

UDC 619:579.841.93

Khalilova Z.S.¹, undergraduate

Nasipkalieva A.S.¹, undergraduate

Kakishev M.G.¹, Ph.D

Radojicic B.², Doctor of Veterinary Science, Professor

¹NPJSC «Zhangir khan West Kazakhstan Agrarian-Technical University», Uralsk, Republic of Kazakhstan

²Belgrade University, Belgrade, Republic of Serbia

EXPERIENCE OF IDENTIFICATION BRUCELLA ABORTUS IN VIVO (GUINEA PIG)

Abstract

The success of the fight against animal brucellosis depends on the effectiveness of diagnostic studies. The scientific interest in studying the species composition of the causative agent of brucellosis is important, since this approach can identify sources and reservoirs of infection, correctly and objectively develop a scientifically based scheme of anti-brucellosis measures, a system of measures aimed at protecting people from infection with brucellosis, as well as differentiation of brucellosis pathogens.

In recent years, molecular genetic research methods, in particular, the polymerase chain reaction, have been used to identify, differentiate brucella and confirm laboratory diagnosis. PCR allows in a short time to determine the presence of a specific Brucella DNA sequence in samples of both clinical and field material. The appearance of the PCR method was due to certain achievements of molecular genetics, primarily the decoding of the nucleotide sequence of the genomes of a number of microorganisms. It is impossible not to say that PCR was made possible by the discovery of the unique enzyme taq-DNA polymerase, which is found in bacteria living in geysers. The peculiarity of this polymerase lies in its exceptional heat resistance (withstands heating to boiling point without loss of activity) and high operating temperature (optimum operation - 72 °C)

Laboratory animals, in particular guinea pigs, are very sensitive to all types of brucella (melitensis, abortus, suis). Under the experimental conditions, guinea pigs easily become infected by bacteria of the genus Brucella during parenteral, oral, conjunctival, dermal, and aerosol administration of the pathogen.

Keywords: *Guinea pig, brucellosis, microbiology, diagnostics, DNA, primers.*

Introduction. Brucellosis is an infectious, highly dangerous zoonotic disease caused by bacteria of the genus *Brucella*, which is transmitted from animals to humans, characterized by a severe and often chronic course. Brucellosis is a current public health problem worldwide. Anti-epidemic measures include identification of the pathogen and its source.

One of the most informative indicators is the selection of the causative agent of the disease.

The diagnosis of brucellosis is based on the results of bacteriological, serological, allergic studies and clinical and epizootic data. Clinical signs of disease in animals are not typical - abortions, arthritis, bursitis, endometritis, vaginitis, orchitis, epididymitis can occur in many other diseases. Pathological changes in brucellosis are also of minor nature. The most reliable and accurate diagnosis is laboratory, ie, isolation and differentiation of the pathogen.

In laboratory studies, the pathogen is detected by three methods: smear microscopy, isolation of pure culture from the starting material, and, if necessary, the method of bioassay on guinea pigs [1-3].

At present, advanced technologies are widely used in laboratory practice. The first place among the newest methods is the polymerase chain reaction (PCR), which allows you to quickly and objectively detect the DNA of the infectious disease pathogen in any biomaterial under study. In 1983, Kary Mullis, a Cetus employee, proposed a method that later became known as the polymerase chain

reaction. The essence of the method consists in multiple copying (amplification) of certain sections of DNA in vitro during repeated temperature cycles. At each amplification cycle, previously synthesized fragments are again copied by DNA polymerase. Due to this, there is a multiple increase in the number of specific DNA fragments billions of times, which greatly simplifies further analysis.

The discovery of the method of polymerase chain reaction (PCR) has become one of the most prominent events in the field of molecular biology in the last decade. This allowed to raise the diagnosis to a new level. Due to the high sensitivity and specificity (99%) of the test - system based on PCR are indispensable in cases where other diagnostic methods are impossible. Using the PCR method allows the early diagnosis of diseases using any clinical or pathological anatomical material, as well as samples from environmental objects [4,5].

The purpose of our research was to identify the *B. Abortus* bacteria in the body of guinea pigs.

To achieve this goal, the following tasks were set:

1. Bacterioscopic identification of *B. Abortus* in guinea pig.
2. PCR diagnostics.

Materials and methods. The work was carried out on the basis of the Laboratory of Biotechnology engineering profile Zhangir Khan West Kazakhstan Agrarian-Technical University.

Identification was performed as follows. Introduced vaccine strain -19 3 guinea pigs (n = 3).

For bacterioscopic studies, scrapings from organs were sown on nutrient media of the BCH and MPA.

For carrying out molecular biological studies, total DNA was isolated from bacterial cultures, PCR was performed on an BioRad iQ5 instrument.

Research results. After the introduction of strain 19, guinea pigs were autopsied. At the opening of the abdominal part, hyperemia and swelling of the internal organs were found (figure 1).



Figure 1 - Guinea pig dissection

In the previously prepared tubes of meat-peptone broth and meat-peptone agar, we carried out seeding with Pasteur's loop of internal organs: heart, liver and spleen. After 44 hours, during the secondary examination of the cultures, we found a significant growth of small white colonies, with a smooth and translucent surface, on the agar surface sown from the spleen.

Selected cultures were identified using the tinctorial Gram stain method. The results of bacterioscopic studies showed a positive result by microscopic examination of spleen smears. They

found small oval, cocci-like brucella from about 0,5 to 1,5 μm long, and 0.4–0,6 μm wide, arranged in pairs and small groups (figure 2). When stained according to Gram, brucella is gram-negative, and spores and capsules do not form.

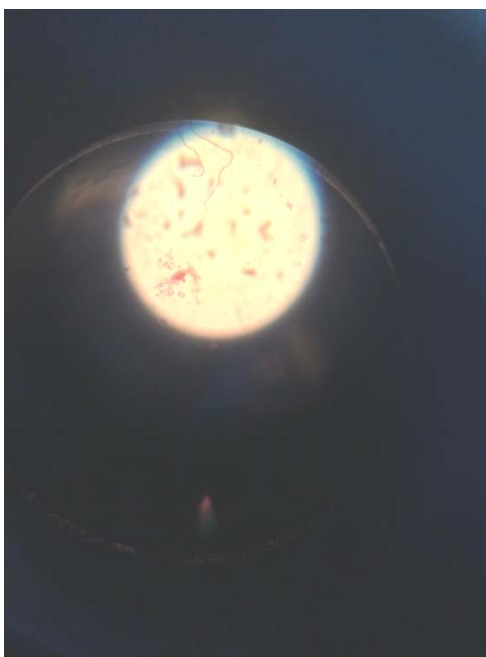


Figure 2 – Microscope picture of Brucella

DNA was isolated from the obtained biological samples. When isolating, the AmpliPrime DNA-Sorb-B reagent kit was used, as well as standard general laboratory equipment for molecular microbiology. With the obtained DNA PCR was performed with previously selected primers. The obtained PCR products were dispersed in an agarose gel by electrophoresis (figure 3).

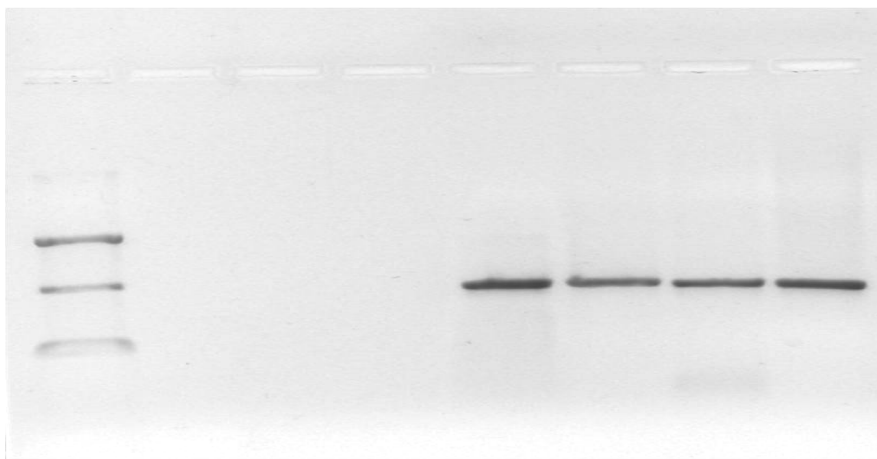


Figure 3 - Detection of B.Abortus by PCR

Conclusion. As a result of the experience of identifying Brucella Abortus in vivo, we found that the primers we selected allow us to detect B. Abortus in living organisms.

REFERENCES

1. Boschioli M.L., Foulongne V., O'Callaghan D. Brucellosis: a worldwide zoonosis // *Curr Opin Microbiol.* – 2001. - № 4(1). – P. 58-64.
2. Morgan W.J., Corbel M.J., Recommendations for the description of species and biotypes of the genus Brucella // *Dev Biol Stand.* – 1976. - № 31. – P. 27 - 37.

3. Pizarro - Cerda J., Moreno E., Gorvel J.P. Invasion and intracellular trafficking of *Brucella abortus* in nonphagocytic cells // *Microbes Infect.* – 2000. - № 2(7). – P. 829-835.

4. Kushaliev K.ZH., Kakishev M.G., Ispol'zovanie polimeraznoj cepnoj reakcii (PCR) dlya indikacii *Brucella* spp. v organizme morskih svinok // *Sovremennye problemy bor'by s osobo opasnymi, ehkzotichesкими i zooantrapanoznymi boleznyami zhivotnyh: mater. mezhdunar. nauch.-prakt. konf., posvyashch. 70 - letiyu professora N.G. Asanova.* – Almaty. - 2012. - S. 75-78. (*in Russian*)

5. Kakishev M.G., Kushaliev K.ZH., Radojichich B. Sravnitel'naya diagnostika brucelleza zhivotnyh metodom PCR i IFA // *Sovremennye integracionnye priority nauki: ot issledovaniy do innovaciy: mater. mezhdunar. nauch.-prakt. konf., posvyashchennoj 50-letiyu Zapadno - Kazahstanskogo agrarno-tekhnicheskogo universiteta imeni ZHangir hana.* – Ural'sk. – 2013. – S. 269-272. (*in Russian*)

ТҮЙІН

Жануарларды бруцеллезбен күресудің табысы диагностикалық зерттеулердің тиімділігіне байланысты. Бұл тәсіл ғылыми негізделген схема бруцеллезге қарсы іс-шаралар, бруцеллез жұқтырған жатқан адамдарды күзетуге арналған іс-шаралар кешенін, сондай-ақ бруцеллез қоздырғыштарының саралауды дамыту дұрыс және объективті, жұқтыру көздері мен су қоймаларын анықтау мүмкін, себебі бруцеллез қоздырғышының тұқымдық құрамын зерттеу Ғылыми қызығушылық, маңызды болып табылады.

Соңғы жылдары, сәйкестендіру, *Brucella* саралау және осындай полимеразды тізбекті реакция ретінде зерттеудің молекулярлық-генетикалық әдістерді қолданып диагноз зертханалық растау үшін. ПТР қысқа уақыт ішінде клиникалық және далалық материалдардың үлгілерінде нақты *Brucella* тізбегінің болуын анықтауға мүмкіндік береді. ПТР пайда әсіресе микроорганизмдердің бірқатар геномдарының нуклеотидті тізбегі декодтау, молекулалық генетика кейбір жетістіктеріне байланысты болды. Біз ПТР Гейзеров табылған бактериялар қамтылған бірегей фермент Тақ-ДНҚ-полимераза ашу мүмкін болды деп айта алмаймын. Осы полимеразой ерекшелігі оның ерекше Ыстыққа (қызмет жоғалтпай қайнау температурасына дейін қыздыру шыдай) және жоғары жұмыс температурасы (- 72 °C оңтайлы жұмыс) болып табылады

Зертханалық жануарлар, әсіресе гвиней шошқалар, барлық бруцелла түрлеріне (*melitensis, abortus, suis*) өте сезімтал. эксперименттік жағдайында оңай агент парентеральды, ауызша, конъюнктивы, тері және аэрозольдық әкімшілігі тектес бруцеллездің бактериясы жұққан гвиней шошқалар болып табылады.

РЕЗЮМЕ

Успех борьбы против бруцеллеза животных зависит от эффективности диагностических исследований. Научный интерес изучения видового состава возбудителя бруцеллеза важен, так как при этом подходе можно выявить источники и резервуары инфекции, правильно и объективно разрабатывать научно обоснованную схему противобруцеллезных мероприятий, систему мер, направленных на ограждение людей от заражения бруцеллезом, а также дифференциация возбудителей бруцеллеза.

В последние годы для идентификации, дифференциации бруцелл и лабораторного подтверждения диагноза используют молекулярно-генетические методы исследования, в частности полимеразную цепную реакцию. ПЦР позволяет в короткие сроки определить наличие специфической последовательности ДНК бруцелл в пробах как клинического, так и полевого материала. Появление метода ПЦР было обусловлено определенными достижениями молекулярной генетики, прежде всего расшифровкой нуклеотидной последовательности геномов ряда микроорганизмов. Нельзя не сказать, что ПЦР стала возможной благодаря открытию уникального фермента тақ-ДНК-полимеразы, содержащегося у бактерий, обитающих в гейзерах. Особенность этой полимеразы заключается в ее исключительной термостойкости (выдерживает нагревание до температуры кипения без потери активности) и высокой рабочей температуре (оптимум работы - 72°C)

Лабораторные животные, в частности морские свинки очень чувствительны ко всем типам бруцелл (*melitensis, abortus, suis*). В условиях эксперимента морские свинки легко заражаются бактериями рода бруцелл при парентеральном, оральном, конъюнктивальном, накожном и аэрозольном введении возбудителя.

УДК 619:614.3:639.331.7

Айтпаева З.С., Ph.D докторант

Тагаев О.О., доктор ветеринарных наук, профессор

НАО «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана»,

г. Уральск, Республика Казахстан

СОВРЕМЕННАЯ ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ ОБСТАНОВКА ПО ЗАРАЗНЫМ БОЛЕЗНЯМ ОВЕЦ В ЗАПАДНО-КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Аннотация

На сегодняшний день в Республике Казахстане разводят 18 отечественных пород овец, выведенных методом народной селекции, а также учеными-селекционерами, которые специализированы почти по всем направлениям овцеводства и районированы во всех природно-климатических зонах нашей страны: тонкорунное, мериносовое; полутонкорунное, кроссбредное; полугрубошерстное; грубошерстное, курдючное и смушковое. При поддержке государством отрасли овцеводства, количество овец в целом по республике динамически увеличивается, достигая на конец 2018 года 21 992,9 тыс. голов.

В статье приводится анализ статистических данных, изучена эпизоотическая ситуация по заразным болезням овец в Западно-Казахстанской области. На основании проведенных исследований выяснилось что, в условиях радикальных изменений в современной системе хозяйствования особое внимание необходимо уделять профилактике и борьбе с инфекционными болезнями животных. За 9 месяцев текущего года было зарегистрировано 17 очагов по особо опасным инфекционным болезням сельскохозяйственных животных (1 по эмфизематозному карбункулу; 13 – бешенству, 2 – пастереллез и 1 – брадзот). За данный период 2017 г. было зарегистрировано 7 очагов. В 2018 году на бруцеллез мелкого рогатого скота исследовано 1 399 тыс. голов (101%), выявлено 1 128, зараженность – 0,08% (2017 – 0,16%). Из заразных болезней овец в 2018 году были зарегистрированы бешенство, а также брадзот. Из всех зарегистрированных очагов заразных болезней овец в ЗКО явились личные подворья хозяев, т.е. единичные очаги. По остальным особо опасным заболеваниям эпизоотическое состояние по области стабильное.

Ключевые слова: овцеводство, эпизоотическая ситуация, ветеринарно-санитарные мероприятия, профилактика болезней, пищевая безопасность, заразные болезни.

Основной целью развития отрасли животноводства в Казахстане является как полное обеспечение внутренних потребностей рынка в продукции агропромышленного комплекса, так и реализация экспортного потенциала. В данном аспекте, ведущую роль в решении поставленной проблемы играет интенсивное развитие овцеводства, которая обеспечивает потребность населения страны в специфических видах сырья и продуктах питания.

На сегодняшний день в Казахстане разводят 18 отечественных пород овец, выведенных методом народной селекции, а также учеными-селекционерами, которые специализированы почти по всем направлениям овцеводства и районированы во всех природно-климатических зонах нашей страны: тонкорунное (КТ), в т.ч. мериносовое (ЮКМ, СКМ, АК, ЕМ); полутонкорунное (МШК, КМП, КМСП), в т.ч. кроссбредное (КП, АКМШ); полугрубошерстное (КПГ); грубошерстное, в т.ч. курдючное (ЕД, КГК, ДПТ-ДПГ, СГК, ОБ) и смушковое (ККК).