшін қолданады.

Алдын ала өңделген сынамаларды сақтау ережелері. Фекалий үлгілері:

- 2-8° С температурада 1 тәулік бойы сақтау;
- минус 20 °С температурада 2аптаға дейін уақытқа;
- минус 70 °С температурада ұзақ мерзімге дейін.

Тотальді ДНҚ-ны бөлу әдістері. ЦТАБ (цетилтриметиламмоний бромиді) негізінде экстракті буфер қолдану арқылы ДНҚ экстракциясын алып, хлороформмен (ерітінді көлеміне байланысты) тазартып, сизопропилді спиртке тұндырып (2/3 көлемінде) 70 % этанол немесе леофильмен кептіреді. Бөлінген ДНҚ-ны инъекция үшін 20 мкл ерітіп, бақылау 1% агарозды гель-электрофорездің көмегімен алынады. Форезге 5 мкл ДНҚ ұғындысын жағып дайындаймыз.

ПТР әдісімен орындау үшін реакциялық коспаның құрамы келесідей компоненттерден құралған:

- 0,5 мкл праймерлер;
- ПТР жасау үшін буфердің 2,5 мкл;
- 2,5 мкл dNTP дезоксинуклеотидтрофосфатты қоспа;
- Tag – полимеразасы реакцияға 0,25 мкл көлемінде.

Праймерлердің сәйкестігін *Canis coronavirus* жөніндегі әдебиеттерден қарап таңдау жүргізілді. Әдебиеттерден таңдау арқылы вирустық энтериттің қоздырғышын анықтауда жұп праймер анықталынды. Компьютерлік графика көмегімен жұп праймер таңдалынды. Анализ нәтижесінде жұп праймерлердің бірі CC-1F (attattactttgtatttg) жән екіншісі CC-2R (ggtaggacaagtgaac) *Canis coronavirus* сәйкестігін дәлелдеді [5].

Микроорганизмдердің аппликациялық программасымен *Canis coronavirus*-ті анықтауы 42 сатыдан құралып, құрамында 1-ші этапы 1 мин аралығында 95° С «денатурация», 2-ші этапы 1 мин аралығында 63 °С «отжиг» және соңғы 3-ші этапы 1 мин аралығында 72 °С «элонгация» сатысы анықталынды.

Детекцияны электрофорез әдісімен жасадық. Иттің вирустық энтеритіне диагноз қою үшін эпизоотологиялық жағдайы мен клиникалық белгілеріне назар аудару қажет. Яғни, клиникалық белгілеріне құсудың, геморрагиялық энтериттің, организмнің сусыздануы, ал кейде лейкопенияны да байқауға болады. Ал патологоанатомиялық өзгерістері жіті катаральді қабыну тоқ ішекте анықталды. Мезентериальді лимфа түйіндері көп жағдайда ұлғайған, ісінген және геморрагиялық көріністі.

Нақты диагнозды лабораториялық әдіс арқылы қойылады. Ең жиі қолданылатын әдісі – вирусты ауру иттің нәжісінен анықтаймыз. Аурудың жіті дамуы кезінде иттің нәжісіндегі вирусты анытау арқылы. Вирус антигенін анықтау үшін РГА жасалынады. Ауру қоздырғышының РТГА оң нәтиже көрсету үшін моноспецификалық сарысуды қолданамыз. Айтылған балау әдістерімен қатар вирусологиялық әдістіде кеңінен қолданылады. Вирусты күшіктің бүйрегінен алынған клетка культурасынан бөліп аламыз.

Гистологиялық сынаманы жануар өлгеннен кейін жасайды. Криптадағы эпителиоциттің некрозын, лимфоидты ұлпалы мүшелердегі лимфоцит санының азаюымен сипатталады.

Иттің вирустық энтеритіне диагноз қою үшін эпизоотологиялық жағдайы мен клиникалық белгілеріне назар аудару қажет. Яғни клиникалық белгілеріне құсудың, геморрагиялық энтериттің, организмнің сусыздануы, ал кейде лейкопенияны да байқауға болады. Ал патологоанатомиялық өзгерістері жіті катаральді қабыну тоқ ішекте анықталды. Мезентериальді лимфа түйіндері көп жағдайда ұлғайған және геморрагиялы түрде болады.

Нақты диагнозды лабораториялық әдіс арқылы қойылады. Ең жиі қолданылатын әдіс-вирусты ауру иттің нәжісінен анықтаймыз. Аурудың жіті дамуы кезінде иттің нәжісіндегі вирусты анықтау арқылы жүзеге асады. Вирустың антигенін анықтау үшін РГА жасалынады. Ауру қоздырғышының РТГА оң нәтиже көрсету үшін моноспецификалық сарысуды

қолданамыз. Айтылған балау әдістерімен қатар вирусологиялық әдістiде қолданамыз. Вирусты күшiктiң бүйрек клеткасының культурасынан бөліп алынады [6].

Гистологиялық сынаманы жануар өлгеннен кейін жасайды. Криптадағы эпителиоциттің некрозын, лимфоидты ұлпалы мүшелердегі лимфоцит санының азаюымен сипатталады. Қазіргі таңда иттің вирустық энтеритін балау кезінде ИФА – кеңінен қолдана бастады. Иттің инфекциялық ауруларын анықтау үшін экспресс-балау әдісі қолданылады. Жоғары төзімділікпен ПТР капсульді аққуызбен гендік фрагментіне сай праймерлерді қолданылады. Вирустық энтеритке шалдыққан күшіктердің капсульді аққуызбен гендік фрагментінің көрінісі.

Иттерде кездесетін энтериттің этиологиясы түрліше – аллиментарлы, токсикалық, паразитарлық, бактериялық, вирустық болады. Аллиментарлық диарея да құсу процессімен сипатталып, соңы сәтті аяқталады. Аспирин, нафталин, мышьяк және органикалық фосформен және т.б. улану нәтижесінде гастроэнтерит пайда болады. Гастроэнтерит кезінде де құсу процессі байқалады, бірақ вирустық энтериттен айырмашылығы жүйке жүйесінің қызметінің бұзылуы байқалады. Цестод және нематод, кокцидиялар мен лямблиялар әсерінен болатын паразитарлық гастроэнтериттер баяу дамиды, жалпы жабырқаумен сипатталады. Бактериялық инфекциялардан алдымен күшіктің эмирихиозыннан ажыратуымыз қажет. Күшіктің эмирихиозында нәжісі сұйық, ауру бірнеше күнге созылады. Ал, сальманеллез күшіктерде сирек кездеседі. Барлық жастағы иттер ауырады, бірақ көбінесе күшіктер шалдығады [7].

Зерттеулеріне сүйенсек, балау кезінде сонымен қатар электронды микроскоптада қолданылады. Зерттеу материалдары ретінде ауру иттің нәжісі саналады. Антиденелерді табу мақсатында серологиялық зерттеулерге де жүгінеді. Иттің вирустық энтеритінің дифференциалды балау әдістері. Иттерді энтериті кезінде коронавирусты энтеритпен ажыратуымыз қажет. Күшік организмі сусызданады, нәжісі сұйық, сарғыш-жасыл түсті кілегейлі кейде қан араласта болады. Дене температурасы жоғарламайды. Иттердің вирустық энтеритінің дифференциалдық диагностикасы барысында инфекциялық гепатиттен ажыратуымыз қажет, инфекциялық гепатит кезінде дене температурасы 40...41 °С дейін жоғарлап, кейде жануарларда, қан аралас қосындысы бар диареяларда кездесуі мүмкін.

ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

1. Байко, В. Д. Болезни плотоядных / В. Д. Байко, В. В. Туркевич // Справочник ветеринарного врача. – 2-ое изд., перер. и доп. – М. : Колос. – 1996. – С. 154-155.
2. Игнатов, П. Е. Инфекционных болезнях соба / П. Е. Игнатов. – М. : Сов. Россия. – 1995 – С. 31-38.
3. Зубко, В. Н. Основные болезни собак и меры первой помощи: Сборник / В. Н. Зубко. – М. : Патриот. – 1991. – С. 130-131.
4. Патоморфологические изменения при парвовирусной инфекции у собак : Сб. науч. трудов / Под. общ. ред. В. М. Афанасьева. – Саратов : наука. – 1992. – 278 с.
5. Рахманина, М. М. Выделение парвовируса собак и изучение некоторых биологических свойств. Разработка методов контроля биологических препаратов и диагностических средств / М. М. Рахманина. – М. : ВГНКИ. – 1989. – С. 45-48.
6. Специфическая профилактика инфекционных болезней собак : Сб. науч. трудов / Под. общ. ред. Н. А. Максимова. – М. : Мол. Гвардия. – 2003. – С. 58-63.
7. Широбокова, М. А. Инфекционные болезни / Ваши домашние четвероногие друзья / М. А. Широбокова, А. П. Бацано. – Лениниздат. – 1992. – С. 400-403.