С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университетінің 60 жылдығына арналған **«Сейфуллин оқулары– 13: дәстүрлерді сақтай отырып, болашақты құру»** атты Республикалық ғылыми-теориялық конференциясының **материалдары** = **Материалы** Республиканской научно-теоретической конференции **«Сейфуллинские чтения – 13: сохраняя традиции, создавая будущее»**, посвященная 60-летию Казахского агротехнического университета имени С.Сейфуллина. - **2017. - Т.I, Ч.2. -** С.57-60

СОВРЕМЕННЫЙ ПОДХОД К ДИАГНОСТИКЕ ГИПОДЕРМАТОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И СТЕПЕНЬ ЕГО РАСПРОСТРАНЕННОСТИ В КАЗАХСТАНЕ

В. Гаджибалаева[1]*, студент*
М.А. Куйбагаров[2]*, к.в.н.*
К. Бауэр[1,2]*, д.в.м., профессор*
Л.А. Лидер[1]*, к.в.н.,доцент*
Казахский агротехнический университет им.С.Сейфуллина, Астана
Гиссенский университет им.Юстуса Либиха, Германия

Гиподерматоз является паразитическим заболеванием крупного рогатого скота(парнокопытных) вызываются личинками кожных оводов *Hypodermabovis*(обыкновенный овод) и *Hypodermalineatum*(южный овод). Их личинки изредка встречаются у лошадей и человека. Он причиняет большой ущерб народному хозяйству: у животных,пораженных личинками овода, обесцениваются кожи, снижается удой; больной молодняк плохо откармливается.

Hypoderma spp. имеют годовой жизненный цикл. Коротко говоря, самка овода откладывает яйца на волосы живота, нижней поверхности груди, боковых поверхностей туловища, на волосы конечностей, паха, вымени, как правило, в период с мая по август. Первая стадия личинки, вышедшая из яиц в течение нескольких дней, проникает в тело хозяина и втечение 8-10 месяцев начинается длительная соматическая миграция в доль сосудов и нервов к позвоночнику. Вопервых, они мигрируют в спинномозговой канал (*H.bovis*) или пищевод (*H.lineatum,H.sinense*). В спинномозговом канале остаются в течение 5-6 месяцев. Позже, личинки достигают подкожной ткани спины, и развиваться во второй и третьей личиночной стадии. Вокруг каждой личинки можно увидеть характерные подкожные вздутия («желоба»). Желоба хорошо видны и пальпируется в спинной и поясничной области хозяина в течение нескольких месяцев с конца зимы до начала лета. Затем зрелые личинки третьей стадии через свищевые отверстия выходят из капсулы и падают на землю и окукливаются. После окукливания в течение 4-6 недель появляются взрослые мухи.

Это заболевание зарегистрировано более чем в 55 странах мира (ФАО,1984) и представляет большую проблему для стран Европы, Средней Азии и Китая. Известны случаи вспышек гиподерматоза в Австралии и

Южной Африке, связанные с импортом пораженного оводом крупного рогатого скота (TarryD.W.,1991) [1].

В Российской Федерации после 1991 года, в связи с началом перестроечных процессов в сельском хозяйстве, прекратилось целевое государственное финансирование борьбы с гиподерматозом. В два раза сократился объем противооводовых мероприятий, в следствие чего заболеваемость среди контролируемого поголовья (около53%) возросла в 1014 раз (до2,8-4,5%), а среди 47% поголовья, не подвергаемого противооводовым обработкам, достигает 30-70% (НепоклоновА.А., 2002) [2].

Знание о текущей распространенности и воздействия гиподерматоза в Казахстане довольно скудны. Существует не много исследований о распространении гиподерматоза. В Алматинской и Западно-Казахстанской области, где почти 100% всего крупного рогатого скота заражены личинками *Hypoderma*[3].

Целью исследования является определение степени инвазированности крупного рогатого скота гиподерматозом в Республике Казахстан с помощью серологического метода исследования.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили образцы сыворотки крови крупного рогатого скота. Они были получены от 891 голов 30 молочных ферм в восьми областях(Актюбинская область – 91 проба, Костанайская область – 25проб, Северо-Казахстанская область 136 проб, Акмолинская область 124 проб, Павлодарская область 157 проб, Карагандинская область 107 проб, Восточно-Казахстанская область 147 проб, Алматинская область 104 пробы) в течение зимнего сезона 2015-2016. Образцы были исследованы с использованием коммерчески доступного ELISA набора (бычий сывороточный тест на обнаружения антител к гиподерматозу; IDEXX, Монпелье SAS, Франция) в соответствии с инструкциями изготовителя. Исследование проводилась в центре биотехнологии КАТУ им. С.Сейфуллина в период с мая по август 2016 года.

Принцип работы набора Bovine Hypodermosis Antibody Test Kit (Serum) основан на использовании общего очищенного экстракта личинок первой стадии *Hypoderma lineatum* (L1). Он предназначен для обнаружения специфических антител как в отдельных пробах сывороток крови, так и в пулах образцов сывороток (не более10).

Описания и принцип постановки реакции. Лунки микропланшета покрыты очищенным экстрактом личинок первой стадии *Hypoderma lineatum*(L1). Образцы для тестирования разбавляют и инкубируют в лунках. При наличии вобразце специфических антигену антител, образуется иммунный комплекс. После отмывки от непрореагировавших антител, образовавшийся специфический комплекс выявляется путем внесения ферментного конъюгата специфичного антителам жвачных животных. Диагностическая значимость результата определяется путем сравнения оптической плотности(ОП) образца со средней ОП положительного контроля.

Тестирование. Все реагенты доводили до 18-26° С перед использованием. Провели легкое вортексирование реагентов.

1.Внесли по 190 мкл разбавляющего буфера N.2 (Dilution Buffer N.2) в каждую лунку планшета.

2.Внесли по 10 мкл неразбавленного отрицательного контроля в одну из лунок

3.Внесли 10 мкл неразбавленного положительного контроля в две из лунок.

4.Внесли по 10 мкл неразбавленных образцов в оставшиеся лунки.

5.Смешали содержимое лунок с использованием микропланшетного шейкера.

6.Накрыли микропланшет (крышкой, алюминиевой фольгой или клейкой пленкой) и инкубировали в течение 1ч(±5мин.) при температуре +37°С(±3°С).

7.Промыли каждую лунку внесением 300 мкл промывочного раствора 3 раза. Удалили остатки жидкости на абсорбирующий материал.

8.Внесли по 100 мкл рабочего раствора конъюгата в каждую лунку.

9.Накрыли микропланшет и инкубировали в течение 30 мин(±3мин.) при +37°С(±3°С).

10.Повторили промывку

11.Внесли по 100 мкл субстрата TMBN. 13 (TMB Substrate N.13) в каждую лунку.

12.Инкубировали 20 минут (±3мин.) при 18-26°С в защищенном от света месте.

13.Внесли по 100 мкл стоп-реагента N.3 (Stop Solution N.3) в каждую лунку. Встряхнули микропланшет путем осторожного постукивания. Тщательно протерли нижнюю сторону микропланшет.

14.Измерили и записали значения оптической плотности образцов и контролей при 450 нм.

15.Вычислили результаты.

Результаты. Среднее значение ОП положительного контроля (PCx) должно быть больше или равно 0,350. Отношение между средним значением ОП положительного контроля (PCx) и ОП отрицательного контроля (NCA 450) должно быть больше или равно 3,50.

Калькуляция

Среднее значение ОП положительного контроля (PCx)

$$\overline{PCx} = \frac{PC1\ A_{450} + PC2\ A_{450}}{2}$$

Процент позитивности S/P(%)

$$S/P\ (\%) = 100 \quad x \ \frac{\text{Sample } A_{450} - \text{NC } A_{450}}{\text{PC}\bar{x} - \text{NC } A_{450}}$$

Интерпретация результатов

· S/P(%)≤45% - отрицательные

· S/P(%)>45% но<55%-сомнительные (должны быть повторно исследованы).

· S/P(%)≥55% - положительные.

Результаты исследования.

Результаты наших исследований, отраженные в таблице №1 показывают, что проблема гиподерматозав Казахста не является актуальной. Так, почти все области РК являются эндемичными по данной инвазии, исключение составляет лишь хозяйство в Костанайской области, из 25 проб все показали отрицательный результат.

Таблица 1 - Зараженность поголовья крупного рогатого ската гиподерматозом

№	Область	Количество исследованных проб	Результаты		
			neg	som	pos
1	Актюбинская	91	17	1	73
2	Костанайская	25	25	-	-
3	СКО	136	28	-	108
4	Акмолинская	124	30	1	93
5	Павлодарская	157	35	1	121
6	Карагандинская	107	35	1	71
7	ВКО	147	67	1	79
8	Алматинская	104	12	-	92
	Итого	891	21%	5%	74%

Таким образом, в общей сложности 74% всего крупного рогатого скота были серопозитивными к гиподерматозу, и серопозитивные животные были зарегистрированы в 29 из 30 ферм. Среднее серопревалентность колебалась между областями от 54 до 66% (Актюбинская, Алматинская, Северно-Казахстанская), 89-97% в областях (Павлодарская, Карагандинская, Восточно-Казахстанская). Эти результаты показывают, что гиподерматоз достаточно широко распространен по всему Казахстану.

Список литературы

1. Tarry D.W., Sinclair I.J., Wassall D.A. Progress in the British hypodermosis eradication programme: the role of serological surveillance.Vet Rec. 1992 Oct 3;131(14):310-2.

2. NepoklonovA.A. Ozdorovlenie stad krupnogo rogatogo skota ot gipodermatoza [Recovery of herds of cattle from hypodermatose]. - Veterinariya (2002): p. 3. - Print (in Russ.).

3. Досжанов, Т.Н. Распространение и видовой состав подкожных оводов крупного рогатого скота на территории южных районов Казахстана / Т.Н. Досжанов // Тр. Казахского НИветинститута. 1957.- т. 9. - С.535 - 541.

4. Boulard C, Banting AL, Cardinaud B. 1998. Activity of moxidectin 1% injectable solution against first instar Hypoderma spp. in cattle and effects on antibody kinetics. Veterinary Parasitology 77: 205-210.

5. Guan G, Luo J, Ma M, Yang D, Wang Y, Gao J, Sun H, Liu Z, Liu A, Dang Z, Boulard C, Yin H. 2005. Sero-epidemiological surveillance of hypodermosis in yaks and cattle in north China by ELISA. Veterinary Parasitology 129: 133-137.

Hassan M, Khan MN, Abubakar M, Waheed HM, Iqbal Z, Hussain M. 2010. Bovine hypodermosis - a global aspect. Tropical Animal Health and Production 42: 1615-1625