N E W S
OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN
SERIES OF AGRICULTURAL SCIENCES
ISSN 2224-526X
Volume 6, Number 42 (2017), 58 – 63

O. O. Zhanserkenova, Sh. N. Kassymbekova, U. S. Tastaganova,
M. T. Nurgalyeva, Kh. B. Abeuov

Kazakh National Agrarian University, Almaty, Kazakhstan

MULTIPLEXED POLIMERASIS CHAIN REACTION FOR DIAGNOSTICS OF CAMPYLOBACTERIOSIS OF INFECTION

Abstract. Campylobacteriosis of cattle is one of the most economically important diseases of dairy cattle, leading to a decrease in the production of litter, death of the embryo and abortion. However, little information is available on the distribution of campylobacteriosis of cattle in Kazakhstan. The present results of the studies showed the detection of Campylobacterfetus subsp. venerealis with the help of multiplex PCR in the dairy cattle department of the Almaty region.

Keywords: campylobacteriosis of cattle, multiplexed PCR-diagnostics, desoxyribonucleic acid, biochemical researches.

УДК636.2:579.835.12

О. О. Жансеркенова, Ш. Н. Касымбекова, У. С. Тастаганова,
М. Т. Нургалиева, Х. Б. Абеуов

Казахский национальный аграрный университет, Алматы, Казахстан

МУЛЬТИПЛЕКСНАЯ ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ КАМПИЛОБАКТЕРИОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

Аннотация. Кампилобактериоз крупного рогатого скота является одной из наиболее экономически важных болезней молочного скота, приводящего к снижению получения приплода, гибель эмбриона и аборты. Однако мало информации доступно относительно распространения кампилобактериоза КРС в Казахстане. Настоящие результаты исследований показали выявления Campylobacterfetus subsp. venerealis спомощью мультиплексной ПЦР в стаде КРС молочного направления Алматинской области.

Ключевые слова: кампилобактериоз крупного рогатого скота, мультиплексная ПЦР-диагностика, ДНК, биохимические исследования.

Введение. Для крупного рогатого скота ведущее значение имеет два вида: C. fetus подвида. fetus и C. fetus подвид. venerealis [1, 2]. Campylobacter fetus venerealis исключительно населяет генитальный тракт крупного рогатого скота и вызывает кампилобактериоз. Как правило, Campylobacter fetus venerealis может мигрировать из кишечника в генитальный тракт через восходящие половые пути. Основной способ передачи Campylobacter fetus venerealis – является половой. Тем не менее, они могут выжить в сперме быков, что делает их передаваемой с помощью искусственного оплодотворения. У быков C. fetus venerealis, как правило, протекает клинически бессимптомно. Основной источник возбудителя инфекции при кампилобактериозе крупного рогатого скота – зараженные быки-производители, у которых микроб очень долго (фактически пожизненно) сохраняется в препуциальном мешке, семенниках, придатках и выделяется со спермой, препуциальной слизью и секретом предстательной железы. У коров C. fetus venerealis вызывает клинические признаки половой инфекции, что может вызвать аборты [3-7].

По определению C. fetussubsp. venerealis, вызывает половую кампилобактериозную инфекцию у быков (BGC), в то же время и связан со спорадическими случаями аборта у коров (Mshelia и др., 2010). Кампилобактериоз КРС принадлежит списку B, подлежащий регистрации болезней Международного эпизоотического бюро (МЭБ), состоящий из болезней, которые имеютсоциально-экономическое значение (McMillen. L.и др., 2006). Инфекция, прежде всего, приводит к бесплодию коров, связанных с воспалением половых путей. Передача причинного агента происходит, главным образом, во время естественного спаривания, и присутствие C. fetussubsp. venerealis в сперме быков создает риск распространения болезни посредством естественного спаривания и искусственного оплодотворения [8-12].

Кампилобактериозная инфекция является актуальной проблемой для многих стран мира в связи с чрезвычайно широким ее распространением, интенсивной циркуляцией возбудителей, а также высокими показателями заболеваемости среди животных и людей. Кампилобактериоз является зоонозным заболеванием, возбудитель болезни бактерия рода Campylobacter, который зарегистрирован в качестве ведущего пищевого патогена, и в настоящее время считается основной причиной бактериального гастроэнтерита человека во всем мире [13, 14].

Род Campylobacter включает около 20 видов, из них Campylobacter jejuni и Campylobacter SPP являются причиной большинства инфекций, вызванных этой бактерией. Молочные продукты предопределены как основный источник инфекции Campylobacter и заняли первое место среди пищевых продуктов вызывающие вспышки кампилобактериоза у человека [15, 16].

При выполнении мероприятий, связанных с профилактикой и ликвидацией кампилобактериоза, а также при ветеринарно-санитарном контроле большое внимание уделяется диагностике. Бактериологическая диагностика кампилобактериоза затруднительна, что связано с особенностями культивирования кампилобактерий. Сложность культивирования кампилобактерий и высокая стоимость бактериологических исследований привела к недооценке значимости кампилобактерий в этиологии острых кишечных инфекций у людей. Это приводит к искажению реальной картины распространенности данного заболевания.

В последнее десятилетие в ветеринарной практике для диагностики инфекционных заболеваний активно используется ПЦР. В диагностических лабораториях США и Европы выявление кампилобактерий методом ПЦР стало рутинной практикой.

Целью исследований являлосьвыявление кампилобактерий у крупного рогатого скота методом мультиплексной ПЦР в хозяйствах Алматинской области.

Материалы и методы исследований. Исследования с целью диагностики кампилобактериоза крупного рогатого скота и выделенных культур возбудителя этого заболевания проводили в лаборатории Зеленой биотехнологии и клеточной инженерии Казахстанско-Японского инновационного центра Казахского национального аграрного университета.

В хозяйствах Алматинской области с диагностической целью для выделения геномной ДНК из исследуемого материала, для ПЦР анализа каждый образец влагалищной слизи брали от коров отдельным набором инструментов в 1,5 мл пробирки эппендорф и также отдельно в 1,5 мл пробирки эппендорфв такой таком же объеме были взяты для микробиологических исследований. Были отобраны коровы из молочного стада, с предыдущей историей одного или нескольких абортов, неэффективные оплодотворения. Образцыцервикально-вагинальной слизи были собраны у коров, с использованиемвнутриутробной пипетки, поцарапанная в различных направлениях (Tedescoи др., 1977) [17]. Собранные образцы были немедленно были помещены в физраствор и транспортную среду. Затем образцы были доставлены в лабораторию в течение 1–2 ч. Паралельно образцы были культивированы при микроаэрофильных условиях, на обогащенных средах при 42°C в течение 2–3 ч, затем при 37°C в течение 44 ч. Затем 1 мл образца использовался, чтобы извлечь ДНК.

Затем 39 образцов цервикально-влагалищной слизи от коров были подвергнуты микробиологическим исследованиям с целью выделения культуры и идентификации Campylobacterfetus. Для ПЦР анализа образцы влагалищной слизи, отстаивали при комнатной температуре в течение 30 мин., несколько раз отмывали PBS буфером и центрифугировали при 12 тыс. об/мин, затем удаляли надосадочную жидкость и добавили 0,5 мл лизирующего буфера и использовали для выделения ДНК.