

ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 619:579.841.93 **Ж.А. Атамбекова, Э.К. Акматова, С.Б. Чегиров, А.А. Камарли**
Zh.A. Atambekova, E.K. Akmatova, S.B. Chegirov, A.A.-S. Kamarli

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИПА БРУЦЕЛЛ С ПРИМЕНЕНИЕМ AMOS-PCR

DEFINITION OF BRUCELLA TYPE USING AMOS-PCR

Ключевые слова: AMOS (*Abortus Melitensis Ovis Sius*), ПЦР, возбудитель, виды бруцелл, диагностика.

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 и систему мер, направленных на ограждение людей от заражения бруцеллезом. С помощью AMOS-ПЦР анализа бруцеллез диагностирован до видовой принадлежности.

Keywords: AMOS (*Abortus-Melitensis-Ovis-Sius*), PCR (polymerase chain reaction), pathogen, *Brucella* species, diagnostics.

The success of brucellosis control in animals depends on the effectiveness of diagnostic tests. It is important to study the species composition of the causative agent of brucellosis because this approach might identify the sources and reservoirs of infection and develop correctly and objectively science-based scheme of brucellosis control measures intended to protect people against brucellosis infection. By using the AMOS-PCR assay brucellosis has been diagnosed to species belonging.

Атамбекова Жылдыз Абдигаровна, м.н.с., лаб. изучения бруцеллеза с.-х. животных, Кыргызский научно-исследовательский ветеринарный институт им. А. Дуйшеева, Кыргызский национальный аграрный университет им. К.И. Скрябина, г. Бишкек, Кыргызская Республика. E-mail: zhyldyza@bk.ru.

Акматова Эльмира Казакбаевна, д.б.н., с.н.с., зав. лаб. болезней домашних животных, Кыргызский научно-исследовательский ветеринарный институт им. А. Дуйшеева, Кыргызский национальный аграрный университет им. К.И. Скрябина, г. Бишкек, Кыргызская Республика. E-mail: akmatova_elmira@mail.ru.

Чегиров Саламат Биримкулович, к.б.н., с.н.с., лаб. изучения бруцеллеза с.-х. животных, Кыргызский научно-исследовательский ветеринарный институт им. А. Дуйшеева, Кыргызский национальный аграрный университет им. К.И. Скрябина, г. Бишкек, Кыргызская Республика. E-mail: ch_salamat15@mail.ru.

Камарли Айтикин Алий-Сааб, м.н.с., лаб. болезней домашних животных, Кыргызский научно-исследовательский ветеринарный институт им. А. Дуйшеева, Кыргызский национальный аграрный университет им. К.И. Скрябина, г. Бишкек, Кыргызская Республика. E-mail: aitakie27@mail.ru.

Atambekova Zhyldyz Abdigaparovna, Junior Staff Scientist, Farm Animal Brucellosis Lab., Kyrgyz Research Veterinary Institute named after A. Duysheyev, Kyrgyz National Agricultural University named after K.I. Skryabin, Bishkek, Kyrgyz Republic. E-mail: zhyldyza@bk.ru.

Akmatova Elmira Kazakbayevna, Dr. Bio. Sci., Senior Staff Scientist, Head, Domestic Animal Diseases Lab., Kyrgyz Research Veterinary Institute named after A. Duysheyev, Kyrgyz National Agricultural University named after K.I. Skryabin, Bishkek, Kyrgyz Republic. E-mail: akmatova_elmira@mail.ru.

Chegirov Salamat Berimkulovich, Cand. Bio. Sci., Senior Staff Scientist, Farm Animal Brucellosis Lab., Kyrgyz Research Veterinary Institute named after A. Duysheyev, Kyrgyz National Agricultural University named after K.I. Skryabin, Bishkek, Kyrgyz Republic. E-mail: ch_salamat15@mail.ru.

Kamarli Aytakin Aliy-Saab, Junior Staff Scientist, Domestic Animal Diseases Lab., Kyrgyz Research Veterinary Institute named after A. Duysheyev, Kyrgyz National Agricultural University named after K.I. Skryabin, Bishkek, Kyrgyz Republic. E-mail: aitakie27@mail.ru.

Введение

Одной из важнейших задач сельскохозяйственного производства во всем мире является обеспечение населения высококачественной экологически чистой животноводческой продукцией [1, 2].

Бактериологические исследования достаточно трудоемки по исполнению, длительны по получению результатов, представляют определенную биологическую угрозу исследователю и окружающей среде, требуют значительных материальных затрат. Кроме того, результаты индикации бруцелл зависят от качества питательных сред, уровня квалификации исследователя и т.д. [3].

В связи этим использование современных молекулярно-биологических методов с целью изучения биологических характеристик изолятов бруцелл, выделенных из различного биоматериала, позволяющих не только идентифицировать генетическое родство, распространенных в различных регионах Кыргызстана видов бруцелл, но и определять их исходную территориальную циркуляцию и возможность заноса в другие благополучные зоны является одним из перспективных направлений ветеринарной науки.

В настоящее время в Кыргызской Республике одной из актуальных задач эпидемиологического контроля и специфической профилактики является определение типа возбудителя бруцеллеза.

Острозаразные зооантропонозные болезни животных предполагают изыскание новых и усовершенствование существующих методов диагностики, профилактики и ликвидации болезней, вызываемых бруцеллами – бактериями видами *abortus*, *melitensis*, *ovis*, *suis* [4, 5].

Целью работы явилось определение видовой принадлежности возбудителя бруцеллеза у животных.

Объекты и методы

Для типизации бруцелл были взяты образцы крови от 140 невакцинированных коров и 200 невакцинированных баранов-производителей из неблагополучных хозяйств разных регионов Кыргызской Республики.

Исследования проводили серологическими методами с целью выявления специфических антител. Также для постановки ПЦР анализа повторно были взяты пробы крови с антикоагулянтом.

ДНК выделяли из клеток крови с использованием набора для экстракции ДНК из венозной крови DNeasyBloodKit («Qiagen», Германия) (табл. 1).

Для постановки AMOS-PCR анализа использовали готовые праймеры.

Постановку серологических реакций и ПЦР анализа проводили по общепринятым методикам. Полученные ампликоны ПЦР продукта разделяли посредством электрофореза в 1,7%-ном агарозном геле [1, 6].

Результаты электрофореза учитывали специфические полосы на уровне соответствующего контроля под трансиллюминатором.

Результаты и их обсуждение

Были исследованы все образцы отобранных сывороток крови серологическими методами для выявления специфических антител, из них 9 образцов дали положительный результат.

Далее проводили ПЦР анализ с целью типизации бруцелл.

Во всех дорожках с ДНК-пробами обнаружили специфические светящиеся полосы (на уровне 498 п.н.), соответствующие контрольному фрагменту ДНК *Br.abortus* (рис.), а также светящиеся полосы (на уровне 731 п.н.), соответствующие контрольному фрагменту ДНК *Br.melitensis*.

Таблица 1

Видовая характеристика праймеров

Виды	Праймеры
<i>Br. abortus</i>	5' – GACGAACGGAATTTTCCAATCCC-3'
<i>Br. melitensis</i>	5' – AAATCGCGTCCTTGCTGGTCTGA-3'
<i>Br. ovis</i>	5' – CGGGTTCTGGCACCATCGTTCG-3'
<i>Br. suis</i>	5' – GCGCGTTTTCTGAAGGTTTCAGG-3'
Универсальный праймер IS711	5' – TGCCGATCACTTAAGGGCCTTCAT-3'

Таблица 2
Длина разделяемых фрагментов ДНК
контрольных проб

Вид	ПЦР-продукт
Br. abortus DNA	498 bp
Br. melitensis DNA	731 bp
Br. ovis DNA	976 bp
Br. suis DNA	285 bp



Рис. Выделенные штаммы бруцелл
из образцов крови КРС:
bp – отрицательный контроль
для рода бруцелл,
положительные контрольные образцы:
А – Br. Abortus; М – Br. Melitensis;
О – Br. Ovis; S – Br. suis

Пробы 3, 7, 9 дали свечение на уровне 498 п.н., что соответствует контролю на Br. abortus, пробы 1, 2, 4, 5, 6, 8 дали свечение на уровне 731 п.н., что соответствует контролю на Br. melitensis.

Таким образом, с применением АМОС-ПЦР анализа удалось установить, что 3 пробы крови от серопозитивных КРС относятся к типу Br. abortus, а 1 проба от КРС и 5 проб от овец принадлежат к Br. melitensis.

Из вышеприведенных данных следует, что среди КРС наблюдалась миграция возбудителя бруцеллеза типа Br. melitensis.

В данное время для Кыргызской Республики очень важно и необходимо проводить определение типа возбудителя бруцеллеза с применением АМОС-ПЦР, так как это позволяет осуществлять эпидемиологический контроль бруцеллеза в стране.

Заключение

В результате проведенных нами исследований определены различные виды бруцелл. Таким образом, из 140 проб, полученных от коров, положительными оказались 4 пробы, из 200 проб, полученных от баранов, положительными были 5 проб.

В связи с этим можно заключить, что применение АМОС-ПЦР в диагностике бруцеллеза является перспективным направлением и требует дальнейших исследований по подбору наиболее подходящих методов борьбы против этой инфекции.

Библиографический список

1. Cardoso P.G., Macedo G.C., Azevedo V., Oliveira S.C. Brucella spp noncanonical LPS: structure, biosynthesis, and interaction with host immune system // Microb. Cell Fact. – 2006. – Vol. 5. – P. 13-22.

2. Boschioli M.L., Foulongne V., O'Callaghan D. Brucellosis: a worldwide zoonosis // Curr. Opin. Microbiol. – 2001. – Vol. 4 (1). – P. 58-64.

3. Барамова Ш.А., Султанов А.А., Шевцов А.Б., Адамбаева А.А. Молекулярно-генетическая характеристика некоторых эпизоотических и эталонных штаммов бруцелл // Проблемы теории и практики современной ветеринарной науки: сб. науч. тр. – Алматы, 2013. – С. 68.

4. Гребенникова Т.В., Грабовецкий В.В. и др. Дифференциальная диагностика микобактерий методом ПЦР // Ветеринария. – 1999. – № 3. – С. 17-20.

5. Скляр О.Д. и др. Молекулярное типирование м.о. // Сб. тезисов 4-й Всероссийской научно-практической конф. – М., 2002. – 240 с.

6. Rodriguez A., Abad R., Orduna A. Species and biovars of the genus Brucella. Etiology of human brucellosis in Spain // Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. – 1992. – Vol. 10 (1) – P. 43-48.

References

1. Cardoso P.G., Macedo G.C., Azevedo V., Oliveira S.C. Brucella spp noncanonical LPS: structure, biosynthesis, and interaction with host immune system // Microb. Cell Fact. – 2006. – Vol. 5. – P. 13-22.

2. Boschioli M.L., Foulongne V., O'Callaghan D. Brucellosis: a worldwide zoonosis // Curr. Opin. Microbiol. – 2001. – Vol. 4 (1). – P. 58-64.

3. Baramova Sh.A., Sultanov A.A., Shevtsov A.B., Adambaeva A.A. Molekulyarno-geneticheskaya kharakteristika nekotorykh epizooticheskikh i etalonykh shtammov brutsell // Problemy teorii i praktiki sovremennoy veterinarnoy nauki: sb. nauch. tr. – Almaty, 2013. – S. 68.

4. Grebennikova T.V., Grabovetskiy V.V. i dr. *Differentsial'naya diagnostika mikobakteriy metodom PTsR // Veterinariya. – 1999. – № 3. – С. 17-20.*

5. Sklyarov O.D. i dr. *Molekulyarnoe tipirovanie m.o. // Sb. tezisov 4-y Vse-*

rossiyskoy nauchno-prakticheskoy konf. – M., 2002. – 240 s.

6. Rodriguez A., Abad R., Orduna A. *Species and biovars of the genus Brucella. Etiology of human brucellosis in Spain // Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. – 1992. – Vol. 10 (1) – P. 43-48.*



УДК 619:636.32/38-053.31:591.46:611-018

Ю.Н. Фисенко
Yu.N. Fisenko

МОРФОЛОГИЯ ЯИЧНИКОВ У САМОК ОВЕЦ ЗАПАДНО-СИБИРСКОЙ МЯСНОЙ ПОРОДЫ

THE MORPHOLOGY OF SHEEP OVARIES OF WEST SIBERIAN MUTTON BREED

Ключевые слова: морфология, яичники, самка, овца, западно-сибирская мясная порода.

первый раз ярок можно спаривать в 12-месячном возрасте, ибо ранняя случка нарушает рост и развитие организма.

Keywords: morphology, ovaries, female sheep, sheep, West Siberian mutton sheep breed.

Знание строения, топографии и функциональных особенностей яичников самок животных в разные физиологические периоды позволяет определить их нормальное состояние, правильно провести гинекологическое обследование, диагностировать акушерско-гинекологическую помощь, а также учитывать в селекционно-племенной работе. У самок выведенной западно-сибирской мясной породы овец морфология яичников практически до настоящего времени не изучено. Поэтому целью наших исследований стало изучение морфологических особенностей яичников у самок данной породы. Комплексом анатомических, гистологических и гистохимических показателей было исследовано функциональное состояние яичников у самок овец западно-сибирской мясной породы. В результате исследований было выявлено, что яичники у ярок – анатомически сформированные органы, округлой формы, располагаются на уровне первого крестцового позвонка и латерально от рогов матки, с выраженной асимметрией. С поверхности покрыты зачатковым эпителием, который с возрастом в отдельных участках уплощается. Под ним располагается белочная оболочка, состоящая из плотной соединительной ткани, которая также претерпевает возрастные изменения. Мозговая зона располагается в центре яичника и от фолликулов свободна, представлена рыхлой соединительной тканью. Корковая зона занимает периферическую часть яичника. В этой зоне заложены фолликулы, которые делятся на примордиальные, первичные, вторичные и третичные фолликулы. С 4 мес. появляется сформированное желтое тело, которое имеет зрелый вид. Таким образом, у овец западно-сибирской мясной породы начало полового созревания отмечено с 4-месячного возраста, а половая зрелость выявлена в возрасте 6 мес., о чем указывают выявленные нами зрелые третичные фолликулы, желтое тело и атретические тела. Однако

The knowledge of structure, topography and functional features of female animal ovaries at different physiological stages enables to define their normal condition, properly conduct pelvic examination and select obstetric and gynecologic care. This information is also useful in sheep selective breeding. The West Siberian mutton sheep breed is rather new breed, so ovary morphology of this breed is still understudied. The research goal was to study ovary morphology of the breed. The functional condition of the ovaries in female sheep was studied by anatomical, histochemical and histological methods. The research has revealed that ovaries in female lambs are developed and have round shape. The ovaries have strong asymmetry and located on the first sacral vertebra level and lateral to uterine horns. They are covered with germinal epithelium which flattens with the age. There is albugineous coat underneath consisting of thick connective tissue which also changes with the age. The renal medulla is located separately from the follicles in the middle of the ovary. The renal medulla consists of loose connective tissue. The cortex is located in the peripheral part of the ovary. There are follicles in this zone that are subdivided into primordial, primary, secondary and tertiary follicles. Developed yellow body of ovary appears from the age of 4 months. Thus, puberty in West Siberian mutton sheep begins at 4 months and completes by the age of 6 months. This is proved by the revealed mature tertiary follicles, yellow body of ovary and interstitial glands. However it is advised to breed female lambs at the age of 12 months since early breeding interferes proper growth and development of the body.