микротасығыштардың өсіру технологиясында қолданылуының жоғары мүмкіншілігі барын растайды.

Түйін сөздер: вирус, ұсақ күйіс қайыратын малдар обасы, Vero жасуша өсіндісі, суспензиялық өсіру, микротасығыштар.

MICROCARRIERS IN VERO SUSPENSION CELL CULTURE: AN APPROACH FOR EFFICIENT REPLICATION AND SCALE-UP OF PPR VIRUS (NIGERIA 75/1 STRAIN)

Sametova Zh. Zh.*, Amanova Zh. T., Turyskeldy Sh. S., Ussembay A. K., Abitaev R. T., Kondybaeva Zh. B., Bulatov Ye. A.

LLP «Research Institute for Biological Safety Problems», National holding «QazBioPharm», Guardeyskiy, Republic of Kazakhstan
*zh.sametova@biosafety.kz

Abstract. This study assessed the replication of the Nigeria 75/1 strain of the peste des petits ruminants (PPR) virus in Vero cells cultured in suspension using microcarriers. This approach represents a modern platform that combines the advantages of suspension cultivation with the high specific productivity of cells achieved through adhesion to the surface of microcarriers.

The influence of various parameters—type of microcarriers (Cytodex 1 and Cytodex 3), seeding concentration of Vero cells, infectious dose of the virus, and cultivation duration—on the system's productivity was investigated. Experimental results demonstrated that the use of microcarriers ensures reliable adhesion and active proliferation of Vero cells, thereby creating optimal conditions for virus replication. The obtained viral titer (≥ 6.75 log $TCID_{50}/cm^3$) exceeded the values reported for traditional monolayer cultivation, indicating increased efficiency of virus replication. Thus, the obtained data confirm the high potential of cultivation technology using microcarriers both for experimental studies and for industrial development and production of a vaccine against PPR.

Keywords: virus, peste des petits ruminants, Vero cell culture, suspension culture, microcarriers.

МРНТИ 34.15.27 DOI:10.58318/2957-5702-2025-23-13-22

Оригинальная статья

ВЫЯВЛЕНИЕ БРУЦЕЛЛ В КЛЕЩАХ *DERMACENTOR MARGINATUS*

Шыныбекова Г. О., Алмежанова М. Д., Кожабергенов Н. С., Султанкулова К. Т.

ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Национальный холдинг «QazBioPharm», Гвардейский, Республика Казахстан
*sh.gaukhar@biosafety.kz

Аннотация. Клещи являются переносчиками многочисленных патогенов, а их бактериальный состав, численность, разнообразие и взаимодействие влияют как на их рост, так и на эффективность передачи болезней. Появление технологий метагеномного секвенирования нового поколения (NGS) расширило возможности обнаружения и характеристики микробных патогенов. Благодаря анализу данных о последовательностях можно идентифицировать наличие ДНК бруцелл у клещей и определить ее генетические характеристики. В весенний период 2023 года в Таскалинском районе Западно-Казахстанской области, собраны образцы клещей. Секвенирование генов 16S рРНК бактерии в образцах клещей проведено с использованием платформы Ion Torrent по технологии NGS.

В образцах клещей *D. marginatus*_WKR_Taskala метагеномный анализ выявил *Brucella suis bv. 3* (25%) и другие виды *Brucella* (75%). Анализ ридов, полученных в результате метагеномного секвенирования образца клеща идентифицировал 3973 ридов, из которых 2966 классифицированы как *Brucella spp.*, а 1007 – как *Brucella suis bv. 3*. Значения индексов альфа-разнообразия для образца *D. marginatus*_WKR_Taskala составили: Шеннона = 0.797, Симпсона 1−D = 0.473, Маргалефа =

0.241. Клещи признаны основными переносчиками широкого спектра заболеваний среди домашних и диких животных по сравнению с другими членистоногими. Несмотря на многочисленные исследования, посвященные связи между передачей бруцеллеза и клещами, точная роль клещей в передаче этого заболевания и связанные с этим риски остаются недостаточно изученными.

Ключевые слова: клещ, *Dermacentor marginatus,* 16S рРНК, метагеномика, *Brucella,* альфа-разнообразие

Введение

Бруцеллёз – это зоонозное инфекционное заболевание, вызываемое бактериями рода *Brucella*, представляющее серьёзную угрозу, как для здоровья человека, так и для животных. Передача возбудителя может осуществляться различными путями, включая контакт с инфицированными животными, употребление заражённых продуктов и через укусы кровососущих членистоногих. У восприимчивых животных бруцеллез чаще всего передается при прямом контакте с инфицированными животными или через окружающую среду, загрязненную выделениями инфицированных животных [1]. Крупный рогатый скот, собаки, овцы, козы и свиньи являются основными резервуарами видов *Brucella* для заражения человека. Бруцеллез распространен в странах Средиземноморья, Западной Азии и некоторых частях Африки и Латинской Америки [2]. Проведённое исследование в Западном Иране показывает, что из 244 обследованных клещей, собранных с домашних мелких жвачных животных, был обнаружен *Brucella spp.* у 4 клещей (1,6 %)**,** из них 3 экземпляра *Dermacentor marginatus* (1,22 %) и один *Rhipicephalus turanicus* (0,4 %). Один из клещей *D. marginatus* оказался положительным на *Brucella abortus*, тогда как *B. melitensis* не был обнаружен ни в клещах, ни в образцах крови животных. Авторы делают вывод, что такие данные свидетельствуют о возможной роли клещей, включая *D. marginatus*, в передаче *Brucella spp.* между животными и потенциально человеку [3].

Имеются литературные данные о эпидемиологической роли клещей в передаче бруцеллеза среди домашнего скота и домашних животных. *Brucella spp.* были идентифицированы как *Hyalomma anatolicum, D. nuttalli* и *Dermacentor marginatus*, полученные от крупного рогатого скота и овец на северо-востоке Китая [4]. Кроме того, *B. melitensis* был обнаружен у *Haemaphysalis longicornis* , собранного с коз или растительности в центральном Китае [5], и *у D. nuttalli* , собранного с растительности или овец на севере Китая [6, 7]. Аналогичным образом, *Brucella spp.* был распространенным патогеном у *Rhipicephalus sanguineus*, паразитирующего на собаках в Лаосской Народно-Демократической Республике, а также у *Rhipicephalus turanicus* и образцов крови собак в Северо-Западном Китае, что подвергало владельцев риску заражения бруцеллезом и вызывало важные последствия для общественного здравоохранения [8, 9]. Кроме того, как молекулярными, так и культуральными методами было продемонстрировано, что взрослые самки *D. marginatus* или *D. nuttalli* , собранные с овец, крупного рогатого скота или растительности в Китае, трансовариально и трансстадиально передавали *B. melitensis* и *B. abortus* [10]. Соответственно, *B. melitensis* был более многочисленным у взрослых самок и личиночных стадий *D. nuttalli*, собранных с растительности или домашнего скота в Северном Китае [6, 7].

Клещи вида *Dermacentor marginatus* широко распространены в различных регионах Казахстана и известны как переносчики ряда бактериальных и вирусных инфекций [11-13]. Однако их роль в эпидемиологии бруцеллёза до настоящего времени остаётся недостаточно изученной. Определение наличия возбудителя *Brucella spp.* в популяциях этих клещей может дать важную информацию о потенциальных механизмах сохранения и циркуляции инфекции в природных очагах.

В условиях Казахстана изучение роли иксодовых клещей в циркуляции возбудителя *Brucella ssp*. приобретает особую актуальность, поскольку территория страны характеризуется развитым животноводством и высокой численностью, как домашних, так и диких животных. Применение современных молекулярных методов позволит уточнить спектр природных резервуаров и переносчиков бруцеллеза, а также разработать более эффективные меры профилактики и биобезопасности.

Целью данной работы является выявление бруцеллеза в клещах с использованием метагеномного анализа.

Материалы и методы

Этическое одобрение. Экспериментальные процедуры, использованные в исследовании, соответствовали рекомендациям документа №10/14-11-22, одобренного Комитетом по этике обращения с животными Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности (НИИПББ).

Сбор образцов клещей.

В апреле-мае 2023 г. проведен сбор иксодовых клещей в Таскалинском районе Западно-Казахстанской области. Сведения о коллекции иксодовых клещей представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристика образцов клещей, отобранных в Западно-Казахстанской области

Место сбора образцов	Расположение	Количество клещей	Вид клеща	Пол
ЗКО, Таскалинский район, с. Таскала	51°06′27″ с. ш. 50°17′34″ в. д	1 пул (10 клещей)	*D. marginatus*	Самка
ЗКО, Таскалинский район, с. Бирлик	51°07′44″ с. ш. 50°12′01″ в. д.	1 пул (10 клещей)	*D. marginatus*	Самка
ЗКО, Таскалинский район, с. Атамекен	50°49′00″ с. ш. 49°58′28″ в. д.	1 пул (10 клещей)	*D. marginatus*	Самка
ЗКО, Таскалинский район, с. Мереке	50°46′01″ с. ш. 49°20′13″ в. д.	1 пул (10 клещей)	*D. marginatus*	Самка

Для нанесения точек отлова клещей использовали географическую информационную систему. Места сбора (координаты) образцов клещей были занесены в электронную базу данных для создания карты (Рисунок 1).



Рисунок 1 – Места сбора клещей *D. marginatus* в Таскалинском районе Западно-Казахстанской области с использованием картографического анализа QGIS

– с. Мереке, Таскалинский район, ЗКО; – с. Атамекен, Таскалинский район, ЗКО;

– с. Бирлик, Таскалинский район, ЗКО; – с. Таскала, Таскалинский район, ЗКО

Географическое распределение клещей было визуализировано с помощью картографического анализа, выполненного в программном обеспечении QGIS.

Выделение ДНК

Очищенные 70% этанолом клещи были гомогенизированы с помощью механического гомогенизатора в центрифужных пробирках, содержащих 500 мкл охлажденного стерильного фосфатно-солевого буфера (PBS, 1X). Гомогенизированные образцы затем центрифугировали при 4

°C и 12 000 g в течение 10 мин, после чего был собран супернатант. Общая ДНК была извлечена из супернатанта с использованием набора QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) в соответствии с протоколом производителя. Чистота извлеченной ДНК была оценена с помощью электрофореза в агарозном геле, и образцы ДНК хранились при температуре −80 °C до дальнейшего использования.

Подготовка библиотеки

Концентрацию ДНК из микробного сообщества измеряли с помощью набора Qubit dsDNA HS (высокая чувствительность) (Life Technologies). Библиотеки готовили с помощью набора Ion 16 S™ Metagenomics (Thermo-Fisher Scientific). Если вкратце, 12 мкл ДНК смешивали с 15 мкл Environmental Master Mix. В каждую пробирку добавляли по 3 мкл каждого набора праймеров 16 S (10X): один набор образцов с праймерами для V2-4-8 (пул 1), а другой с праймерами для V3-6,7-9 (пул 2). Образцы помещали в термоциклер со следующими температурными условиями: 95 °C в течение 10 мин; затем 25 циклов 95 °C в течение 30 с, 58 °C в течение 30 с, 72 °C в течение 30 с; и, наконец, 72 °C в течение 7 мин. Продукты амплификации очищали с помощью бус AMPure XP (Beckman Coulter) и элюировали в воде, свободной от нуклеаз. Концентрации продуктов амплификации из пулов 1 и 2 измеряли в агарозном геле, после чего оба пула объединяли.

Затем к каждому образцу добавляли 20 мкл буфера 5X End Repair и 1 мкл фермента End Repair Enzyme, после чего инкубировали в течение 20 минут при комнатной температуре. Объединенные ампликоны снова очищали с помощью гранул AMPure XP и элюировали в буфере Low TE. Лигирование и репарацию разрывов проводили с использованием ×10 лигазного буфера, адаптера Ion P1, штрихкодов Ion Xpress, смеси dNTP, ДНК-лигазы, полимеразы репарации разрывов, воды без нуклеазы и образца ДНК при следующих температурных условиях: 25 °C в течение 15 минут, 72 °C в течение 5 минут. Затем ДНК, лигированную с адаптером и репарированную с разрывами, очищали с помощью гранул AMPure XP и элюировали в буфере Low TE.

Далее библиотеку амплифицировали с помощью набора Ion Plus Fragment Library Kit (ThermoFisher Scientific) при следующих температурных условиях: 95 °C в течение 5 мин; затем 7 циклов: 95 °C в течение 15 с, 58 °C в течение 15 с, 70 °C в течение 1 мин; и наконец, 70 °C в течение 1 мин. Амплифицированную библиотеку очищали с помощью гранул AMPure XP и элюировали в буфере Low TE. Оптимальную концентрацию библиотеки для приготовления матрицы определяли методом количественной ПЦР (Applied Biosystems® Quantstudio 5) с использованием набора Ion Universal Library Quantitation Kit (Thermo-Fisher Scientific). Концентрацию каждой библиотеки доводили до 30 пМ и равные объемы каждой библиотеки объединяли.

Секвенирование

Библиотеки были подготовлены для секвенирования с помощью прибора Ion Chef и наборов Ion 510™ & 520™ & Ion 530™ Kit–Chef (Thermo-Fisher Scientific). Затем чипы загружались в систему Ion GeneStudio S5 вместе с реагентами набора Ion S5 Sequencing Kit (ThermoFisher Scientific) и секвенировались в лаборатории. Образцы в данном исследовании были секвенированы на чипах Ion 530 с размером фрагмента 400 п.н.

Таксономическая классификация

Таксономический анализ бактериального сообщества проводили путем анализа данных высокопроизводительного секвенирования гипервариабельной области V3-V4 гена 16S рРНК на платформе технологии секвенирования нового поколения Ion Torrent. Полученные данные были таксономически классифицированы на платформе Центра бактериальной и вирусной биоинформатики (BV-BRC) с использованием стандартной базы данных Kraken2.

Статистический анализ данных

Для изучения параметров альфа-разнообразия сообществ рассчитывались индексы разнообразия Шеннона, доминирования Симпсона [14] и Маргалефа [15]. В таблице 2 представлены расчетные формулы индексов для количественной оценки параметров альфа-разнообразии.

Таблица 2 – Индексы для количественной оценки параметров альфа-разнообразии

Название индекса	Расчетная формула	Уровень разнообразия
Индекс разнообразия Шеннона	$H' = -\sum_{i=1}^{R}(p_i \ln p_i)$	Альфа-разнообразие
Индекс видового богатства Маргалефа	$d = \frac{S-1}{lnN}$	Альфа-разнообразие
Индекс доминирования Симпсона	$D = \sum\left(\frac{n_i(n_i-1)}{N(N-1)}\right)$	Альфа-разнообразие

Примечание.

Индекс Шеннона: где pi – доля особей, принадлежащих к i-му виду, R – общее количество видов, ln – натуральный логарифм;

Индекс Маргалефа: где S – видовое богатство, N – объем выборки (численность сообщества);

Индекс Симпсона: где ni – число особей i-го вида, а N – общее число особей

Результаты

Бактерия бруцелла обнаружена в образце клеща при проведении метагеномного анализа. В образце D. marginatus_WKR_Taskala, основная доля представлена общими ридами рода *Brucella*. Это указывает на распределение *Brucella*, с доминированием неидентифицированных до вида последовательностей. Результаты таксономических данных бактерии бруцелла представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Таксономические данные рода *Brucella*, полученные при метагеномном анализе образца клеща из *D. marginatus*_WKR_Taskala

Риды	Таксономические данные
2966	*Bacteria, Pseudomonadota, Alphaproteobacteria, Hyphomicrobiales, Brucellaceae, Brucella*
1007	*Bacteria, Pseudomonadota, Alphaproteobacteria, Hyphomicrobiales, Brucellaceae, Brucella, Brucella suis, Brucella suis bv. 3*

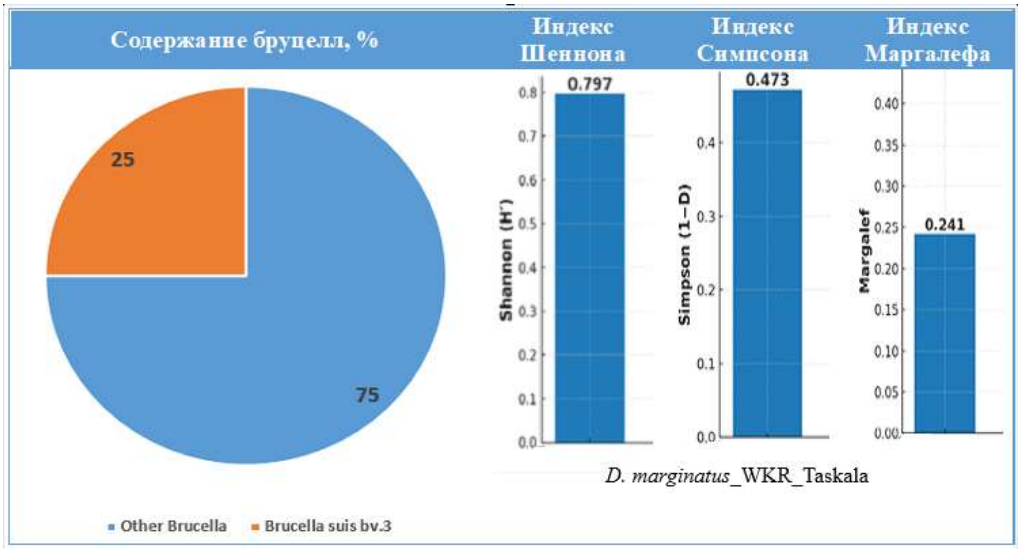


Рисунок 2 – Индексы альфа-разнообразия рода *Brucella* в образцах клещей *D. marginatus*_WKR_Taskala. Представлены значения индексов Шеннона, Симпсона и Маргалефа

Таксономический анализ ридов, полученных при метагеномном секвенировании образца клеща *D. marginatus*_WKR_Taskala, показал присутствие последовательностей, относящихся к роду *Brucella*. Всего идентифицировано 2966 ридов, классифицированных как *Brucella spp.*, и 1007 ридов, отнесённых к виду *Brucella suis* (биовар 3), что в сумме составило N=3973 рида и два

таксона (*Brucella spp.* и *B. suis*). Определены индексы альфа-разнообразия, рассчитанные на основе распределения *Brucella* (*Brucella spp., B. suis*). Результаты представлены на рисунке 2.

На основе ридов, классифицированных как *Brucella spp.* и *Brucella suis* были рассчитаны индексы альфа-разнообразия. В образце *D. marginatus*_WKR_Taskala (N=3973 рида) значения индексов составили: Шеннона = 0.797, Симпсона 1−D = 0.473, Маргалефа = 0.241. Результаты расчёта указывают на умеренную равномерность распределения ридов между выявленными таксонами при доминировании *Brucella spp.*

Обсуждение

Бруцеллез – одно из наиболее распространенных зоонозных инфекционных заболеваний животных. Это заболевание значительно снижает продуктивность животноводства, тем самым влияя на экономику страны. Научные исследования показывают, что ДНК *Brucella* была выявлена у некоторых видов клещей, включая: *Ixodes ricinus, Dermacentor marginatus, Hyalomma spp.*[3, 6, 16]. Однако наличие ДНК *Brucella* в клеще не доказывает, что клещ является полноценным переносчиком, способным передавать инфекцию человеку или животному при укусе.

В образце *D. marginatus*_WKR_Taskala основная доля представлена общими ридами рода *Brucella* (около 75%), тогда как *Brucella suis* составила лишь 25%. Это указывает на распределение *Brucella*, с доминированием неидентифицированных до уровня вида последовательностей.

Обнаружение *B. suis* (возбудителя свиного бруцеллёза) в клещах из ЗКО может быть связано с циркуляцией возбудителя среди диких кабанов и других животных, которые выступают хозяевами для *D. marginatus*. Дикие кабаны широко распространены по Казахстану, включая западные области; это соответствует мировой роли вида как основного природного резервуара для *B. suis*. Наличие устойчивых популяций кабана увеличивает вероятность контактов клещей с инфицированными хозяевами.

На северо-западном побережье Каспия, вдоль Урала и его низовьев, кабаны встречаются в пойменных лесах. Замечали их и у Уральска, а также в районе рек Доссор–Эмба между холмами и озёрами. В ЗКО и сопредельных регионах есть дикое кабанье поголовье, которое может служить природным резервуаром *B. suis*. *B. suis* – основной возбудитель свиного бруцеллёза у домашних и диких свиней, но в мировой литературе его находили и у несвинных хозяев (зайцы, олени, грызуны, собаки, крупный рогатый скот как случайные носители).

Поскольку клещи питаются на разных животных, обнаружение последовательностей *B. suis* может отражать эпизоотическую ситуацию в регионе. Однако, учитывая высокую генетическую близость внутри рода *Brucella*, данные метагеномики требуют подтверждения с помощью специфических методов. *B. suis* (в первую очередь биовары 1-3) обычно поражает домашних свиней, но дикие кабаны – основные природные резервуары, распространённые в Европе [17].

Серологические и бактериологические исследования, проведённые в странах Европы, показали высокую распространённость *B. suis* среди диких кабанов – иногда до ~50% или выше [18]. В одном из недавних исследований ДНК *Brucella* была обнаружена в клещах рода *Dermacentor*, паразитировавших на диких кабанах из охотничьих угодий, где эти животные были серопозитивны на *Brucella* [19]

Учитывая позитивность клещей на бруцеллез в данном исследовании, существует вероятность передачи бруцеллеза от инфицированных клещей человеку и животным через укусы клещей. Таким образом, борьба с клещами важна для предотвращения распространения бруцеллеза.

Выводы

Полученные данные указывают на возможное участие диких кабанов в циркуляции *Brucella* и подчеркивают необходимость дальнейших исследований с расширенной выборкой. Использование технологий метагеномного секвенирования позволило выявить наличие ДНК возбудителя в клещах *D. marginatus*, что подчеркивает роль этих членистоногих как источников инфекции.

В связи с недостаточной изученностью механизма передачи возбудителя через укусы клещей требуется проведение комплексных исследований, объединяющих эпидемиологические, молекулярно-генетические и экспериментальные подходы. Такой междисциплинарный подход позволит глубже понять роль клещей в эпизоотологии и эпидемиологии бруцеллеза.

Финансирование: Работа была выполнена в рамках ГФ AP19677632 «Метагеномика микробиома иксодовых клещей Казахстана» на 2023–2025гг.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Литература

1. Pal M., Kerorsa G.B, Desalegn C., Kandi V. Human and animal brucellosis: A comprehensive review of biology, pathogenesis, epidemiology, risk factors, clinical signs, laboratory diagnosis, public health significance, economic importance, prevention and control // J. Infect. Dis. – 2020. – Vol.8. – P.118-126
2. Islam M.S., Islam M.A., Rahman M.M., Islam K., Islam M.M., Kamal M.M., Islam M.N. Presence of Brucella spp in milk and dairy products: A comprehensive review and its perspectives // J. Food Qual. – 2023. – P.1-19
3. Moravedji M., Beig M., Baseri N., Rahravani M., Latifian M., Esmaeili S. Molecular detection of Brucella abortus and Brucella melitensis in domestic ruminants and their ticks in selected areas of western Iran // J Vet Res. – 2023. – Vol. 24(3). – P.270-275. doi: 10.22099/ijvr.2023.47192.6806
4. Li Y., Wen X., Li M., Moumouni P. F. A., Galon E. M., Guo Q., Rizk M. A., Liu M., Li J., Ji S., Tumwebaze M. A., Byamukama B., Chahan B., and Xuan X. Molecular detection of tick-borne pathogens harbored by ticks collected from livestock in the Xinjiang Uygur autonomous region. // Ticks and Tick-Borne Diseases. – 2020. – Vol. 11(5), https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101478
5. Zhang K., Li A., Wang Y., Zhang J., Chen Y., Wang H., Shi R., Qiu Y. Investigation of the presence of Ochrobactrum spp. and Brucella spp. in Haemaphysalis longicornis // Ticks and Tick-Borne Diseases. – 2021. – Vol. 12(1). https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101588
6. Zhao L., Ma Y. M., Yang B., Han W. X., Zhao W. H., Chai H. L., Zhang Z. S., Zhan Y. J., Wang L. F., Xing Y., Yu L. F., Wang J. L., Ding Y. L., and Liu Y. H. Comparative analysis of microbial communities in different growth stages of Dermacentor nuttalli // Frontiers in Veterinary Science. – 2022. – Vol. 9. https://doi.org/10.3389/fvets.2022.1021426
7. Huang T., Zhang J., Sun C., Liu Z., He H., Wu J., Geriletu A novel arthropod host of brucellosis in the arid steppe ecosystem // Frontiers in Veterinary Science – 2020. –Vol.7. https://doi.org/10.3389/fvets.2020.566253
8. Nguyen H. M., Theppannga W., Vongphayloth K., Douangngeun B., Blacksell S. D., Robinson M. T., Screening of ectoparasites from domesticated dogs for bacterial pathogens in Vientiane // Zoonoses and Public Health. – 2020. – Vol. 67(8). – P. 862–868. https://doi.org/10.1111/zph.12753
9. Guo J., Song S., Cao S., Sun Z., Zhou Q., Deng X., Zhao T., Chai Y., Zhu D., Chen C., Baryshnikov P. I., Blair H. T., Wang Z., Wang Y., Zhang H. Molecular detection of zoonotic and veterinary pathogenic bacteria in pet dogs and their parasitizing ticks in Junggar Basin, north-western China // Frontiers in Veterinary Science. – 2022. – Vol. 9. https://doi.org/10.3389/fvets.2022.895140
10. Wang Q., Zhao S., Wureli H., Xie S., Chen C., Wei Q., Cui B., Tu C., and Wang Y., Brucella melitensis and B. abortus in eggs, larvae and engorged females of Dermacentor marginatus // Ticks and Tick-Borne Diseases. – 2018. – Vol. 9(4). – P. 1045-1048, https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.03.021
11. Sang C., Yang M., Xu B., Liu G., Yang Y., Kairullayev K., Bauyrzhan O., Hazihan W., Hornok S., Wang Y. Tick distribution and detection of Babesia and Theileria species in Eastern and Southern Kazakhstan // Ticks Tick-Borne Dis. – 2021. – Vol. 12. – P. 101817
12. Turebekov N., Abdiyeva K., Yegemberdiyeva R., Dmitrovsky A., Yeraliyeva L., Shapiyeva Z., Amirbekov A., Oradova A., Kachiyeva Z., Ziyadina L., Hoelscher M., Froeschl G., Dobler G., Zinner J., Frey S., Essbauer S. Prevalence of Rickettsia species in ticks including identification of unknown species in two regions in Kazakhstan // Parasit Vectors. – 2019. – Vol. 3(12). – P. 197. doi: 10.1186/s13071-019-3440-9
13. Орынбаев М.Б., Рыстаева Р.А., Омарова З.Д., Керимбаев А.А., Сарсенбаева Г.Ж., Копеев С.К., Наханов А.К., Строчков В.М., Султанкулова К.Т. Выделение Coxiella burnetii из клещей в Республике Казахстан// Биобезопасность и Биотехнология – 2020. – Т. 1. – С. 62-67
14. Thukral A. K., Bhardwaj R., Kumar V., Sharma A. New Indices Regarding the Dominance and Diversity of Communities, Derived From Sample Variance and Standard Deviation // Heliyon. – 2019. – Vol.5(10). doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02606
15. Margalef D.R. Information theory in ecology // General Systems – 1958. Vol.3. – P. 36-71
16. Abdoli R., Bakhshi, H., Kheirandish Sedigheh., Faghihi Faezeh., Hosseini-Chegeni Asadollah., Oshaghi M. A., Telmadarraiy Z., Sedaghat M. M. Circulation of Brucellaceae, Anaplasma and Ehrlichia spp. in borderline of Iran, Azerbaijan, and Armenia // Asian Pacific Journal of Tropical Medicine – 2021. – Vol. 14(5). – P. 223-230 doi: 10.4103/1995-7645.315893

17. Wu N., Abri C., Thomann A. et al. Risk factors for contacts between wild boar and outdoor pigs in Switzerland and investigations on potential Brucella suis spill-over. BMC // Vet Res. – 2012. – Vol. 8. https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-116

18. Pires H., Cardoso L., Lopes A.P., Fontes M.D.C., Santos-Silva S., Matos M., Pintado C., Roque N., Fonseca L.F., Morgado I. et al. Hunting for Answers: Assessing Brucella spp. Seroprevalence and Risks in Red Deer and Wild Boar in Central Portugal // Pathogens – 2024. – 13. 242. https://doi.org/10.3390/pathogens13030242

19. Rebollada-Merino A., Martínez I., Duque C. Detection of Brucella in Dermacentor Ticks of Wild Boar with Brucellosis // Transbound Emerg Dis. – 2024. – Vol.16. doi: 10.1155/2024/6618287

References

1. Pal M., Kerorsa G.B, Desalegn C., Kandi V. Human and animal brucellosis: A comprehensive review of biology, pathogenesis, epidemiology, risk factors, clinical signs, laboratory diagnosis, public health significance, economic importance, prevention and control // J. Infect. Dis. – 2020. – Vol.8. – P.118-126

2. Islam M.S., Islam M.A., Rahman M.M., Islam K., Islam M.M., Kamal M.M., Islam M.N. Presence of Brucella spp in milk and dairy products: A comprehensive review and its perspectives // J. Food Qual. – 2023. – P.1-19

3. Moravedji M., Beig M., Baseri N., Rahravani M., Latifian M., Esmaeili S. Molecular detection of Brucella abortus and Brucella melitensis in domestic ruminants and their ticks in selected areas of western Iran // J Vet Res. – 2023. – Vol. 24(3). – P.270-275. doi: 10.22099/ijvr.2023.47192.6806

4. Li Y., Wen X., Li M., Moumouni P. F. A., Galon E. M., Guo Q., Rizk M. A., Liu M., Li J., Ji S., Tumwebaze M. A., Byamukama B., Chahan B., and Xuan X. Molecular detection of tick-borne pathogens harbored by ticks collected from livestock in the Xinjiang Uygur autonomous region. // Ticks and Tick-Borne Diseases. – 2020. – Vol. 11(5), https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101478

5. Zhang K., Li A., Wang Y., Zhang J., Chen Y., Wang H., Shi R., Qiu Y. Investigation of the presence of Ochrobactrum spp. and Brucella spp. in Haemaphysalis longicornis // Ticks and Tick-Borne Diseases. – 2021. – Vol. 12(1). https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101588

6. Zhao L., Ma Y. M., Yang B., Han W. X., Zhao W. H., Chai H. L., Zhang Z. S., Zhan Y. J., Wang L. F., Xing Y., Yu L. F., Wang J. L., Ding Y. L., and Liu Y. H. Comparative analysis of microbial communities in different growth stages of Dermacentor nuttalli // Frontiers in Veterinary Science. – 2022. – Vol. 9. https://doi.org/10.3389/fvets.2022.1021426

7. Huang T., Zhang J., Sun C., Liu Z., He H., Wu J., Geriletu A novel arthropod host of brucellosis in the arid steppe ecosystem // Frontiers in Veterinary Science – 2020. –Vol.7. https://doi.org/10.3389/fvets.2020.566253

8. Nguyen H. M., Theppannga W., Vongphayloth K., Douangngeun B., Blacksell S. D., Robinson M. T., Screening of ectoparasites from domesticated dogs for bacterial pathogens in Vientiane // Zoonoses and Public Health. – 2020. – Vol. 67(8). – P. 862–868. https://doi.org/10.1111/zph.12753

9. Guo J., Song S., Cao S., Sun Z., Zhou Q., Deng X., Zhao T., Chai Y., Zhu D., Chen C., Baryshnikov P. I., Blair H. T., Wang Z., Wang Y., Zhang H. Molecular detection of zoonotic and veterinary pathogenic bacteria in pet dogs and their parasitizing ticks in Junggar Basin, north-western China // Frontiers in Veterinary Science. – 2022. – Vol. 9. https://doi.org/10.3389/fvets.2022.895140

10. Wang Q., Zhao S., Wureli H., Xie S., Chen C., Wei Q., Cui B., Tu C., and Wang Y., Brucella melitensis and B. abortus in eggs, larvae and engorged females of Dermacentor marginatus // Ticks and Tick-Borne Diseases. – 2018. – Vol. 9(4). – P. 1045-1048, https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.03.021

11. Sang C., Yang M., Xu B., Liu G., Yang Y., Kairullayev K., Bauyrzhan O., Hazihan W., Hornok S., Wang Y. Tick distribution and detection of Babesia and Theileria species in Eastern and Southern Kazakhstan // Ticks Tick-Borne Dis. – 2021. – Vol. 12. – P. 101817

12. Turebekov N., Abdiyeva K., Yegemberdiyeva R., Dmitrovsky A., Yeraliyeva L., Shapiyeva Z., Amirbekov A., Oradova A., Kachiyeva Z., Ziyadina L., Hoelscher M., Froeschl G., Dobler G., Zinner J., Frey S., Essbauer S. Prevalence of Rickettsia species in ticks including identification of unknown species in two regions in Kazakhstan // Parasit Vectors. – 2019. – Vol. 3(12). – P. 197. doi: 10.1186/s13071-019-3440-9

13. Orynbaev M.B., Rystaeva R.A., Omarova Z.D., Kerimbaev A.A., Sarsenbaeva G.Zh., Kopeev S.K., Nahanov A.K., Strochkov V.M., Sultankulova K.T. Vydelenie Coxiella burnetii iz kleshchej v

Respublike Kazahstan// Biobezopasnost' i Biotekhnologiya – 2020. – T. 1. – S. 62-67
14. Thukral A. K., Bhardwaj R., Kumar V., Sharma A. New Indices Regarding the Dominance and Diversity of Communities, Derived From Sample Variance and Standard Deviation // Heliyon. – 2019. – Vol.5(10). doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02606
15. Margalef D.R. Information theory in ecology // General Systems – 1958. Vol.3. – P. 36-71
16. Abdoli R., Bakhshi, H., Kheirandish Sedigheh., Faghihi Faezeh., Hosseini-Chegeni Asadollah., Oshaghi M. A., Telmadarraiy Z., Sedaghat M. M. Circulation of Brucellaceae, Anaplasma and Ehrlichia spp. in borderline of Iran, Azerbaijan, and Armenia // Asian Pacific Journal of Tropical Medicine – 2021. – Vol. 14(5). – P. 223-230 doi: 10.4103/1995-7645.315893
17. Wu N., Abri C., Thomann A. et al. Risk factors for contacts between wild boar and outdoor pigs in Switzerland and investigations on potential Brucella suis spill-over. BMC // Vet Res. – 2012. – Vol. 8. https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-116
18. Pires H., Cardoso L., Lopes A.P., Fontes M.D.C., Santos-Silva S., Matos M., Pintado C., Roque N., Fonseca L.F., Morgado I. et al. Hunting for Answers: Assessing Brucella spp. Seroprevalence and Risks in Red Deer and Wild Boar in Central Portugal // Pathogens – 2024. – 13. 242. https://doi.org/10.3390/pathogens13030242
19. Rebollada-Merino A., Martínez I., Duque C. Detection of Brucella in Dermacentor Ticks of Wild Boar with Brucellosis // Transbound Emerg Dis. – 2024. – Vol.16. doi: 10.1155/2024/6618287

DERMACENTOR MARGINATUS КЕНЕЛЕРІНЕН БРУЦЕЛЛАНЫ АНЫҚТАУ

Шыныбекова Г. О., Алмежанова М. Д., Кожабергенов Н. С., Султанкулова К. Т.

«Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС, «QazBioPharm» ұлттық холдингі, Гвардейский, Қазақстан Республикасы
*sh.gaukhar@biosafety.kz

Аннотация. Кенелер көптеген қоздырғыштардың тасымалдаушысы болып табылады және олардың бактериялық құрамы, саны, әртүрлілігі және өзара әрекеттесуі олардың өсуіне де, аурудың таралуына да әсер етеді. Жаңа метагеномикалық секвенирлеу (NGS) технологияларының пайда болуы микробтық патогендерді анықтау және сипаттау мүмкіндіктерін кеңейтті. Тізбектілік деректерін талдау арқылы кенелерде бруцелла ДНҚ бар екенін анықтауға және оның генетикалық сипаттамаларын анықтауға болады. Батыс Қазақстан облысының Тасқала ауданында 2023 жылдың көктемінде кене сынамалары алынды. Кене үлгілеріндегі бактериялардың 16S рРНҚ гендерінің секвенсы NGS технологиясы көмегімен Ion Torrent платформасы арқылы орындалды. *D. marginatus*_WKR_Taskala кене үлгілерінде метагеномикалық талдау *Brucella suis bv.* 3 (25%) және басқа *Brucella* түрлері (75%) анықталды. Кене үлгісінің метагеномдық реттілігі нәтижесінде алынған көрсеткіштерді талдау 3973 оқуды анықтады, оның 2966-сы *Brucella spp.* және 1007 жылы *Brucella suis bv. 3*. *D. marginatus*_WKR_Taskala үлгісі үшін альфа-әртүрлілік индексінің мәндері: Шеннон = 0,797, Симпсон 1−D = 0,473, Маргалеф = 0,241. Кенелер басқа буынаяқтылармен салыстырғанда үй және жабайы жануарлар арасында кең ауқымды аурулардың маңызды тасымалдаушысы болып танылады. Бруцеллездің таралуы мен кенелер арасындағы байланысқа арналған көптеген зерттеулерге қарамастан, бұл аурудың таралуындағы кенелердің нақты рөлі және онымен байланысты қауіптер әлі де аз зерттелген.

Негізгі сөздер: кене, *Dermacentor marginatus*, 16S рРНҚ, метагеномика, *Brucella*, альфа-әртүрлілігі

DETECTION OF BRUCELLA IN *DERMACENTOR MARGINATUS* TICKS

Shynybekova G. O., Almezhanova M. D., Kozhabergenov N. S., Sultankulova K. T.

LLP «Research Institute for Biological Safety Problems», National holding «QazBioPharm», Guardeyskiy, Republic of Kazakhstan
*sh.gaukhar@biosafety.kz

Abstract. Ticks are carriers of numerous pathogens, and their bacterial composition, abundance, diversity, and interaction affect both their growth and the efficiency of disease transmission. The emergence of next-generation metagenomic sequencing (NGS) technologies has expanded the possibilities for detecting and characterising microbial pathogens. Sequence data analysis can identify the presence of *Brucella* DNA in ticks and determine its genetic characteristics. In the spring of 2023, tick samples were collected in the Taskalinsky district of the West Kazakhstan Region. Sequencing of the 16S rRNA genes of bacteria in tick samples was performed using the Ion Torrent platform based on NGS technology.

In *D. marginatus*_WKR_Taskala tick samples, metagenomic analysis identified *Brucella suis bv. 3* (25%) and other *Brucella species* (75%). Analysis of the reads obtained as a result of metagenomic sequencing of the tick sample identified 3,973 reads, of which 2,966 were classified as *Brucella spp.* and 1,007 as *Brucella suis bv. 3*. The alpha diversity indices for the *D. marginatus*_WKR_Taskala sample were: Shannon = 0.797, Simpson 1−D = 0.473, Margalef = 0.241. Ticks are recognised as the main carriers of a wide range of diseases among domestic and wild animals compared to other arthropods. Despite numerous studies on the link between brucellosis transmission and ticks, the exact role of ticks in the transmission of this disease and the associated risks remain unclear.

Keywords: tick, *Dermacentor marginatus*, 16S rRNA, metagenomics, *Brucella*, alpha-diversity

МРНТИ 34.27.39

DOI: 10.58318/2957-5702-2025-23-22-28
Review Article

ANTIBODY RESPONSE TO *TRYPANOSOMA EVANSI* IN CAMELS OF KAZAKHSTAN

Zhadra Kudaibergenova [1,2], Zhandos Abay [1], Roza Aitlessova[1], Kuandyk Shynybayev [1], Markhabat Kassenov [1], Ainur Nurpeisova [1]

[1] Kazakh Scientific Research Veterinary Institute LLP, Almaty, Kazakhstan
[2] Kazakh National Agrarian Research University, Almaty, Kazakhstan
*abaizh097@mail.ru

Abstract. Surra, caused by *Trypanosoma evansi*, is a major constraint to camel health and productivity in arid and semi-arid regions. Despite Kazakhstan's large camel population, peer-reviewed data on surra epidemiology remain scarce.

A cross-sectional seroepidemiological survey was conducted in two camel-breeding regions of Kazakhstan (Mangystau and Kyzylorda) during 2024 and 2025. Serum samples (n = 2,745 in 2024; n = 2,900 in 2025) were tested for anti-*T. evansi* antibodies using the complement fixation test (CFT) and the formol gel test (FGT). Seroprevalence was expressed with 95% confidence intervals (CI), and regional/temporal differences were assessed using Pearson's chi-square test.

In Mangystau, CFT prevalence decreased from 5.0% (95% CI: 2.15–11.18) in 2024 to 0.78% (95% CI: 0.21–2.82) in 2025 (p = 0.0319), while FGT positivity declined from 65.0% to 5.88% (p < 0.001). Conversely, in Kyzylorda, CFT prevalence increased significantly from 4.0% (95% CI: 3.32–4.82) to 8.88% (95% CI: 7.87–10.01; p < 0.001), whereas FGT values rose slightly from 7.8% to 8.96% without statistical significance (p = 0.1504).

This study provides one of the first systematic multi-year assessments of *T. evansi* circulation in