

«Сейфуллин оқулары – 16: Жаңа формациядағы жастар ғылыми-Қазақстанның болашағы» атты халықаралық ғылыми-теориялық конференциясының материалдары =Материалы Международной научно-теоретической конференции «Сейфуллинские чтения – 16: Молодежная наука, новой формации - будущее Казахстана. - 2020. - Т.1, Ч.1 - Б.221-222

## **BABESIA BOVIS АНЫҚТАУ ҮШІН ӘЗІРЛЕНГЕН ПТР ТЕСТ-ЖҮЙЕСІНІҢ АРНАЙЫЛЫҒЫН БАҒАЛАУ.**

*Махамед Р., ВжМШТ кафедрасының 1 курс докторанты  
Нұр-Сұлтан қ., ҚазАТУ*

*Куйбагаров М.А., ветеринария ғылымдарының кандидаты  
Нұр-Сұлтан қ., Ұлттық биотехнология орталығы  
.Шевцов А.Б., биология ғылымдарының кандидаты  
Нұр-Сұлтан қ., Ұлттық биотехнология орталығы*

Бабезиоз – қоздырғыштары *Babesia* түріне жататын протозойлы қанпаразиттерінен туындайтын жануарлардың облигатты-трансмиссивті ауруы. Қоздырғыштардың биологиялық тасымалдаушылары қансорғыш буынаяқтылар – иксодты кенелер болып табылады[1]. Бабезияның әрбір түріне өздерінің ерекше биологиялық тасымалдаушылары тән, сондықтан бұл аурулардың таралу аймағы кенелердің жекелеген түрлерінің таралуына тығыз байланысты. Бабезиоздармен ірі қара мал, қой, жылқы, шошқа, иттер, мысықтар ауырады [2]. Ірі қара мал бабезиозының қоздырғышы – *Babesia bovis*. Олар эритроциттерде жинақталады, кейде лейкоциттер мен қан плазмасында да кездестіруге болады [3]. Жануардағы бабезиоздың ауырлығы қоздырғыштың патогендігіне, ағзаның резистенттілігіне, паразиттік кенелердің санына және басқа да факторларға байланысты [4]. Бабезиоз ауруы Еуропаның көптеген елдерінде таралған. Ресейде ауру ірі қара малдарда солтүстік-батыс аймағында, Ресейдің орталығында, сирек – Солтүстік Кавказда және Кавказда байқалады [5]. Қазақстандағы ірі қара малдың бабезия қоздырғыштарын жұқтыруы оңтүстік аймақтарда 5,8% құрайды[6].

Әдетте, гемопаразиттердің диагностикасы қан жағындысын талдауға негізделген [7]. Алайда, диагностиканың бұл әдісі арнайы емес және кейбір техникалық қиындықтармен қатар жүреді, кейбір жағдайларда паразитемияның төмен деңгейіне байланысты оны жүргізу мүмкін емес [8]. Полимеразды тізбекті реакция (ПТР) және иммунологиялық талдаулар сияқты молекулалық әдістер әлдеқайда сезімтал және инфекцияларды түр мен түр асты деңгейлерінде саралауға мүмкіндік береді [9]. ПТР-ның диагностикалық құндылығы классикалық микроскопиядан бірнеше есе асып түседі. Себебі ПТР қан паразиттерін клиникалық сатыда және тасымалдау сатысында анықтауға мүмкіндік береді. Ал, микроскопиялық зерттеулер болса тек қан паразиттерін аурудың клиникалық кезеңінде ғана анықтайды [10].

Қазақстанның оңтүстік аймақтарындағы бабезиоздың эндемиясы канпаразитарлы ауруларды бақылаумен жануарлардың еркін орын ауыстыруы жағдайында жаңа ошақтардың пайда болуы және эндемиялық аймақтарда жағдайдың ушығуы қаупін туғызады [6]. Осыған байланысты диагностика жүргізу эпизоотологиялық мониторинг және аурумен күресте қажетті элемент болып табылады.

Зерттеу материалдары ретінде 2019 жылы мамыр айында Жамбыл және Түркістан облыстарының жеке аулаларында ұсталатын әр түрлі сиырлардан жиналған 109 қан сынамалары қолданылды. *Babesia bovis* үшін таңдалынған праймерлер үшін қолданылған амплификация хаттамасының есептік шарттары: реакциялық қоспада 15 pmol тура және кері праймерлер, 10 mM Tris-HCl (25°C кезінде рН 8.8), 50mM KCl, 0.08% (v/v) Nonidet P40, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 мкмоль әрбір dNTP, 2 бірлік Taq DNA полимеразасы (Alpha ferment, Russia); ПЦР бағдарламасы: бастапқы денатурация 95°C - 3 минут; 95°C - 30 секундта денатурация және 42 цикл: 60°C-40 секунд праймерлер байланысуы, 72°C - 50 секунд ішінде элонгация, 72°C-5 финалдық элонгация. ДНҚ амплифицирленген мақсатты фрагменттерін талдау бромды этидий қатысымен 1,5% агарозды геледе жүргізілді. Электродты буфер ретінде 1x TAE-буфер қолданылды. Алынған нәтижелерді құжаттау QuantityOne (Bio-Rad) бағдарламалық қамтамасыз етуін және Gel Doc (Bio-Rad) гельдерінің құжаттама жүйесін пайдалана отырып жүргізілді.

Әзірленген тест-жүйені пайдалану арқылы 109 ДНҚ коллекциялық үлгілерін тестілеу нәтижесінде келесі нәтижелер анықталды: 9 үлгіде *Babesia bovis* үшін спецификалық амплификация өнімдері анықталды. Осылайша, жүргізілген зерттеулер нәтижесінде Қазақстанның Жамбыл және Түркістан облыстарындағы бірнеше жеке адамдар қожалығындағы ірі қара малдан жинақталған сынамаларға тейлериоз бойынша жалпы жағдай нақтыланды. Бабезиозды жұқтыру деңгейі 8%-ды құрады. Әзірленген тест-жүйені пайдалана отырып алынған нәтижелер Г.С. Шабдарбаева мен оның әріптестері жүргізген Қызылорда облысындағы бұрынғы нәтижелерімен сәйкестік көрсетті, ол зертеулерде бабезиозды жұқтыру 5,8%-ды құраған болатын. Біздің зерттеу жұмысындағы сәл байқалатын артық көрсеткіш (2,2%-ға) Г.С. Шабдарбаева жүргізген микроскопиялық әдістермен салыстырғанда ПТР әдісінің сезімталдығымен байланысты болуы мүмкін.

#### Әдебиеттер тізімі.

1. Standfast N.F. & Jorgensen W.K. Comparison of the infectivity of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* and *Anaplasma centrale* for cattle after cryopreservation in either dimethylsulphoxide (DMSO) or polyvinylpyrrolidone (PVP). Aust. Vet. J., - 1997. – P. 62–63.

2. Buling A., Criado-Fornelio A., Asenzo G., Benitez D., Barba-Carretero J.C. & Florin-Christensen M. A quantitative PCR assay for the detection and quantification of *Babesia bovis* and *B. bigemina*. Vet. Parasitol., - 2007. – P. 16–25.

3. Dominguez M., Echaide I., De Echaide S.T., Wilkowsky S., ZabaL O., Mosqueda J.J., Schnittger L. & Florin-Christensen M. Validation and field evaluation of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of *Babesia bovis* infections in Argentina. *Clin. Vaccine Immunol.*, - 2012. – P. 924–928.

4. Bono M.F., Mangold A.J., Baravalle M.E., Valentini B. S., Thompson C.S., Wilkowsky S.E., Echaide I.E., Farber M.D. & Torioni De Echaide S.M. Efficiency of a recombinant MSA-2c-based ELISA to establish the persistence of antibodies in cattle vaccinated with *Babesia bovis*. *Vet. Parasitol.*, - 2008. – P. 203–210.

5. Iseki H., Alhassan A., Ohta N., Thekiso O.M., Yokoyama N., Inoue N., Nambota A., Yasuda J. & Igarashi I. Development of a multiplex loop-mediated isothermal amplification (mLAMP) method for the simultaneous detection of bovine *Babesia* parasites. *J. Microbiol. Methods*, - 2007. – P. 281–287.

6. Ахметова Т., Шабдарбаева Г.С. Распространение тейлериоза крупного рогатого скота в кзылординской области казахстана // Материалы X Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум».

7. Iqbal F, Khattak R, Ozubek S, Khattak M, Rasul A, Aktas M (2013) Application of the reverse line blot assay for the molecular detection of *Theileria* and *Babesia* sp. in sheep and goat blood samples from Pakistan. *Iran J Parasitol* 8:289–295

8. Brown W.C., Norimine J., Knowles D.P. & Goff W.L. Immune control of *Babesia bovis* infection. *Vet. Parasitol.*, - 2006. – P. 75–87.

9. Figueroa J.V., Chieves L.P., Johnson G.S. & Buening G.M. Multiplex polymerase chain reaction based assay for the detection of *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* DNA in bovine blood. *Vet. Parasitol.*, - 1993. – P. 69–81.

10. Waltisbuhl D.J., Goodger B.V, Wright I.G., Commins M.A. & Mahoney D.F. An enzyme linked immunosorbent assay to diagnose *Babesia bovis* infection in cattle. *Parasitol. Res.*, - 1987. – P. 126–131.