

ВЫЯВЛЕНИЕ ХЛАМИДИЯ-ПОДОБНОГО МИКРООРГАНИЗМА *WADDLIA CHONDROPHILA* У КЛЕЩЕЙ

Г.О. Шыныбекова* , Н.Н. Мухами , А.У. Исабек , Н.С. Кожабергенов ,
О.В. Червякова , К.Т. Султанкулова 

«Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» МЗ РК,
пгт. Гвардейский, Казахстан
*sh.gaukhar@biosafety.kz

Аннотация. Хламидия-подобный микроорганизм *Waddlia chondrophila* (*W. Chondrophila*) является новым патогеном, который вызывает выкидыши и аборты животных.

Цель этого исследования состояла в выявлении хламидии у иксодовых клещей, собранных с крупного рогатого скота. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) и секвенирование были использованы для подтверждения присутствия возбудителя *W. Chondrophila* в образцах клещей, собранных у домашних животных.

Анализ нуклеотидных последовательностей показал, что в образцах клеща *Dermacentor marginatus* выявлены ДНК бактерии *W. chondrophila*. Среди 156 образцов клещей, собранных из Северо-Казахстанской, Западно-Казахстанской, Кызылординской, Жамбылской и Туркестанской областей, 7% были положительными на хламидия-подобный микроорганизм *W. chondrophila*.

Наличие ДНК хламидия-подобного микроорганизма *W. chondrophila* у иксодовых клещей свидетельствует о необходимости проведения дополнительных исследований для изучения потенциальной роли клещей как переносчиков данной зоонозной бактерий.

Ключевые слова: *Waddlia chondrophila*; *Chlamydia*; ПЦР; клещ; 16S рРНК; праймер; секвенирование.

Введение

Хламидия-подобная бактерия *W. chondrophila* – внутриклеточный облигатный микроорганизм, относящиеся к отряду *Chlamydiales*. Порядок *Chlamydiales* включает шесть разных семейств, в том числе семейство *Waddliaceae*. *W. chondrophila* впервые была выделена из абортированного плода КРС в США в 1990 г. [1]. Двенадцать лет спустя *W. chondrophila* была также выделена из второго случая крупного рогатого скота в Германии [2]. В 2005 году новый вид бактерии, который на 91% совпадает с *W. chondrophila*, был идентифицирован в Малайзии у летучей мыши и назван *Waddlia malaysiensis* [3]. *W. chondrophila* считается абортивной бактерией у жвачных животных и, вероятно, является причиной экономических потерь. [4-6]. *W. chondrophila* также была обнаружена в образцах из дыхательных путей пациентов с бронхитом и пневмонией [7-8]. Несмотря на клиническое и ветеринарное значение этого возбудителя и его зоонозный потенциал, о биологии и патогенности этой бактерии мало литературных данных.

Для характеристики генетически трудноизлечимой облигатной внутриклеточной бактерии, такой как *W. chondrophila* требуется полная аннотированная последовательность генома [10].

Клещи являются важными переносчиками широкого спектра бактерий, вирусов и простейших, влияющих на здоровье людей и животных. Все больше данных подтверждают гипотезу об альтернативных путях передачи хламидийных бактерий переносчиками [11]. Клещи могут сохранять хламидии в течение длительного времени и способны передавать возбудителя крупному рогатому скоту [12]. Болезнь может протекать как с разнообразными клиническими признаками у одного вида животных, так и с одинаковыми клиническими признаками у разных видов животных [13].

Выявление различных генетических разнообразии бактерии хламидии связано появлением все больше свидетельств того, что эти бактерии заражают более широкий круг животных-хозяев. В настоящее время во всем мире зарегистрировано более 400 видов хозяев, большинство из которых являются дикими животными. Учитывая влияние хламидийных инфекций на людей и домашних животных, идентификация представителей рода *Chlamydia* в дикой природе вызывает серьезные вопросы в отношении их влияния на здоровье животных и взаимосвязи с возбудителем. В целом мало что известно о патогенном потенциале хламидий, заражающих большинство хозяев диких животных. Накопленные данные свидетельствуют о том, что контакт клещей с дикими животными является фактором риска заражения домашних животных и людей [14].

Цель исследования – выявление хламидия-подобного микроорганизма *W. chondrophila* у иксодовых клещей, собранных от домашних животных.

Материалы и методы

В общей сложности 156 клещей были подвергнуты индивидуальному скринингу с хламидийным специфическим праймером, нацеленными на ген 16S рРНК. В ходе исследования были задействованы образцы клещей из разных местностей Республики Казахстан, таких как Северо-Казахстанская, Жамбылская, Западно-Казахстанская, Туркестанская области (таблица 1).

Таблица 1 – Виды иксодовых клещей, доставленных из разных областей Казахстана в 2021-2022 гг.

Пробы	Виды клещей	Кол-во	Место сбора	Год отбора проб
1	<i>Dermacentor marginatus</i>	24	Северо-Казахстанская область, Тимирязевский район	2021
2	<i>Dermacentor marginatus</i>	19	Северо-Казахстанская область, Тайыншинский район	2021
3	<i>Ixodes ricinus</i>	12	Северо-Казахстанская область, Тайыншинский район	2021

4	<i>Hyalomma asiaticum</i>	13	Западно-Казахстанская область, Таскалинский район	2022
5	<i>Hyalomma marginatum</i>	11	Западно-Казахстанская область, Таскалинский район	2022
6	<i>Ixodes persulcatus</i>	13	Жамбылская область, Меркенский район	2021
7	<i>Hyalomma asiaticum</i>	12	Жамбылская область, Меркенский район	2021
8	<i>Ixodes ricinus</i>	8	Кызылординская область, Жалагашский район	2022
9	<i>Dermacentor marginatus</i>	16	Жамбылская область, Рыскуловский район	2022
10	<i>Hyalomma anatolicum</i>	10	Туркестанская область, Отырарский район	2022
11	<i>Dermacentor marginatus</i>	18	Туркестанская область, Отырарский район	2022
Общее количество собранных клещей		156		

Выделение ДНК

ДНК из суспензионного материала образцов клещей выделяли коммерческим набором DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Германия) согласно протоколу производителя.

Подбор и синтез праймеров

Конструирование праймеров проводили с помощью компьютерных программ Oligo 6 и Vector NTI Suite 9.

Проведение ПЦР

Реакционная смесь для постановки реакции состояла из следующих компонентов: общий объем 25 мкл, 10x ПЦР буфер – 2,5 мкл, dNTP (10 мМ) – 1 мкл, MgCl₂ (25 мМ) – 2 мкл; 20 пмоль F праймер – 1 мкл, 20 пмоль R праймер – 1 мкл, 5 ед. Taq DNA Polymerase – 0,5 мкл; Деионизированная вода – 14 мкл, ДНК – 3 мкл.

Наработка ПЦР-продуктов SGNM-1 гена с праймерами Chlf - GCA GTC GAG AAT CTT TCG CAA TG и Chlr - AGC TGC TGG CAC GGA GTT AG проведена в термоциклере GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, США) согласно следующему режиму амплификации: 94 °С – 3 мин, 35 цикл, 94 °С – 20 сек, 58 °С – 1 мин, 72 °С – 40 сек и 72 °С – 7 мин. Размер ПЦР продукта составляет 157 п.о.

Получение ПЦР-продуктов гена 16S рРНК

Наработка ПЦР-продуктов с праймерами Uni16sF - AGAGTTTGATCCTGGCTCAG и Uni16sR - GGTTACCTTGTTACGACTT с целью секвенирования ампликона проводили в термоциклере GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, США) согласно следующему режиму амплификации: 94 °С – 5 мин, 35 цикл, 95 °С – 30 с, 55 °С – 30 с, 72 °С – 1 мин и 72 °С – 7 мин.

Экстрагирование ПЦР продукта из геля

Наработанные продукты вырезали из геля, далее экстрагировали набором QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen, Германия), согласно инструкции производителя.

Секвенирование

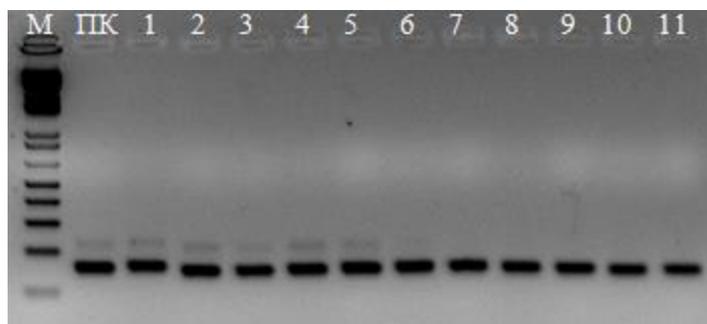
Секвенирование ДНК проводили методом дидеоксисеквенирования с использованием терминирующих дидеоксинуклеотидов (метод Сенгера) на автоматическом 16-капиллярном секвенаторе Genetic Analyzer 3130 xl (Applied Biosystems, США). В качестве полимера для капилляров использовали POP-7. Нарботку терминирующих продуктов ДНК проводили методом циклического секвенирования.

Очистку ДНК от не связавшихся красителей осуществляли гельфильтрацией на колонках Centri-Sep или с помощью CleanSeq Reagent согласно прилагаемым к наборам инструкциям.

Результаты исследований

Из 156 исследованных образцов иксодовых клещей *Dermacentor marginatus*, *Hyalomma asiaticum*, *Hyalomma marginatum*, *Ixodes ricinus*, *Ixodes persulcatus*, *Hyalomma anatolicum*, собранных из разных регионов Казахстана, в 11 исследуемых образцах иксодовых клещей *Dermacentor marginatus* были обнаружены положительные результаты на хламидии методом ПЦР.

Результаты детекции изолятов бактерии хламидии в популяциях клещей, собранных на территории Казахстана представлены на рисунке 1.



М – маркер 1 kb; ПК – положительный контроль, ДНК бактерии хламидии (размер 157 п.о.); 1-6 – *Dermacentor marginatus* (Туркестанская область, Отырарский район 2022 г.); 7-11 – *Dermacentor marginatus* (Жамбылская область, Рыскуловский район 2022 г.)

Рисунок 1 – Результаты электрофоретического анализа ПЦР фрагмента ДНК изолятов бактерии хламидии

В результате электрофоретического анализа видно, что в 11 пробах наработались ПЦР продукты размером 157 п.о.

Ген 16S рРНК был выбран в качестве молекулярной мишени для дифференцировки видов бактерии хламидии, поскольку этот консервативный ген является наиболее универсальным среди бактерий, а с другой – имеет гипервариабельные области, что позволяет выбрать видоспецифичный регион для каждого вида. Результаты амплификации образцов представлены на рисунке 2.

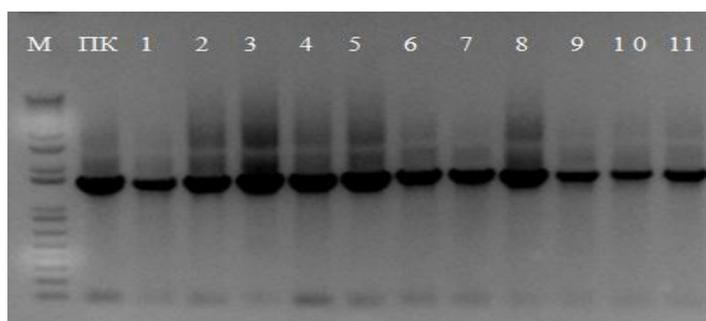


Рисунок 2 – Электрофореграмма ПЦР продуктов гена 16S рРНК изолятов бактерии хламидии, выделенных из клещей

Нуклеотидные последовательности фрагментов гена 16S рРНК, исследуемых 11 изолятов бактерии хламидии были секвенированы. Нуклеотидные последовательности гена 16S рРНК изолятов *W. chondrophila* были идентичны между собой. Результаты сравнительного анализа фрагмента 16S рРНК изолятов бактерии *W. chondrophila* с данными международной базы данных GenBank с использованием программы Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Процент идентичности фрагмента гена 16S рРНК изолята бактерии хламидии с другими штаммами из GenBank

№	Наименование штаммов	Идентификация	Инвентарный номер
1	<i>Waddlia chondrophila</i> 2032/99 annotated genome fragment, clone 1103163150255	96.09%	FR872611.1
2	<i>Waddlia chondrophila</i> 2032/99 annotated genome fragment, clone 1103163150235	95.51%	FR872601.1
3	<i>Waddlia chondrophila</i> 2032/99 annotated genome fragment, clone 1103163150279	94.97%	FR872627.1
4	<i>Waddlia chondrophila</i> 2032/99 annotated genome fragment, clone 1103163150251	94.97%	FR872609.1
5	<i>Waddlia chondrophila</i> 2032/99 annotated genome fragment, clone 1103163150244	94.97%	FR872605.1
6	<i>Waddlia chondrophila</i> 2032/99 annotated genome fragment, clone 1103163150220	94.97%	FR872590.1

Сравнительный анализ на основе гена 16S рРНК показал, что большинство изучаемых изолятов имеют сходство на 94,97-96,09 % с *W. chondrophila*. Результаты сравнения фрагмента гена 16S рРНК изолята бактерии *W. chondrophila* с данными GenBank представлены на рисунке 3.

Waddlia chondrophila 2032/99 annotated genome fragment, clone 1103163150255

Sequence ID: [FR872611.1](#) Length: 1169 Number of Matches: 8

Range 1: 237 to 414 [GenBank](#) [Graphics](#)

[▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
291 bits(157)	6e-74	172/179(96%)	2/179(1%)	Plus/Minus
Query 14	AAGCTTTCTGAGAACTGCTCTGTGTTCTGTTAATTCATCTCACAGAGTTACATCTTTCC			73
Sbjct 414	AAGCTTTCTGAGAACTGCTCTGTGTTCTGTTAATTCATCTCACAGAGTTACATCTTTCC			355
Query 74	CTTCAAGAAGCCTTTTCGCTAAGGCTGTTCTTGTGGAATTGGCAAAGGGATATTTGGAAGC			133
Sbjct 354	CTTCAAGAAGCCTTTTCGCTAAGGCTGTTCTTGTGGAATTGGCAAAGGGATATTTGGAAGC			295
Query 134	CCATAGAGGGCTATGGTGAAAAATCCACACATCTCCGTG-AAAAGTGGAAATAAGCTT			191
Sbjct 294	CCATAGAGGGCTATGGTGAAAAAGCAA-ATATCTCCGTTCAAAAGTGGAAAGAAGCTT			237

Рисунок 3 – Результаты сравнения фрагмента гена 16S рРНК изолятов бактерии хламидии с данными GenBank

Нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК является маркером для таксономии хламидий, а ее анализ является надежным инструментом для идентификации организмов. При сравнения казахстанского изолята *W. Chondrophila* с данными GenBank, было выявлено 96% идентичность со штаммом *W. Chondrophila* 2032/99 (ID; FR872611.1)

Обсуждение

Возможности диагностического обнаружения хламидий значительно расширились после внедрения молекулярных методов, в частности ПЦР, которая позволяет проводить прямую идентификацию из клинических образцов.

В данной работе выявлено, что новые бактериальные изоляты, выделенные из образцов клещей принадлежат к хламидия-подобным бактериям *W. chondrophila*. Фрагмент структурного гена, кодирующий 16S рРНК новых изолятов хламидии, выделенных из образцов клещей, в настоящее время были секвенированы и проанализированы для установления его генетических взаимоотношений. Последовательность фрагмента гена 16S рРНК изолята в *W. Chondrophila* была наиболее близка к штаммам хламидия-подобной бактерии *W. chondrophila* (FR872611.1, FR872601.1, FR872627.1, FR872609.1, FR872605.1, FR872590.1), имея 94,97-96,09% сходство нуклеотидных последовательностей.

Заключение

Согласно полученным результатам необходимы дополнительные исследования для изучения потенциальной роли клещей как переносчиков зоонозной бактерий *W. Chondrophila*, так как в данной работе среди 156 образцов клещей, собранных из Северо-Казахстанской, Западно-Казахстанской, Кызылординской, Жамбылской и Туркестанской областей, из них 11 образцов были положительными на *W. Chondrophila* по анализу гена 16S-рРНК. Результаты этого предварительного исследования подчеркивают важность мониторинга домашних животных как индикатора для оценки состояния здоровья их владельцев.

Конфликт интересов: Авторы не имеют конфликта интересов к опубликованию материалов в статье.

Литература

1. P.M. Dilbeck, J.F. Evermann, T.B. Crawford, A.C. Ward, C.W. Leathers, C.J. Holland, C.A. Mebus, L.L. Logan, F.R. Rurangirwa, T.C. McGuire, Isolation of a previously undescribed *Rickettsia* from an aborted bovine fetus // *J. Clin. Microbiol.* – 1990. – 28. – P. 814-816
2. K. Henning, G. Schares, H. Granzow, U. Polster, M. Hartmann, H. Hotzel, K. Sachse, M. Peters, M. Rauser, *Neospora caninum* and *Waddlia chondrophila* strain 2032/99 in a septic stillborn calf // *Vet. Microbiol.* – 2002. – 85. – P. 285-292
3. P.K. Chua, J.E. Corkill, P.S. Hooi, S.C. Cheng, C. Winstanley, C.A. Hart, Isolation of *Waddlia malaysiensis*, a novel intracellular bacterium, from fruit bat (*Eonycteris spelaea*) // *Emerging Infect. Dis.* – 2005. – 11. – P. 271-277
4. D. Baud, V. Thomas, A. Arafa, L. Regan, G. Greub, *Waddlia chondrophila*, a potential agent of human fetal death, *Emerging Infect. Dis.* – 2007. – 13. – P. 1239-1243.
5. D. Baud, G. Goy, M.C. Osterheld, N. Borel, Y. Vial, A. Pospischil, G. Greub, *Waddlia chondrophila*: from bovine abortion to human miscarriage // *Clin. Infect. Dis.* – 2011. – 52. – P. 1469-1471
6. D. Baud, L. Regan, G. Greub, Emerging role of *Chlamydia* and *Chlamydia*-like organisms in adverse pregnancy outcomes // *Curr. Opin. Infect. Dis.* – 2008. – 21. – P. 70-76.
7. S. Haider, A. Collingro, J. Walochnik, M. Wagner, M. Horn, *Chlamydia*-like bacteria in respiratory samples of community-acquired pneumonia patients // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2008. – 281. – P. 198-202
8. G. Goy, A. Croxatto, K.M. Posfay-Barbe, A. Gervais, G. Greub, Development of a real-time PCR for the specific detection of *Waddlia chondrophila* in clinical samples // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* – 2009. – 28. – P. 1483-1486
9. M. de Barys, G. Greub. *Waddlia chondrophila*: from biology to pathogenicity // *Microbes and Infection.* – 2013. – 15. – P. 1033-1041
10. C. Bertelli, F. Collyn, A. Croxatto, C. Ruckert, A. Polkinghorne, C. Kebbi-Beghdadi, A. Goesmann, L. Vaughan, G. Greub, The *Waddlia* genome: a window into *chlamydial* biology // *PLoS ONE.* – 2010. – 5. – P. 10890
11. V. Chisu, C. Foxi, A. Tanda, G. Masala. Molecular evidence of *Chlamydiales* in ticks from wild and domestic hosts in Sardinia, Italy // *Parasitol Res.* – 2018. – 117(4). – P. 981-987. doi: 10.1007/s00436-018-5772-3
12. D G McKercher, E M Wada, S K Ault, J H Theis. Preliminary studies on transmission of *Chlamydia* to cattle by ticks (*Ornithodoros coriaceus*) // *Am J Vet Res.* – 1980. – 41(6). – P. 922-4
13. Newman L, Rowley J, Vander Hoorn S, Wijesooriya NS, Unemo M, Low N, et al. Global Estimates of the Prevalence and Incidence of Four Curable Sexually Transmitted Infections in 2012 Based on Systematic Review and Global Reporting // Meng Z, editor. *PLOS ONE.* – 2015. – 10(12): 0143304. doi: 10.1371/journal.pone.0143304
14. D. Burnard, A. Polkinghorne. *Chlamydial* infections in wildlife-conservation threats and/or reservoirs of 'spill-over' infections? // *Vet Microbiol.* – 2016. – 196. – P. 78-84. doi: 10.1016/j.vetmic.2016.10.018

15. Michel R, Steinert M, Zoller L, Hauröder B, Henning K. Free-living Amoebae may serve as hosts for the Chlamydia-like bacterium *Waddlia chondrophila* isolated from aborted bovine foetus // *Acta Protozool.* – 2004. – 43. – P. 37–42
16. Thomas V, Herrera-Rimann K, Blanc DS, Greub G. Biodiversity of amoebae and amoeba-resisting bacteria in a hospital water network. // *Appl Environ Microbiol.* – 2006. – 72. – P. 2428-38. 10.1128/AEM.72.4.2428-2438.2006
17. Rurangirwa FR, Dilbeck PM, Crawford TB, McGuire TC, McElwain TF. Analysis of the 16S rRNA gene of micro-organism WSU 86-1044 from an aborted bovine foetus reveals that it is a member of the order Chlamydiales: proposal of Waddliaceae fam. nov., *Waddlia chondrophila* gen. nov., sp. nov. *Int J Syst Bacteriol.* – 1999. – 49.2. – P. 577-81. doi: 10.1099/00207713-49-2-577.

References

1. P.M. Dilbeck, J.F. Evermann, T.B. Crawford, A.C. Ward, C.W. Leathers, C.J. Holland, C.A. Mebus, L.L. Logan, F.R. Rurangirwa, T.C. McGuire, Isolation of a previously undescribed *Rickettsia* from an aborted bovine fetus // *J. Clin. Microbiol.* – 1990. – 28. – P. 814-816.
2. K. Henning, G. Schares, H. Granzow, U. Polster, M. Hartmann, H. Hotzel, K. Sachse, M. Peters, M. Rauser, *Neospora caninum* and *Waddlia chondrophila* strain 2032/99 in a septic stillborn calf // *Vet. Microbiol.* – 2002. – 85. – P. 285-292.
3. P.K. Chua, J.E. Corkill, P.S. Hooi, S.C. Cheng, C. Winstanley, C.A. Hart, Isolation of *Waddlia malaysiensis*, a novel intracellular bacterium, from fruit bat (*Eonycteris spelaea*) // *Emerging Infect. Dis.* – 2005. – 11. – P. 271-277.
4. D. Baud, V. Thomas, A. Arafa, L. Regan, G. Greub, *Waddlia chondrophila*, a potential agent of human fetal death, *Emerging Infect. Dis.* – 2007. – 13. – P. 1239-1243.
5. D. Baud, G. Goy, M.C. Osterheld, N. Borel, Y. Vial, A. Pospischil, G. Greub, *Waddlia chondrophila*: from bovine abortion to human miscarriage // *Clin. Infect. Dis.* – 2011. – 52. – P. 1469-1471.
6. D. Baud, L. Regan, G. Greub, Emerging role of Chlamydia and Chlamydia-like organisms in adverse pregnancy outcomes // *Curr. Opin. Infect. Dis.* – 2008. – 21. – P. 70-76.
7. S. Haider, A. Collingro, J. Walochnik, M. Wagner, M. Horn, Chlamydialike bacteria in respiratory samples of community-acquired pneumonia patients // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2008. – 281. – P. 198-202.
8. G. Goy, A. Croxatto, K.M. Posfay-Barbe, A. Gervaix, G. Greub, Development of a real-time PCR for the specific detection of *Waddlia chondrophila* in clinical samples // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* – 2009. – 28. – P. 1483-1486.
9. M. de Barsey, G. Greub. *Waddlia chondrophila*: from biology to pathogenicity // *Microbes and Infection.* – 2013. – 15. – P. 1033-1041.
10. C. Bertelli, F. Collyn, A. Croxatto, C. Ruckert, A. Polkinghorne, C. Kebbi-Beghdadi, A. Goesmann, L. Vaughan, G. Greub, The *Waddlia* genome: a window into chlamydial biology // *PLoS ONE.* – 2010. – 5. – P. 10890.
11. V. Chisu, C. Foxi, A. Tanda, G. Masala. Molecular evidence of Chlamydiales in ticks from wild and domestic hosts in Sardinia, Italy // *Parasitol Res.* – 2018. – 117(4). – P. 981-987. doi: 10.1007/s00436-018-5772-3.
12. D. G. McKercher, E M Wada, S K Ault, J H Theis. Preliminary studies on transmission of Chlamydia to cattle by ticks (*Ornithodoros coriaceus*) // *Am J Vet Res.* – 1980. – 41(6). – P. 922-4

13. Newman L., Rowley J., Vander Hoorn S., Wijesooriya NS, Unemo M, Low N, et al. Global Estimates of the Prevalence and Incidence of Four Curable Sexually Transmitted Infections in 2012 Based on Systematic Review and Global Reporting // Meng Z, editor. PLOS ONE. – 2015. – 10(12): 0143304. doi: 10.1371/journal.pone.0143304
14. D. Burnard, A. Polkinghorne. Chlamydial infections in wildlife-conservation threats and/or reservoirs of 'spill-over' infections? // Vet Microbiol. – 2016. – 196. – P. 78-84. doi: 10.1016/j.vetmic.2016.10.018
15. Michel R., Steinert M, Zoller L, Hauröder B, Henning K. Free-living Amoebae may serve as hosts for the Chlamydia-like bacterium *Waddlia chondrophila* isolated from aborted bovine foetus // Acta Protozool. – 2004. – 43. – P. 37-42.
16. Thomas V., Herrera-Rimann K, Blanc DS, Greub G. Biodiversity of amoebae and amoeba-resisting bacteria in a hospital water network. // Appl Environ Microbiol. – 2006. – 72. – P. 2428-38. 10.1128/AEM.72.4.2428-2438.2006.
17. Rurangirwa F.R., Dilbeck PM, Crawford TB, McGuire TC, McElwain TF. Analysis of the 16S rRNA gene of micro-organism WSU 86-1044 from an aborted bovine foetus reveals that it is a member of the order Chlamydiales: proposal of Waddliaceae fam. nov., *Waddlia chondrophila* gen. nov., sp. nov. Int // J Syst Bacteriol. – 1999. – 49.2. – P. 577-81. doi: 10.1099/00207713-49-2-577.

КЕНЕДЕГІ *WADDLIA CHONDROPHILA* ХЛАМИДИЯ ТӘРІЗДІ МИКРООРГАНИЗМДІ АНЫҚТАУ

Г.О.Шыныбекова* , Н.Н. Мухами , А.У. Исабек , Н.С. Кожабегенов ,
О.В. Червякова , К.Т. Султанкулова 

ҚР ДСМ «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты»,
Гвардейский қтк, Қазақстан
*sh.gaukhar@biosafety.kz

Аннотация. Хламидия тәрізді микроорганизм *Waddlia chondrophila* (*W. Chondrophila*) – бұл адамдар мен ірі қара малдың түсік түсіруіне әкелетін жаңа қоздырғыш. Бұл бактерия потенциалды зооноздық агент ретінде қарастырылады. *W. Chondrophila* негізгі резервуарлары мен тасымалдаушылары иксод кенелері болып табылады және олардың рөлін анықтау болашақ зерттеулерде шешілетін ең күрделі және қызықты мәселе болып қала береді.

Бұл зерттеудің мақсаты ірі қара малдан молекулалық әдістермен жиналған иксод кенелеріндегі хламидияны анықтау болды. Үй жануарларынан жиналған кене үлгілерінде қоздырғыштың болуын растау үшін полимеразды тізбекті реакция (ПТР) және секвенирлеу қолданылды.

Нуклеотидтер тізбегін талдау *Dermacentor marginatus*, *Hyalomma asiaticum*, *Hyalomma marginatum*, *Ixodes persulcatus*, *Hyalomma anatolicum* кенелерінде *W. chondrophila* бактериясының ДНҚ-сы анықталғанын көрсетті. Солтүстік Қазақстан, Батыс Қазақстан, Жамбыл және Түркістан облыстарынан жиналған кенелердің 156 үлгісінде 7%-ы хламидия тәрізді микроорганизм *W. chondrophila* оң нәтиже берді.

Иксод кенелерінде хламидия тәрізді микроорганизм *W. chondrophila* ДНҚ-ның болуы кенелердің осы зоонозды бактерияларды тасымалдаушы ретіндегі рөлін анықтау үшін қосымша зерттеулер қажет екенін көрсетеді.

Түйін сөздер: *Waddlia chondrophila*; *Chlamydia*; ПТР; кене; 16S рРНҚ; праймер; секвенирлеу.

DETECTION OF CHLAMYDIA-LIKE MICROORGANISM WADDLIA CHONDROPHILA IN TICKS

G.O. Shynybekova *^{ID}, N.N. Mukhami^{ID}, A.U. Isabek^{ID}, N.S. Kozhabergenov^{ID},
O.V. Chervyakova^{ID}, K.T. Sultankulova^{ID}

"Scientific Research Institute of Biological Safety Problems" of the Ministry of Health of the
Republic of Kazakhstan, Gvardeysky, Kazakhstan
*sh.gaukhar@biosafety.kz

Abstract. Chlamydia-like microorganism *Waddlia chondrophila* (*C. Chondrophila*) is a new pathogen that causes miscarriages and abortions in humans and cattle. This bacterium is considered as a potential zoonotic agent. The main reservoirs and carriers of *C. chondrophila* are ixodic ticks, and determining their role remains the most difficult and interesting question to be solved in future studies.

The purpose of this study was to identify chlamydia in ixodic ticks collected from cattle by molecular methods. Polymerase chain reaction (PCR) and sequencing were used to confirm the presence of the pathogen in tick samples collected from domestic animals.

The analysis of nucleotide sequences showed that the DNA of the bacterium *W. chondrophila* was detected in the ticks *Dermacentor marginatus*, *Hyalomma asiaticum*, *Hyalomma marginatum*, *Ixodes persulcatus*, *Hyalomma anatolicum*. Among 156 tick samples collected from North Kazakhstan, West Kazakhstan, Zhambyl and Turkestan regions, 7% were positive for chlamydia-like microorganism *W. chondrophila*.

The presence of DNA of the chlamydia-like *W. chondrophila* microorganism in ixodic ticks suggests that additional research is needed to study the potential role of ticks as carriers of these zoonotic bacteria.

Keywords: *Waddlia chondrophila*; *Chlamydia*; PCR; tick; 16s rRNA; primer; sequencing.