საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტი

ელისო მამისაშვილი

მსხვილფეხა პირუტყვში ბრუცელოზის სეროდიაგნოსტიკა და პათოგენის გენეტიკური ანალიზი

ვეტერინარიის დოქტორის აკადემიური

ხარისხის მოსაპოვებლად წარმოდგენილი

დ ი ს ე რ ტ ა ც ი ა

სპეციალობა: საველტერინარო მიკრობიოლოგია, ვირუსოლოგია, ეპიზოოტოლოგია, მიკოლოგია, იმუნოლოგია, პარაზიტოლოგია

ხელმძღვანელი :

ვეტერინარიის მეცნიერებათა დოქტორი,

სრული პროფესორი მერაბ ნათიძე

თ ბ ი ლ ი ს ი

2 0 1 2

ს ა რ ჩ ე ვ ი

1. შ ე ს ა ვ ა ლ ი ---------- 4

2. ლიტერატურის მიმოხილვა

2.1. ბრუცელოზი. ისტორია, გავრცელება სასოფლო-სამეურნეო ცხოველებში.---------- 12

2.2. ბრუცელების ნაირსახეობები, მიგრაცია ცხოველებში, პათოგენეზი. ---------- 17

2.3. ვეტერინარიასა და მედიცინაში ბრუცელოზის სეროლოგი-ური და გენეტიკური დიაგნოსტიკა. ---------- 25

3. საკუთარი გამოკვლევები

3.1. გამოკვლევის მასალა და მეთოდები. ---------- 38

3.2. საქართველოში 2005-2011წ.წ. მსხვილფეხა პირუტყვის ბრუცელოზით დაავადების დინამიკა.---------- 44

3.3. მსხვილფეხა პირუტყვის სისხლის შრატების როზ-ბენგალ სინჯით და კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზით გამოკვლევის შედეგები. ---------- 55

3.4. ფურების რძის ბრუცელოზზე რგოლური რეაქციით გამოკვლევის შედეგები. ---------- 63

3.5. ფურებიდან გამოყოფილი *B. abortus* შესწავლის შედეგები.---------- 68

3.5.1. მორფოლოგია და ტინქტორიალური თვისებები. ---------- 70

3.5.2. საკვებ არეებზე ზრდის თავისებურება. ---------- 72

3.5.3. *B. abortus* იზოლატების ბიოქიმიური თვისებები. ---------- 77

3.5.4. *B. abortus bovis* იზოლატების ფაგოიდენტიფიკაცია. ---------- 85

3.5.5. *B. abortus bovis* იზოლატების დ.ნ.მ სკრინინგი. ---------- 89

4. მიღებული შედეგების ანალიზი. ---------- 98

5. დ ა ს კ ვ ნ ე ბ ი. ---------- 105

6. პრაქტიკული წინადადებები. ---------- 107

7. გამოყენებული ლიტერატურა. ---------- 108

1. შ ე ს ა ვ ა ლ ი

თემის აქტუალობა: „ბრუცელოზი მომავლის დაავადებაა” ეს გამონათქვამი ეკუთვნის ფრანგ მეცნიერს შარლ ნიკოლს, რომელიც მეოცე საუკუნის დასაწყისში წარმოთქვა პარიზში. ბრუცელოზი 180 ნოზოოლოგიურ ზოონოზურ ინფექციებს შორის, დღემდე რჩება აქტუალურ პრობლემად. (В. М. Авилов с соавт, 1997; А. Д. Антоненко, 2000;. M. L. Boschiroli, 2001,). ბრუცელოზი ცხოველებში და ადამიანებში ჯერ კიდევ ყოველმხრივ არ არის შესწავლილი.

ჯანმრთელობის დაცვისა და სავეტერინარო მედიცინის თვალსაზრისით ბრუცელოზი წარმოადგენს მსოფლიო პრობლემას. (M. J. Corbel, 1997, M. L. Boschiroli, 2001). ეს დაავადება მეცხოველეობას უდიდეს ზარალს აყენებს. ბრუცელოზი ცხოველებიდან გადადის ადამიანზე დაინფიცირებული საკვები პროდუქტებით, ინჰალაციური ან დაავადებულ ცხოველთან პირდაპირი კონტაქტით და იწვევს მძიმე, ხანგრძლივად მიმდინარე დაავადებას. (R. Hurtado. 2001.), რაც ბრუცელოზთან ბრძოლას დიდ სოციალურ მნიშვნელობას ანიჭებს. ამასთან მხედველობაშია მისაღები ეკონომიკური მხარეც. დაავადებული ადამიანი დიდი ხნით კარგავს შრომის უნარს, სჭირდება მკურნალობა. ადამიანები, რომლებიც უშუალოდ უვლიან დაავადებულ პირუტყვს (მწველავები, მწყემსები და ა.შ.) საჭიროებს პროფილაქტიკურ საშუალებათა გამოყენებას. (ჯ. ბაბიკიშვილი, მ. მამაიაშვილი. თანაავტ. 2005).

ცხოველთა დაცვის მსოფლიო ორგანიზაციის (OIE) მონაცემებით, დედამიწის ხუთივე კონტინენტის 193 სახელმწიფოდან მხოლოდ 38-ია თავისუფალი ბრუცელოზისაგან; ხუთში ინფექცია დაფიქსირებულია გამონაკლისი შემთხვევების სახით. ორმოცდაათ ქვეყანაში დაავადების ერთეული შემთხვევებია აღწერილი. ენზოოტიური გავრცელების ფორ-

მით ბრუცელოზი გვხვდება 38 სახელმწიფოში, ხოლო ექვსში პოულობს ფართე გავრცელებას; განსაკუთრებით ხმელთაშუა ზღვის აუზში, მცირე აზიაში, არაბეთის ყურეში, მექსიკაში, ცენტრალურ და სამხრეთ ამერიკაში (Z. Getikua et. al., 2005; A. Alim, Z. D. Tomul, 2005;) აღმოსავლეთ აზიაში, აფრიკაში.

სამხრეთ ამერიკის ქვეყნებში, კანადაში, ა.შ.შ-ს თითქმის ყველა შტატში გვხვდება ბრუცელოზი და წელიწადში 100-200 შემთხვევაა ფიქსირებული. აღსანიშნავია, რომ ა.შ.შ-ს ჩრდილოეთის შტატებში ძირითადად რეგისტრირებულია მსხვილფეხა პირუტყვის ბრუცელოზი. (T. J. Doyle, R. T Bryan., 2000.). სამხრეთ ამერიკის ქვეყნებიდან მსხვილფეხა პირუტყვში ბრუცელოზი რეგისტრირებულია ბრაზილიაში, არგენტინაში, ურუგვაიში, ჩილეში (Lopez Merino A, et. al. 1989., Dr. Alfredo Garín, et. al. 2011.,) მსხვილფეხა პირუტყვის ბრუცელოზი რეგისტრირებულია ავსტრალიაში, ახალ ზელანდიაში (W. L McDonald, et. al. 2006.).

საუდის არაბეთში რომელიც წარმოადგენს მაღალ ენდემურ ზონას, ყოველწლიურად ფიქსირებულია ადამიანის ბრუცელოზით დაავადების 8000 შემთხვევა (Z. Memish, 2001).

ზოგიერთმა ქვეყნებმა, განსაკუთრებით ევროპულმა, (ინგლისი, დანია, გერმანია, ფინეთი, შვეცია, ნორვეგია, შვეიცარია, ჩეხეთი, სლოვენია, რუმინეთი), აგრეთვე იაპონიამ მიაღწია ბრუცელოზის სრულ ლიკვიდაციას ცხოველებში და ადამიანებში. (S Al Dahouk, et. al. 2002., K. E. Bergsrom et. al. 2003., S. Krkic-Dautovic et. al. 2006). ბრუცელოზთან წარმატებულად მიმდინარეობს ბრძოლა ბულგარეთში, ყოფილი იუგოსლავიის ქვეყნებში, სადაც დაავადების ერთეული შემთხვევებია რეგისტრირებული. (R. D. Jones et. al., 2004; Z. Cvetnic, et. al., 2003).

ბრუცელოზზე ყურადღება განსაკუთრებით გამახვილდა ბოლო

პერიოდში, კერძოდ ბრუცელები გამოყოფილ იქნა ზღვის ძუძუმწოვრებიდან, (სურ. 1) რომლებიც აავადებენ ხმელეთის ძუძუმწოვრებს და ადამიანსაც, რაც ქმნის შესაძლო ეკოლოგიურ პრობლემას. (S. D. Bre.; L. L. Perrett; et. al., 1999; A. R. Spickler, J. A. Roth, et. al., 2010;)

სურ. 1. ზღვის ძუძუმწოვრები.

ბრუცელები, განსაკუთრებით საშიში გახდა, ა.შ.შ-ში 2001 წლის 11 სექტემბრის ტრაგიკული მოვლენებისა და მის შემდგომ განვითარებული ბიოტერაქტების სერიების შემდეგ, როგორც შესაძლო ბიოლოგიური იარაღი. დაავადებათა კონტროლის ცენტრის (CDC), მიერ ბრუცელები მიეკუთვნება „ბ" კატეგორიას (Centers for Disease Control and Prevantion. 2000B.). „ბ" კატეგორიის აგენტები შედარებით სწრაფად ვრცელდება. ბრუცელოზის აღმძვრელი არაბეთისა და ზოგიერთი ქვეყნების არსენალშია, როგორც ბიოლოგიური იარაღი. (D. Shocham 2000, R. A. Greenfield, et. al, 2002., A. R. Spickler, J. A. Roth, et. al., 2010.).

ბრუცელოზი ენზოოტიური დაავადებაა, რაც გულისხმობს მის გავრცელებას მხოლოდ განსაზღვრულ ადგილებში, მეურნეობებში, ფერმებში, დასახლებულ პუნქტებში. ის შეიძლება გაჩნდეს წლის ნებისმიერ დროს. მას ახასიათებს ინფექციური პროცესის სტადიურობა (ლატენტური-უსიმპტომო, რეგიონალური, გენერალიზებული) ნაყოფისა და შარდსასქესო სისტემების ორგანოების ინფიცირება, უჯრედშიდა და ორგანოსშიდა პარაზიტიზმი, რაც აისახება იმუნიტეტის არასტერილური-ინფექციური და სტერილური-არაინფექციური ფაზების გამოვლინებაში.

ბრუცელოზთან ბრძოლის სირთულე განპირობებულია დაავადების აღმძვრელის მრავალი სახეობის არსებობით და მათი შესაძლო მიგრაციით ძირითადი პატრონი-ცხოველიდან არა ძირითად პატრონზე–პრაქტიკულად ძუძუმწოვართა თითქმის ყველა სახეობის დაინფიცირებით: გარემო არეში დაავადების გამომწვევი მიკრობის საკმაო გამძლეობით და მათი თვითგადარჩენის დიდი უნარით; აგრეთვე მაღალი ვირულენტობით, რაც უზრუნველყოფს ორგანიზმის უეჭველ დაინფიცირებას და ინფექციური პროცესის განვითარებას.

თ. შამათავას მონაცემებით 1962-1980 წლებში საქართველოში არაკეთილსაიმედო რაიონების რიცხვი 38,4-73,9%-ის ფარგლებშია. ეპიზოოტიურობის ინდექსი (არაკეთილსაიმედო წლების შეფარდება

დაკვირვების პერიოდთან) ყველაზე მაღალია სამაჩაბლოს, დუშეთის, გორის, მცხეთის, გარდაბნის, ადიგენის, ბოგდანოვკის, ბოლნისის, თეთრი წყაროს, წალკისა და სიღნაღის რაიონებში. ეს მაჩვენებელი ყველაზე დაბალია ონის, ტყიბულის, ჭიათურის და თერჯოლის რაიონებში.

ამჟამინდელი მონაცემებით საქართველოში ბრუცელოზი ყველა რეგიონშია ფიქსირებული, განსაკუთრებით აღმოსავლეთ საქართველოში, რაც უპირველეს ყოვლისა, დაკავშირებულია პირუტყვის შენახვის სისტემასთან. ავადმყოფობა ყველაზე მეტად გვხვდება იქ სადაც პირუტყვის მომთაბარე შენახვაა. მათ ტერიტორიაზე გადის პირუტყვის გადასარეკი ტრასები ან ტერიტორიები, რომლებიც მომთაბარე მეცხოველეობის რაიონების მიერ საზაფხულო საძოვრებადაა გამოყენებული, საზაფხულო საძოვრებზე პირუტყვის გადარეკვისას ყოველთვის არ იცავენ ვეტერინარულ-სანიტარიულ წესებს, ამიტომ ბრუცელოზზე არაკეთილსაიმედო მეურნეობის პირუტყვი, (სადაც იმყოფება ავადმყოფი ცხოველები), აინფიცირებს გადასარეკ ტრასას, წყალს, საზაფხულო საძოვარს. მისი მეშვეობით ავადდება კეთილსაიმედო მეურნეობის პირუტყვიც. (ჯ. ბაბაკიშვილი თანაავტ. 2005წ.) ავადობის ხვედრითი წილი მაღალია გარდაბნის, დედოფლისწყაროს, სიღნაღის, დმანისისა და კასპის რაიონებში. აღნიშნული მაჩვენებელი ყველაზე მცირეა ჭიათურის, ტყიბულის, ონის, და საჩხერის რაიონებში.

საქართველოში დღეს-დღეობით არ ტარდება ბრუცელოზის წინააღმდეგ გეგმიური, მიზანმიმართული და ქმედითი ღონისძიებები, დროულად არ ხდება დაავადებული ცხოველის გამოვლინება და მისი იზოლირება, რაც წარმოშობს ბრუცელოზის ფართედ გავრცელების საშიშროებას ცხოველებში და ადამიანებში.

ბოლო პერიოდში ბრუცელოზით დაავადების შემთხვევები თბილისში მნიშვნელოვნად გაიზარდა. ამის მიზეზია ვეტ. სანიტარული

კონტროლის დაბალი დონე, რის გამოც სავაჭრო ქსელში ხვდება ბრუცელოზის აღმძვრელით დაინფიცირებული პროდუქტები, მათ შორის რძე და რძის პროდუქტები, რომლებიც არის დაავადების გავრცელების ძირითადი წყარო. აღსანიშნავია ის ფაქტი, რომ ფურის ჯიქანში ბრუცელები შეიძლება 7-9 წლამდე არსებობდნენ.

ინფექციის დროულად დიაგნოსტირება ბრუცელოზის ენზოოტიის პრევენციისა და ეპიზოოტიური სიტუაციის აღმოფხვრის ყველაზე საიმედო და ეფექტური მეთოდია.

კვლევის მიზანი. ბრუცელოზის პრობლემიდან გამომდინარე სადისერტაციო ნაშრომის მიზანია:

1. საქართველოში მსხვილფეხა პირუტყვის ბრუცელოზზე ეპიზოოტიური სიტუაციის შესწავლა.

2. თანამედროვე სეროლოგიური რეაქციებით ცხოველთა სისხლის შრატების გამოკვლევა.

3. სეროლოგიური რეაქციების როზ-ბენგალ სინჯის და კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზის სადიაგნოსტიკო მნიშვნელობის შედარებითი შესწავლა.

4. მსხვილფეხა პირუტყვიდან გამოყოფილი *Br. abortus bovis* გენეტიკური ანალიზი და სხვა სახეობის სასოფლო-სამეურნეო ცხოველებში მიგრაციის დადგენა.

კვლევის ძირითადი ამოცანები:

1. საქართველოში მსხვილფეხა პირუტყვის ბრუცელოზზე ეპიზოოტოლოგიური სიტუაციის შესწავლა.

2. მსხვილფეხა პირუტყვის სისხლის შრატების გამოკვლევა როზ-ბენგალ სინჯით და იმუნოფერმენტული ანალიზით.

3. ფურების რძის ბრუცელოზზე რგოლური რეაქციით გამოკვლევა.

4. მსხვილფეხა პირუტყვის პათ. მასალიდან (სისხლი, რძე, მოგდებული ნაყოფი) გამოყოფილი კულტურების მყისიერი პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით გამოკვლევა (RT-PCR).

5. AMOS-PCR-ის გამოყენება *Brucella*-ს სახეობათა იდეტიფიცირებისათვის.

კვლევის სიახლე: – პირველად საქართველოში მსხვილფეხა პირუტყვში ბრუცელოზის დიაგნოსტირებისათვის დღემდე არსებული აგლუტინაციისა და კომპლემენტის შებოჭვის რეაქციის ნაცვლად რეკომენდებულია მაღალმგრძნიბიარე, სწრაფი და მაღალეფექტური კვლევის – მეთოდების კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზი და პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის გამოყენება, AMOS-PCR-ით ბრუცელას სახეობათა დიფერენცირება.

დისერტაციის პრაქტიკული მნიშვნელობა:

– დაიხვეწება ბრუცელოზზე მსხვილფეხა პირუტყვის სეროლოგიური მეთოდით გამოკვლევა.

– შეიქმნება სრული ინფორმაცია გენეტიკური ანალიზით ბრუცელების ბიოტიპებზე, მათ ბუნებაში მიგრაციაზე.
– მიღებული შედეგების ანალიზი საფუძვლად დაედება ბრუცელოზთან ბრძოლის ღონისძიებების სწორ დაგეგმვასა და გატარებას.

კვლევის შედეგების აპრობაცია:

ნაშრომის ძირითადი დებულებები მოხსენიებულია: ა.ი.პ. საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტის:

ა) დოქტორანტთა სამეცნიერო კონფერენციაზე (2010 წელი, იანვარი)

ბ) ამავე უნივერსიტეტის დოქტორანტთა სამეცნიერო კონფერენციაზე (2010 წელი, აპრილი)

ვ) ინფექციურ და ინვაზიურ სნეულებათა დეპარტამენტის საპრეზენტაციო კომისიის სხდომაზე (2010 წელი, 10 მაისი).

დ) საერთაშორისო კონფერენციაზე „აგრობიომრავალფეროვნების

დაცვა სოფლის მეურნეობის მდგრადი განვითარება", ა.ი.პ. აგრარული უნივერსიტეტი (2010 წელი, 24-25 ნოემბერი).

ე) დოქტორანტთა სამეცნიერო კონფერენციაზე, ა.ი.პ. აგრარული უნივერსიტეტი (2011წელი. 15-19 მარტი).

კვლევი შედედგების პუბლიკაცია: თემის გარშემო დარგობრივ რეფერირებულ პერიოდულ გამოცემებში გამოქვეყნებულია 5 პუბლიკაცია, მათ შორის 3 ინდივიდუალური ავტორობით, ხოლო ორი თანაავტორებთან ერთად.

ნაშრომის სტრუქტურა და მოცულობა: დისერტაციის ტექსტი მოიცავს კომპიუტერზე ნაბეჭდ 128 გვერდს და შედგება: შესავლის, ლიტერატურის მიმოხილვის, საკუთარი გამოკვლევების, მიღებული შედეგების განხილვის, დასკვნისა და პრაქტიკული წინადადებებისაგან. საკუთარი გამოკვლევები შედგება კვლევის ობიექტების, მეთოდებისა და კვლევის შედეგებისაგან. ნაშრომი ილუსტრირებულია 11 ცხრილით, 13 ფოტოსურათით, 4 დიაგრამით, 1 რუქით და 1 ალგორითმით. სადისერტაციო ნაშრომს თან ერთვის გამოყენებული ლიტერატურის ჩამონათვალი 213 პუბლიკაცია.

2. ლიტერატურის მიმოხილვა

2.1. ბრუცელოზი. ისტორია, გავრცელება სასოფლო-სამეურნეო ცხოველებში

ბრუცელოზი მიეკუთვნება უძველეს დაავადებათა რიცხვს. ადამიანის ბრუცელოზით დაავადების პირველი შეტყობინება გვხვდება ბერძენი ექიმისა და ფილოსოფოსის ჰიპოკრატესა და არისტოტელეს ნაშრომებში. ბრუცელოზის შესწავლის ისტორიულ ეტაპად ითვლება 1886 წელი, როცა ინგლისელმა სამხედრო ექიმმა დევიდ ბრუსმა კუნძულ მალტაზე მკვდარი ჯარსკაცის ელენთის პათოლოგიური მასალიდან დამზადებული ნაცხების მიკროსკოპირებისას აღმოაჩინა მისი გამომწვევი მიკრობი. მანვე 1887 წელს გამოყო აღმძვრელის კულტურა რომელსაც უწოდა მალტის მიკროკოკი, ხოლო დაავადებას შესაბამისად მალტის ცხელება. (CBRNE. 2001).

დ. ბრუსის მიერ ისტორიული მნიშვნელობის აღმოჩენიდან ათი წლის შემდეგ, ინგლისელმა ა. რაიტმა და დ. სემპლემ (A.Wright, D.Semple 1897წ.) დაადგინეს, რომ ბრუცელოზით დაავადებული ადამიანის სისხლის შრატს უნარი აქვს მოახდინოს მალტის მიკროკოკის კულტურის აგლუტინაცია, აღნიშნული დაედო საფუძვლად ბრუცელოზის სეროდიაგნოსტიკას. რომელსაც ეწოდა რაიტის რეაქცია.

ვეტერინარიისა და სოფლის მეურნეობის პრაქტიკისათვის დიდი ხნის წინათ იყო ცნობილი ძროხების თავისებური დაავადება, რომელიც მაკე ცხოველებში იწვევდა განუვითარებელი ნაყოფის მოგდებას, ანუ ე.წ. მსხვილფეხა პირუტყვის ინფექციური-ეპიზოოტიური აბორტი. 1897 წელს დანიელმა ექიმმა და ვეტერინარმა ბერნარდ ბანგმა და ვ. სტრიბოლტმა (B. Bangand, V. Stribolt 1897) შეისწავლეს და დაადგინეს, რომ ძროხების ინფექციური აბორტის აღმძვრელი არის

განსაკუთრებული „ბაცილა“ (ასე უწოდეს). მიკროორგანიზმი მკვლევარებმა პირველებმა აღმოაჩინეს აბორტირებული ძროხის საშვილოსნოსა და სანაყოფე გარსებს შორის ექსუდატში, აღმძვრელი გამოყვეს სუფთა მიკრობული კულტურის სახით და უწოდეს *Bacillus abortus bovis* (Bang).

1916-1918 წლებში, ამერიკელმა მკვლევარმა ქალმა ელის ივენსმა (A. Evans) მოახდინა *Micrococcus melitensis*-ის და *Bacterium abortus*-ის მიკრობული კულტურების შედარებითი შესწავლა და დაამტკიცა მათ შორის მნიშვნელოვანი მსგავსება. ე. ივენსის გამოკვლევებით, მიკრობთა ორივე სახეობა მორფოლოგიური და კულტურალური თვისებებით არ განსხვავდებოდნენ ერთმანეთისაგან. მათი განსხვავება შესაძლებელი აღმოჩნდა აგლუტინაციის რეაქციით.

1914 წელს ჯ. ტრაუმმა აბორტირებული ღორიდან გამოყო ბრუცელას მესამე სახეობა და უწოდა – *B. abortus suis.*

1920 წელს, კ. მეიერმა და ფეზიემ (K.Meier and Feusier) სამივე მიკრობი, კერძოდ: *Micrococcus Melitensis, Bacterium Abortus* და *B. abortus suis.* გააერთიანეს ერთ ჯგუფში, საერთო სახელწოდებით ბრუცელა (*Brucella*), -ბრუსის საპატივსაცემოდ. (Н. М. Колычев, Р. Г. Росманов., 2003г.)

1953 წელს ბადლი, სწავლობდა რა ცხვრის ინფექციურ ეპიდიდიმიტს, გამოყო *B. ovis*. 1957 წელს სტოენერგმა და ლეკმანმა, ბუჩქნარის ვირთხის ლეშიდან გამოყვეს მიკროორგანიზმი, რომელიც ბრუცელას იდენტური აღმოჩნდა და უწოდეს *B. neotome*. 1966 წელს კი კ. მაიკლმა გამოყო ძაღლებში ბრუცელას აღმძვრელი და უწოდა

B. canis.

ბრუცელოზი ცხოველთა ქრონიკულად მიმდინარე ინფექციური

დაავადებაა. ავადდება ადამიანიც. იგი მიეკუთვნება ზოოანთროპონოზებს.

ბრუცელოზით ავადდება ყველა სახეობის შინაური ცხოველი, მაგრამ უფრო მეტად მსხვილფეხა პირუტყვი, ცხვარი, თხა, ღორი. ბრუცელოზი დადგენილია მრავალ გარეულ, განსაკუთრებით ბალახისმჭამელ ცხოველში, ინფიცირდებიან ფრინველებიც. აღწერილია ბრუცელების ცივსისხლიანთა ორგანიზმიდან გამოყოფის შემთხვევები. ბრუცელოზის აღმძვრელი გამოყოფილია მღრღნელებიდან, სისხლმწოვი ფეხსახსრიანებიდან, ექტოპარაზიტებიდან. ლაბორატორიული ცხოველებიდან ყველაზე მეტად ამთვისებელია ზღვის გოჭი და თეთრი თაგვი. (ჯ. ბაბაკიშვილი, თანაავტ. 2005წ.). ბრუცელოზის მიმართ ახალგაზრდა ცხოველი უფრო გამძლეა სქესობრივად მომწიფებულთან შედარებით.

ბრუცელოზზე ამთვისებელია ხერხემლიან ცხოველთა 60 სახეობაზე მეტი, ბრუცელები გამოყოფილია სისხლმწოვი ტკიპების 30 სახეობიდან, რწყილის ორი სახეობიდან, აგრეთვე კოღოს ორი სახეობიდან და სახლის ბუზებიდან. ბრუცელები აღმოჩენილია ჩრდილოეთის ირმის კანქვეშა ტკიპას ლარვებში.

აღსანიშნავია რომ, ინფექციის პირველწყაროს წარმოადგენენ არა გარეული, არამედ სასოფლო სამეურნეო ცხოველები. დაავადების ერთეული შემთხვევები შეიძლება დაფიქსირდეს ბრუცელოზის გადატანისას გარეული ცხოველიდან შინაურზე, თუმცა დაავადების საერთო ეპიზოოტიურ ჯაჭვში მნიშვნელოვან როლს არ თამაშობს. (Т. С. Костенко, Е. И. Скаршевская; 1989г.).

ინფექციის აღმძვრელის წყაროა ავადმყოფი ცხოველი. იგი მიკრობს გამოყოფს მოგდებულ ნაყოფთან, სანაყოფე გარსებთან და სანაყოფე სითხესთან, შარდათან, რძესთან და სხვა გამონაყოფებთან ერ-

თად. მათი მეშვეობით ინფიცირდება საკვები, წყალი, სადგომი, მოვლის საგნები და სხვა. (И. Ф. Таран, Г. И. Лямкин., 1996.)

ბრუცელოზი მაკე ცხოველებში უმთავრესად მიმდინარეობს აბორტებით, მასტიტით, სახსრების ანთებით. მწარმოებელში ორქიტით და ეპიდიდიმიტით. ბრუცელოზის გამავრცელებელია მდედრ პირუტყვთან ერთად მწარმოებელიც (კერატი, კურო, ერკემალი). ფური რძესთან ერთად ბრუცელას გამოყოფს ხუთ წლამდე.

ბრუცელოზის აღმძვრელის გადაცემა ხდება პირდაპირი კონტაქტით და დაინფიცირებლი გარემო არის ობიექტების მეშვეობით, პირველი ხორცილდება დაგრილების, ხელოვნური დათესვლის (თუ მწარმოებელი ავადმყოფია) დროს. ბრუცელები ცხოველთა ორგანიზმში შეიჭრება საჭმლის მომნელებელი სისტემის, ცხვირის, თვალის, სასქესო ორგანოების ლორწოვანი გარსიდან, ასევე კანიდან.

ავადმყოფობის გავრცელებაში დიდი მნიშვნელობა აქვს დაინფიცირებული რძის, მოუმწიფებელი (ახალი, უმარილო) ყველის, ბრინზას, არაჟანის, კარაქის, (A. Alim, Z. D. Tomul; 2005.), აგრეთვე საკვებად თერმულად დაუმუშავებელი საკვების მიღებას (სისხლიანი ხორცი, თავის ტვინი და ა.შ.). (R. Hurtado. 2001). ადამიანიდან ადამიანზე გადაცემა ძალიან იშვიათია, არსებობს პუბლიკაციები დედიდან ნაყოფზე დაავადების ვერტიკალური გადაცემისა, ამასთან არ არის გამორიცხული სქესობრივი გზით აღმძვრელის გადაცემა. (CBRNE. 2001).

ავადმყოფობის გავრცელებაში მონაწილეობს ადამიანი, მეცხოველეობის დარგის მუშაკი, სასაკლაოებისა და ხორცის გადამამუშავე-

ბელი პუნქტების თანამშრომლები, რომლებიც არ იცავენ ვეტერინარულ-სანიტარულ წესებს. (Z. Landau; L. Green., et. al. 1999;) ჯანმრთელობის დაცვის საერთაშორისო ორგანიზაციისა და საერთა-

შორისო ეპიზოოტიური ბიუროს მონაცემებით, ცხოველთა ბრუცელოზი გვხვდება მთელს მსოფლიოში. შედარებით ფართოდაა გავრცელებული მსხვილფეხა პირუტყვის ბრუცელოზი.

2.2. ბრუცელების ნაირსახეობები, მიგრაცია ცხოველებში, პათოგენეზი

ბრუცელები მიეკუთვნებიან Schizomycete–ს კლასს, რიგი - Eubacteriale, ოჯახი – Brucelaceae. ბრუცელები აერობული, კატალაზა და ოქსიდაზა დადებითი, გრამუარყოფითი, უჯრედშიდა ფაკულტატური კოკობაცილებია. (R. Hurtado. 2001;) კაფსულას არ წარმოქმნიან, გამოიმუშავებენ ურეაზას. ბრუცელები წარმოადგენენ ნიტრიტების ნიტრატებად გარდაქმნის კატალიზატორს. (CBRNE.2001.). ბრუცელას კოკოვანი ფორმის ზომებია 0,3-0,6 მკმ-ია, ხოლო ჩხირისებრი ფორმების 0,6-2,5 მკმ. გენომის საშუალო მოლეკულური მასა 2,37x109 დალტონია (M. J. Korbet 1997.) ბრუცელები გამონაკლისად წარმოქმნიან L-ფორმებს. ბრუცელებს აქვთ ლიპოპოლისაქარიდული გარსი, რომელიც სხვა გრამუარყოფითი მიკროორგანიზმებისაგან განსხვავებით ნაკლებად პიროგენულია, რაც განაპირობებს დაავადების დროს მაღალი ცხელების გამონაკლისად გამოვლინებას. (CBRNE.2001.). ლიპოპოლისაქარიდი (LPS) ანტიგენია, რომელიც ინდუცირებს ანტისხეულების გამომუშავებას. S-LPS (S-smooth –გლუვი), გლუვი ლიპოპოლისაქარიდული მემბრანა სავარაუდოდ თამაშობს გარკვეულ როლს მიკრობის უჯრედშიდა გადარჩენაში. ამასთან გლუვი ფორმის შტამები უფრო გადარჩებიან ვიდრე ხორკლიანი. სარწმუნო მონაცემებით S-LPS წარმოადგენს ვირულენტობის მთავარ ფაქტორს, თუმცა პათოგენეზში მისი როლი არ არის დაზუსტებული, რაც მიუთითებს არა უჯრედშიდა, არამედ უჯრედგარე გადარჩენის როლზე. (J. E. Ugalde, C. Czibener, et. al. 2000).

ბრუცელას უჯრედის კედელის სტრუქტურაში შედის ღრმა O-ანტიგენი

– ცილის კომპლექსი, და ზედაპირულ – S ანტიგენი- ლიპიდური კოლმპლექსი. ამ უკანასკნელის ორი ვარიანტი არსებობს – A და M ანუ სომატური ანტიგენები A (*abortus*) და M. *(melitensis).*

B. abortus – შტამები შეიცავს დიდი რაოდენობით A ანტიგენს. კერძოდ A და M ანტიგენის თანაფარდობა *B. abortus*-ში შეადგენს 20:1. ფიქრობენ, რომ ეს ანტიგენები წარმოდგენილია რთული გლუციდო-ლიპიდოპოლიპეპტიდური კომპლექსით. ისინი აქტიურად ახდენენ ანტიგენის სინთეზის ინდუცირებას, პრეციპიტაციის, აგლუტინაციის კ.ფ.რ, და სხვა რეაქციის გამოვლინებისას.

ამჟამად ბრუცელას 7 სახეობაა ცნობილი: (ცხრილი 1). ანტიგენური და ბიოქიმიური თვისებების მიხედვით ზოგიერთ სახეობას აქვს ბიოვარები.

1) B. abortus- მსხვილფეხა პირუტყვის (აქლემის, იაკის და კამეჩის ჩათვლით) ბრუცელოზის აღმძვრელი, იგი ადამიანის პათოგენიცაა. ის აერთიანებს 9 ბიოვარს (1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8 და 9), *B. abortus* ზოგიერთი ბიოტიპი (მაგ. 3, 6, 7 და 9) შედარებით მაღალი ვირულენტობის გამო, რომელიც თითქმის *B. melitensis*-ის ვირულენტობის მსგავსია, იწვევენ ბრუცელოზის ეპიდემიას მძიმე კლინიკური ფორმით.

2) B. melitensis- ცხვრის და თხის ბრუცელოზის აღმძვრელი; აქვს 3 ბიოვარი (1; 2; 3;). ავადდება ადამიანიც.

3) B. suis- ღორის ბრუცელოზის აღმძვრელი; აქვს 4 ბიოვარი (1; 2; 3; 4;) ავადდება ადამიანიც. მათ შორის ბიოვარი 1 და 3 იწვევს ბრუცელოზს ღორებში; ბიოვარი 2 -კურდღლებში და ადამიანში, ბიოვარი 4 ასნებოვნებს ჩრდილოეთისა და კანადურ ირმებს.

4) B. canis – ბიოვარი არ გააჩნია. ავადდება ძაღლები და მისი მსგავსი

ცხოველები, რომლებმაც შეიძლება დაავადონ ადამიანიც.

5) *B. ovis*- ერკემლის ეპიდიდიმიტის აღმძვრელი, ავადდება ცხვარი, იგი არ იწვევს ადამიანის დაავადებას.

6) *B. neotomae*- ბუჩქნარის ვირთხის ბრუცელოზის აღმძვრელი, ადამიანი არ ავადდება.

7) *B. maris* ზღვის ძუძუმწოვრების ბრუცელოზის აღმძვრელის შტამების ფორმალური სახელია, რომელიც თავის მხრივ კიდევ იყოფა ორ ქვესახეობად: 1) *B. pinnipedialis*-ავადდება ფეხფარფლიანები: სელაპი, ზღვის ლომი, და ლომვეშაპი. 2) *B. ceti,* რომელიც გამოყოფილია ვეშაპისებრთა ოჯახის წარმომადგენლებიდან; (ვეშაპი, დელფინი და ზღვის ღორები). ყველა ეს შტამი გამოყოფილ იქნა ა.შ.შ-ში და გაერთიანებულ სამეფოში ზღვის ძუძუმწოვრებიდან. (G. Foster et. al. 1996., L.B. Forbes, et.al. 2000., A.R. Spickler, J.A. Roth, et.al. 2010, A.Whatmore et .al., 2011.)

აღსანიშნავია რომ, ბრუცელას ეს სახეობა აავადებს არა მარტო ხმელეთის ძუძუმწოვრებს, არამედ ადამიანსაც. (რისკის ქვეშ არიან დელფინებისა და სელაპების მომვლელები). (S.D. Brew, L. L. Perrett; et. al. 1999., A. Whatmore, C. Dawson, 2011.)

ბრუცელას სახეობისათვის დამახასიათებელია შერჩევითი პათოგენობა შესაბამისი სახეობის ცხოველების მიმართ, მაგრამ აღინიშნება მათი მიგრაციის ფართო სპექტრიც. ბრუცელებს თავისი ძირითადი შუალედური პატრონის ორგანიზმის გარდა შეუძლიათ ზრდა-განვითარება და პათოლოგიური პროცესის გამოწვევა სხვა სახეობის ცხოველებში; ასე მაგალითად, თხისა და ცხვრის ბრუცელოზი აღმძვრ-

ელი აავადებს ძროხასაც, ღორსაც და პირიქით. ადამიანის დაავადება

ცხრილი 1

ბრუცელოზი სასოფლო-სამეურნეო და გარეულ ცხოველებში

№	ორგანიზმი	რეზერვუარი ცხოველები	გეოგრაფიული გავრცელება
1.	B. abortus	ძროხა, ბუფალო, იაკი, აქლემი	მთელს მსოფლიოში
2.	B. melitensis	თხა, ცხვარი, აქლემი	შუა აზია, ლათინური ამერიკა, აფრიკის ნაწილი, ზოგიერთი სამხრეთ ევროპის ქვეყნები
3.	B. suis	ღორები (ბიოტიპი 1-3)	სამხრეთ ამერიკა, სამხრეთ აზია, ა.შ.შ.
4.	B. canis	ძაღლისებრნი	–
5.	B.ovis	ცხვარი	ადამიანის დაავადების შემთხვევა არ არის ცნობილი
6.	B. neotomae	მღრღნელები	ადამიანის დაავადების შემთხვევა არ არის ცნობილი
7.	B. pinnipediae and B. catacaeae	ზღვის ძუძუმწოვრები, ვეშაპი, დელფინი, სელაპი	უახლესი მონაცემები, სადაც აღწერილია ადამიანთა დაავადების შემთხვევები

სამივე ძირითადი სახეობის სასოფლო-სამეურნეო ცხოველის ბრუცელოზის აღმძვრელებს (*B. abortus, B. melitensis, B. suis*) შეუძლია მეტ-ნაკლები სიძლიერით. ამრიგად, ბრუცელები „ხატოვნად არ დაიკარგებიან.“ აღმძვრელის ეს თვისება კიდევ უფრო ამძიმებს ამ ინფექციის საშიშროებას, ადამიანებსა და ცხოველებში. (მ. ლომინეიშვილი, თ. გავაშელი. 1995)

ბრუცელები მიეკუთვნებიან პათოგენურ მიკრობთა ჯგუფს. პათოგენობით და ვირულენტობით ბრუცელების სხვადასხვა სახეობები განსხვავებულია. აღნიშნული ეხება არა მარტო სხვადასხვა სახეობებს, არამედ ერთი და იგივე სახეობებში შემავალ სხვადასხვა სეროვარიანტებს. (Н. Е. Ненатов 1990., В. М. Авилов 1997.)

თანამედროვე შეხედულებით, ბრუცელოზის პათოლოგიაში, არჩევენ, ცხოველთა დაინფიცირების, ერთმანეთისაგან განსხვავებულ ორ მომენტს: პირველი ცხოველის ორგანიზმში ინფექციის გამომწვევი მიკრობების მცირე დოზებით თანდათნობითი დაგროვება, ინფექციური გამღიზიანებლის სუმაცია, რომელიც ინფექციური პროცესის საწყის ეტაპზე მიმდინარეობს იმუნური სისტემის გაღიზიანების – აღგზნების გარეშე. მეორე - ცხოველის ორგანიზმში აღმძვრელის დიდი რაოდენობით ერთდროული მოხვედრა, რასაც მოსდევს იმუნური გარდაქმნის (ძვრების) გამოვლინება დაინფიცირებიდან პირველ კვირაში.

ვეტერინარულ პრაქტიკაში განსაკუთრებული მნიშვნლობა აქვს პირველ მომენტს, ვინაიდან ამ დროს არ მჟღავნდება იმუნური გარდაქმნები დაინფიცირებულ ორგანიზმში. სასოფლო-სამეურნეო ცხო-ველები, როგორც წესი, იმყოფებიან უმთავრესად ჯგუფური შენახვის

პირობებში, სადაც ფიზიოლოგიური თვალსაზრისით მკვეთრად განსხვავებული ინდივიდებია თავმოყრილი, რომლებიც ბრუცელოზის ამთვისებლობასთან დამოკიდებულებაში ამჟღავნებენ მეტნაკლებ მგრძნობელობას. ცხოველებს შორს ხდება მუდმივი კონტაქტი, როგორც პირდაპირი, ასევე არაპირდაპირი გზით. ამდენად ინფექციის კერის გაჩენისას ცხოველებს შორის წარმოიშვება დაინფიცირებისა და დაავადების გამოვლენის სხვადასხვა პირობები. სწორედ აღნიშნული განსხვავდება ცხოველთა დაინფიცირების საველე პირობები ექსპერიმენტულისაგან. ექსპერიმენტში დადგენილია ბრუცელების მიახლოებითი დოზები, რომლებიც იწვევენ მხოლოდ რეგიონალური ლიმფური კვანძების ინფიცირებას ე.წ.- რეგიონალური ინფექცია და სეპტიკურ პროცესს-გენერალიზებული ინფექცია. მსხვილფეხა პირუტყვისათვის საშუალო დამაინფიცირებელი დოზა მერყეობს *B. abortus*-ის 10-დან 100 ათას ცოცხალი მიკრობული უჯრედის ფარგლებში. ცხოველის მიერ უფრო მაღალი დოზების მიღების შემთხვევაში ვითარდება ძლიერი და ინტენსიურად გამოხატული ინფექცია, იმუნოლოგიური რეაქტივობის გამომჟღავნებით, დაინფიცირებიდან შედარებით მოკლე პერიოდში. დადგენილია, რომ ზოგიერთი ცხოველის ორგანიზმში განმეორებით ბრუცელების სუბმინიმალური რაოდენობის მოხვედრისას მიკრობების სუმაციის შედეგად აღმოცენდება ტიპიური დაავადება.

ბრუცელოზით დაინფიცირების პირველი გზა მეორისაგან პრინციპში იმით განსხვავდება, რომ აღმძვრელის დაბალი დოზები, საშიში არ არის, მაგრამ ერთი და იგივე ცხოველის ორგანიზმში მისი მრავალჯერ მოხვედრისას ბრუცელები მრავლდებიან, ვრცელდებიან და იწვევენ ბაქტერიემიასა და კლინიკურად სრულყოფილად ჩამოყალიბებულ

ბრუცელოზს. ამ შემხვევაში დაავადების გამოწვევა შეუძლია ერთჯერადად დამაინფიცირებელ დოზაზე ნაკლები რაოდენობის მიკრობებსაც, ე.ი. არ არის აუცილებელი სუმაციის შედეგად მაქსიმალური დამაინფიცირებელი დოზის დაგროვება. ამდენად არაიმუნური ცხოველის ორგანიზმში, იქმნება ფარული ბრუცელამტარებლობის პირობები.

ბრუცელოზის აღმძვრელები საკმაოდ „აგრესიულები“ არიან და ხასიათდებიან მაღალი ინვაზიურობით. მათ შეუძლიათ ორგანიზმში შეღწევა დაუზიანებელი ლორწოვანი გარსებიდანაც. ამასთან ისინი ამჟღავნებენ ჰემოტოქსიურობას. ბრუცელები მიეკუთვნება უჯრედშიდა პარაზიტებს. ისინი ცოცხლობენ და მრავლდებიან რეტიკულო-ენდოთელიარული სისტემის უჯრედებში, ამასთან მათ შეუძლიათ აგრეთვე უჯრედგარე პარაზიტობაც. (М. М. Ременцова, 1988., И. Ф. Таран, Г. И. Лямкин 1996.)

ორგანიზმში შეჭრილი ბრუცელები გარკვეული დროის განმავლობაში ახლომდებარე ლიმფურ კვანძებში იბუდებენ და მრავლდებიან. ორგანიზმის წინააღდეგობის დაძლევის შემთხვევაში, ისინი გადადიან შინაგან ორგანოებში, ინფექცია ღებულობს გენერალიზებულ ფორმას. 3-4 და მეტი კვირის შემდეგ ავადმყოფობა გადადის ლატენტურ ფორმაში, ბრუცელების ცურში ან ცალკეულ ლიმფურ კვანძში ლოკალიზაციით. ბრუცელები გამრავლებისათვის ყველაზე ხელსაყრელ გარემოს მაკე ცხოველის საშვილოსნოში პოულობენ, სადაც ისინი დიდი რაოდენობით მრავლდებიან, იწვევენ საშვილოსნოსა და სანაყოფე გარსების ანთებით მოვლენებს, რის შედეგადაც ირღვევა კავშირი დედის ორგანიზმსა და ნაყოფს შორის, ეს უკანასკნელი კვდება და როგორც ორგანიზმისათვის უცხო სხეული გარეთ

გამოიდევნება ან ცოცხალი, დედის ორგანიზმს სცილდება საშვილოსნოს ნერვული შეკუმშვის შედეგად, ნაყოფის მოგდების შემდეგ ბრუცელები უმთავრესად ცურსა და ლიმფურ კვანძებში ჩაიბუდებენ. ორგანიზმში ირღვევა ნივთიერებათა ცვლა, რაც გამოვლინდება სისხლის მარაგის ტუტიანობის, კალციუმის შემცირებით და არაორგანული ფოსფორის მომატებით. მაკე ცხოველის საშვილოსნოში გამოიყოფა ერითრიტოლი, რომელიც ახდენს ბრუცელების გამრავლების სტიმულირებას. ამრიგად, ბრუცელოზის ჩამოყალიბებაში სამი ფაზა აღინიშნება – პირველადი ლატენცია (რეგიონალური ინფექცია), გენერალიზაცია და განმეორებითი ლატენცია. (ჯ. ბაბაკიშვილი თანაავტ. 2005Წ).

2.3. ვეტერინარიასა და მედიცინაში ბრუცელოზის სეროლოგიური და გენეტიკური დიაგნოსტიკა

ინფექციურ დაავადებათა სადიაგნოსტიკოდ ვეტერინარულ პრაქტიკაში გამოიყენება მიკროსკოპული, ბაქტერიოლოგიური, ბიოქიმიური, სეროლოგიური მეთოდები. (Б. И. Антонов 1986., Н. Р. Ассонов 2002., Н. М. Колычев с соавт. 2003., J. B. Muma, et. al. 2007.) ეს უკანასკნელი დამყარებულია იმუნოლოგიურ რეაქციებზე. ამ მოვლენას საფუძვლად უდევს ანტიგენისა და სპეციფიკური ანტისხეულის შემცველი შრატის ურთიერთქმედება.

იმუნოლოგიური რეაქციები მაღალმგრძნობიარე და სპეციფიკურია. (Э. М. Плотникова 2001., Э.М. Плотникова с соавт. 2010.) სადიაგნოსტიკოდ გამოყენებულ სეროლოგიურ რეაქციაში ერთ-ერთი კომპონენტი უნდა იყოს ცნობილი. მისი სპეციფიურობა საშუალებას გვაძლევს დავადგინოთ მეორე – უცნობი კომპონენტის არსებობა.

იმუნოლოგიური რეაქციების მსვლელობაში განარჩევენ ორ ურთიერთდაკავშირებულ და თანამიმდევრულ ფაზებს: პირველ ფაზაში ანტისხეულები განიცდიან ადსორბციას ანტიგენზე. ეს ფაზა თვალით უხილავია, ვინაიდან მიმდინარეობს გარეგნულად შესამჩნევი ეფექტის გარეშე. მეორე ფაზა, რომელიც კოლოიდური პროცესის ანალოგია, ხასიათდება ანტიგენის ლიზისით, შეწებებით, დალექვით და სხვა, რაც შედეგს ხილულს ხდის.

სეროლოგიური რეაქციებით სპეციფიური ანტისხეულების აღმოჩენა გაცილებით ხელმისაწვდომია ვიდრე აღმძვრლის გამოყოფა. მთელ რიგ შემთხვევაში, დადებითი სეროლოგიური რეაქციები ცხოველთა ორგანიზმსა და შესაბამისი ინფექციის აღმძვრელის ურთიერთქმედების დადგენის უტყუარი საშუალებაა. სეროლოგიური რეაქციით

შესაძლებელია კლინიკურად მსგავსი ნიშნებით მიმდინარე ინფექციურ დაავადებათა დიფერენციაცია. (Х. Х. Абдулин 1980.,)

პრაქტიკაში, სეროლოგიური რეაქციები წარმატებით გამოიყენება ინფექციის აფეთქების და ინფექციური დაავადების წყაროს დასადგენად, ინფექციური დაავადების სადიაგნოსტიკოდ მოწოდებულია აგლუტინაციის (მოდიფიკაციებით), პრეციპიტაციის, კომპლემენტის ფიქსაციის, ნეიტრალიზაციის, და სხვა. (მ. ნათიძე თანაავტ. 2012წ., Р.А. Нуратинов, 1993.) რეაქციები.

აგლუტინაციის (რაიტის) რეაქცი (არ): იმუნური შრატით (მარილთა ხსნარების თანდასწრებით) მიკრობული ან სხვა წარმოშობის უჯრედის (ერითროციტები და სხვა) შეწებებას აგლუტინაცია ეწოდება.

ეს ტესტი პირველად იქნა შემოთავაზებული 1897 წელს რაიტისა და სემპლეს მიერ ადამიანებში მალტის ცხელების სადიადნოსტიკოდ.

1909 წელს ქრისტენსენმა და 1910 წელს ჰოლტმა ეს რეაქცია დადგეს მსხვლფეხა პირუტყვში ინფექციური აბორტის სადიაგნოსტიკოდ.

აგლუტინაციის რეაქცია გამოიყენება ბრუცელოზის, ბოტულიზმის, ცხენის ინფექციური აბორტის, სალმონელოზის და სხვა ინფექციური დაავადების სადაგნოსტიკოდ.

აგლუტინაციის რეაქციის დადებითი მხარეა ის რომ, ის იძლევა დადებით შედეგებს დაავადების ადრეულ სტადიაში, მაგრამ არის ისეთი შემთხვევებიც როდესაც აგლუტინაციის რეაქციის უარყოფითი შედეგი არ გამორიცხავს ინფექციის არსებობას. მეორე მხრივ მან შეიძლება მოგვცეს დადებითი შედეგი ისეთ ნახირში რომლებიც ითვლება ბრუცელოზზე კეთილსაიმედოდ. აგლუტინაციის რეაქციას დგამენ სხვადსახვა მეთოდით:

წვეთოვანი ანუ ფირფიტოვანი აგლუტინაცია, გამოიყენება ცხოველის სწრაფი გამოკვლევისათვის.

მიკროსკოპული აგლუტინაციის მოდიფიცირებული მეთოდი ფართოდ გამოიყენება ლეპტოსპიროზის სადიაგნოსტიკოდ.

სისხლწვეთოვანი აგლუტინაცია გამოიყენება პულოროზზე ფრინველის მასობრივი გამოკვლევისათვის.

მაკროსკოპული აგლუტინაცია ანუ მოცულობითი აგლუტინაცია: აგლუტინაციის რეაქციის მგრძნობელობის და სპეციფიკურობის გაზრდისათვის იხმარება ერთიანი მშრალი ბრუცელოზური ანტიგენი. (გამოიყენება აგლუტინაციის რეაქციასა და კომპლემენტის ფიქსაციის რეაქციაში). ამ მეთოდით ხდება ბრუცელოზის გამოკვლევა. (მ. თავამაიშვილი 1988წ.)

ხედლსონის აგლუტინაციის რეაქცია: წარმატებით გამოიყენება მედიცინაში. ხედლსონის რეაქცია ბრუცელოზის დიაგნოსტიკის სწრაფი, სპეციფიკური და მაღალმგრძნობიარე მეთოდია. (მ. ნათიძე თანაავტ. 2005წ., მ. ნათიძე, მ. სარჯველაძე 2006წ.) ადამიანებში ბრუცელოზის სადიაგნოსტიკოდ რეაქციის ორი ვარიანტი გამოიყენება, იდგმება მოცულობითი და მინაზე – სწრაფი მეთოდით. ამ უკანასკნელი მეთოდით რეაქციის დადგმა რეკომენდებულია მხოლოდ სტაციონარის პირობებში დონორების მასობრივი გამოკვლევის დროს. აგლუტინინების ტიტრის და მისი დინამიკის განსაზღვრისათვის აუცილებელია მოცულობითი მეთოდების გამოყენება.

არაპირდაპირი ჰემაგლუტინაციის რეაქცია: მაღალსპეციფიკური და მგრძნობიარეა. ეს რეაქცია ფართოდ გამოიყენება მთელი რიგი ინფექციური დაავადებების, მათ შორის ჯილეხის აღმძვრელის სპორო-

ვანი და ვეგეტატიური ფორმების, ბრუცელების აღმოსაჩენად და იდენტიფიკაციისათვის, აღნიშნული რეაქცია ფართედ გამოიყენება ვირუსულ დაავადებათა სადიაგნოსტიკოდ, მათ შორის თურქულის დროს. რეაქციაში ანტისხეულური ერითროციტული დიაგნოსტიკუმი გამოიყენება.

არაპირდაპირი ჰემაგლუტინაციის რეაქცია მგრძნობიარეა, მისი დახმარებით შეიძლება სისხლის შრატში უმცირესი რაოდენობის ანტისხეულების აღმოჩენა. რეაქციას საფუძვლად უდევს ერითროციტებზე ანტიგენის ადსორბცია და მათი შემდგომი ჰემაგლუტინაცია ანტიგენის ჰომოლოგიური ანტისხეულებით.

კომპლემენტის ფიქსაციის რეაქცია (კფრ). ეს არის რთული, მაღალმგრძნობიარე და სპეციფიკური სეროლოგიური რეაქცია, რომელიც დიდი ხანია გამოიყენება ცხოველთა ბრუცელოზის სადიაგნოსტიკოდ. (J. Huber et. al. 1986., S. Sutherlandat. et. al. 1986.) კომპლემენტის ფიქსაციის რეაქცია პირველად გამოყენებულ იყო 1909 წელს მსხვილფეხა პირუტყვის ინფექციური აბორტის დიაგნოსტირებისას. ის ბაქტერიოლიზური (ანტიგენი, გამოსაკვლევი შრატი, კომპლემენტი) და ჰემოლიზური (ცხვრის ერითროციტები და ჰემოლიზური შრატი) სისტემებისაგან შედგება. ეს რეაქცია საშუალებას იძლევა გამოავლინდეს ბრუცელოზის როგორც ადრეული ასევე ქრონიკული ფორმები. იგი უფრო სპეციფიური და მგრძნობიარეა ვიდრე აგლუტინაციის რეაქცია, მაგრამ უფრო რთულია და მისი გამოყენება საველე პირობებში შეუძლებელია. კომპლემენტის ფიქსაციის რეაქცია ვეტერინარულ პრაქტიკაში გამოიყენება ბრუცელოზის, მსხვილფეხა პირუტყვის პერიპნევმონიის, ტუბერკულოზის, ცხენის დაგრილების დაავადების, ქოთაოს,

თურქულის და სხვა ინფექციური დაავადებთა სადიაგნოსტიკოდ. (მ. ნათიძე, ტ. გაბისონია, ს. რიგვავა. 1996წ; მ. ნათიძე, ტ. გაბისონია, თ. ნათიძე, ს. რიგვავა. 2005წ.)

ზოგიერთი მეცნიერი ცდილობდა გაეზარდა კ.ფ.რ-იის მგრძნობელობა მსხვილფეხა პირუტყვის ბრუცელოზის დიაგნოსტირებისას, რაც ხელს შეუწყობდა უფრო სწრაფად გამოვლინებულიყო ნახირში დაავადებული პირუტყვი და შემცირებულიყო გამოჯანმრთელების პერიოდი არაკეთილსაიმედო მეურნეობებში. (Р.А. Нуратинов с соавт. 1993.)

კომპლემენტის ფიქსაციის რეაქციის პარალელურად წარმატებით გამოიყენება კომპლემენტის ფიქსაციის გახანგრძლივებული რეაქცია, რომელიც გამოირჩევა ზედმიწევნით მაღალმგრძნობელობით და სპეციფიურობით.

იმუნო-ფლუორესცენციის რეაქცია: გამოიყენება ინფექციური დაავადების ექსპრესდიაგნოსტიკისათვის მედიცინასა და ვეტერინარიაში.

ეს მეთოდი დამყარებულია ზოგიერთი ორგანული და არაორგანული ნივთიერების ნათების თვისებაზე, ულტრაიისფერი სხივებით ზემოქმედების შედეგად. იმუნოფლურესცენციის მეთოდი სწრაფი და ხშირ შემთხვევაში სპეციფიკურია. მისი დახმარებით შესაძლებელია ერთეული მიკრობის და ვირუსის აღმოჩენა. (Х. Х. Абдулин. 1980.)

იმუნოფლურესცენცია წარმატებით გამოიყენება ცოფის, ჯილეხის, სალმონელოზის, წითელი ქარის, ბრუცელოზის, ყვავილის, ღორის ჭირის და სხვა ინფექციურ დაავადებათა სადიაგნოსტიკოდ. (მ. ნათიძე

1989წ.)

ბრუცელოზი კაცობრიობისათვის ერთ-ერთ ძირითად პრობლემად რჩება. დაავადების ფარული მიმდინარეობა ართულებს დადებითად მორეაგირე ცხოველების გამოვლინებას. ავადმყოფი-ბაქტერიამტარებელი ცხოველი წარმოადგენს აღმძვრელის ძირითად რეზერვუარს, რაც ქმნის ჯანმრთელ ცხოველსა და ადამიანებში ინფექ-ციის გავრცელების საშიშროებას.

ცხოველთა ბრუცელოზის დიაგნოსტიკა, განსაკუთრებით ადრეული, ინფექციის პროფილაქტიკის საფუძველთა-საფუძველია. ბრუცელოზით დაავადებული ცხოველების დროული გამოვლინება რთულია, ვინაიდან ორგანიზმში დაინფიცირების მომენტიდან და სისხლში სპეციფიკური ანტისხეულების გამოვლინებამდე გადის დიდი დრო. აღსანიშნავია ის გარემოებაც, რომ ანტისხეულების გამომუშავება და გადასვლა სისხლის მიმოქცევის სისტემაში არ ხდება, კონკრეტული და ზუსტად დადგენილი პერიოდის გავლის შემდეგ. ამ პერიოდებს შორის ინტერვალი ძალიან დიდია და დამოკიდებულია მრავალ ფაქტორზე: მიკრობის დოზაზე, მისი პათოგენობის ხარისხზე, ანუ ვირულენტობაზე, ცხოველის ორგანიზმის ინდივიდუალურ მრძნობელობაზე, საერთო ფიზიოლოგიურ მდგობარეობაზე, ზოგად რეზისტენტობაზე და სხვა. ზოგიერთი ცხოველი სეროლოგიური ტესტებით გამოკვლევისას, დაიფიცირებიდან უკვე მეშვიდე დღეზე იძლევა დადებით რეაქციას. ხშირია შემთხვევები, როცა ანტისხეულების დიაგნოსტირება, რიგი ცხოველების ორგანიზმში აღმძვრელის მოხვედრიდან, მხოლოდ რამდენიმე თვის შემდეგ ხდება შესაძლებელი.

ბრუცელოზის დროს, სისხლის შრატში სპეციფიკური ანტისხეულების

გამოჩენა ხდება ორგანიზმში აღმძვრელის შეჭრიდან მხოლოდ გარკვეული დროის შემდეგ და შენარჩუნდებიან ხანგრძლივი დროის განმავლობაში. მსხვილფეხა პირუტყვში აგლუტინინები გამოვლინდება ცხოველის დაინფიცირებიდან 5-10 დღის შემდეგ. აგლუტინინების დაგროვების ინტენსივობა, მათი ტიტრის დონე ინფექციის განვითარების პროცესში მერყეობს ძალიან მაღალი განზავებიდან სრულ გაქრობამდე. რიგი ავტორებისა თვლის, რომ აგლუტინინების დაგროვება ორგანიზმში დაკავშირებულია და ემთხვევა ინფექციის აღძვრის პროცესს და აქედან გამომდინარე მიკრობების ინტენსიურად გამოყოფას გარემოში. საყურადღებოა შემდეგი გარემოებაც: აგლუტინაციის რეაქციის „გამოვარდნა” (გაქრობა) შეიძლება მოხდეს ბრუცელოზური პროცესის გამწვავების შემთხვევაში. ასე მაგალითად აღწერილია ბრუცელოზური აბორტების შემთხვევები მსხვილფეხა პირუტყვში უარყოფითი აგლუტინაციის რეაქციის დროს.

ცხოველის სიცოცხლეში ბრუცელოზის დიაგნოსტიკა სეროლოგიური რეაქციებით ხორციელდება. (Р. А. Нуратинов, с соавт. 1993) მათი საშუალებით შესაძლებელია დადგინდეს ადამიანისა და ცხოველის ორგანიზმების პათოგენთან კონტაქტი და დაისვას დიაგნოზი;

დღეისათვის ბრუცელოზის სეროლოგიური დიაგნოსტიკისათვის ვეტერინარულ პრაქტიკაში დანერგილია როზ-ბენგალ სინჯი, როზ-ბენგალ ტესტით დადებითი და საეჭვო სისხლის შრატები დადასტურებას საჭიროებს სეროლოგიური კვლევის თანამედროვე მეთოდით იმუნოფერმენტული ანალიზით. (D. Rylatt, et. al. 1985., О. Д. Скляров., 2005., М. М. Желудков с соавт. 2003.).

როზ-ბენგალის რეაქცია (რბრ): ანუ აგლუტინაციის რეაქცია შრატში

ბენგალის ვარდისფერი ანტიგენის გამოყენებით, ეს არის სწრაფი რეაქცია, რომელიც შემუშავებული იქნა ამერიკელი მეცნიერების მიერ. (W. Morganat. et. al. 1969., J. Huber et. al. 1986.) ანტიგენი წარმოადგენს 8%-იან *B. abortus* შტამი 19-ის მოკლული უჯრედების სუსპენზიას, ბუფერულ ხსნარში. ხსნარის pH=3,65-ია (მჟავე არე), რომელიც შეღებილია ბენგალის ვარდისფერით. დღეისათვის ეს რეაქცია ფართოდ გამოიყენება მსოფლიოს ბევრ ქვეყანაში (საფრანდეთი, გერმანია, აშშ, ინგლისი და სხვა). (M J. Corbel 1972). მას ახასიათებს განსაკუთრებულად მაღალი სპეციფიკურობა. (M. M. Иванов с соавт.1976.) რეაქციის დადგმის ტექნიკა საკმაოდ მარტივია და შეიძლება ჩატარდეს ნებისმიერ პირობებში. (მ. ნათიძე თანაავტ. 2005წ., W. Morgan, et. al. 1969., В. Б. Бельченко, С. Е. Сайдашева 1980.)

როზ-ბენგალ ტესტით ხდება *B. abortus* სპეციფიური ანტისხეულების აღმოჩენა ადამიანის, შინაურ და გარეულ ცხოველებში. ცნობილია, რომ ამ სკრინინგ-ტესტს აქვს 63 – 97% მგრძნობელობა და 70 – 99% სპეციფიკურობა.

როზ-ბენგალ ტესტი საშუალებას იძლევა დადგინდეს ბრუცელების სახეობების O-პოლისაქარიდების (OPS) მიმართ აგლუტინირებადი ანტისხეულები. აღნიშნული მიკროორგანიზმი ზრდისათვის საჭიროებს სპეციალურ გარემოს; ასეთი გარემო ადამიანები და ცხოველებია, რომლებიც ინფიცირებული არიან ბრუცელებით. (*B. abortus, B. melitensis, B. suis)*. დაინფიცირებული ადამიანისა და ცხოველის ორგანიზმში ბრუცელები ინდუცირებენ აგლუტინინების გამომუშავებას. სისხლის OPS-სპეციფიური ანტისხეულები ჯვარედინად ემაგრებიან როზ-ბენგა-

ლის ანტიგენს და იწვევენ მიკროსკოპულ აგლუტინაციას.

კონკურენტული ენზიმური იმუნოფერმენტული ანალიზი: ბრუცელოზის ადრეული და ზუსტი დიაგნოსტირება, წარმატებული მკუნალობისა და პროფილაქტიკის საწინდარია. ერთ-ერთი ასეთი სეროლოგიური მეთოდია იმუნოფერმენტული ანალიზი, რომელიც მაღალმგრძნობიარე და სპეციფიკურია. ეს მეთოდი წარმატებით გამოიყენება მედიცინასა ვეტერინარიაში. (А. Я. Самуйленко, 2001.,). სხვა მსგავს მეთოდებთან შედარებით, როგორიცაა იმუნოფლუორესცენტული ანალიზი, რომლის შედეგის შეფასებაც ხდება სუბიექტურად, ხოლო რადიომუნოლოგიური მეთოდის გამოყენებისას კი იყენებენ მოკლე პერიოდის ნახევრადგახლეჩვად იზოტოპებს, რომლებიც პოტენციურად საშიშია ადამიანისათვის, იმუნოფერმენტულ ანალიზს ეს უარყოფითი მხარეები არა აქვს, ამიტომ მისი გამოყენება ოპტიმალურია. (Л. А. Тарасишин 1986., М. М. Желудков с соавт. 2003.)

იმუნოფერმენტული ანალიზი ფართოდ გამოიყენება პრაქტიკულად ყველა ვირუსული და ბაქტერიული დაავადებების სადიაგოსტიკოდ, ასევე გამოიყენება პარაზიტული, სოკოვანი, ონკოლოგიური დაავადებების გამოსაკვლევად. (К. В. Шумилов с соавт. 2001., М. В. Баландина с соавт. 2004., А. И. Федоров с соавт. 2007.)

ჯანდაცვის საერთაშორისო ორგანიზაციის მიერ, იმუნოფერმენტული ანალიზი ჩართულია, როგორც აუცილებელი ექსპრეს-დიაგნოსტიკის ტესტი, როგორც ეპიზოოტოლოგიური ასევე ლაბორატორიულ კვლევაში. (М. М. Желудков с соавт. 1989., Д. А. Девришев с соавт. 2007.)

ცნობილია იმუნოფერმენტული ანალიზის რამდენიმე მეთოდი: პირდაპირი, არაპირდაპირი, „სენდვიჩის“ ტიპის, მაბლოკირებელი და

კონკურენტული. ყველაზე მეტად გამოიყენება კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზი.

თანამედროვე ვეტერინარულ პრაქტიკაში ბრუცელოზის სადიაგნოსტიკოდ წარმატებით გამოიყენება კონკურენტული იმუნოფერმენული ანალიზი, (C-ELISA) *Brucella abortus* და *melitensis*-ის საწინააღმდეგო ანტისხეულების აღმოსაჩენად შინაურ და გარეულ ცხოველებში. (E. Engvall, P. Perlman 1997., J. W. Byrd, et. al. 1979., D. Gall, K. Nielsen 1994., L. Samartinoet et. al. 1999., J. Paweskaet. et. al. 2002., K. Nielsenet et. al. 2008.) მსხვილფეხა პირუტყვში ამ ანალიზის საშუალებით შესაძლებელია, ერთმანეთისაგან გავარჩიოთ *Brucella*-თი ინფიცირებული ცხოველები, შტამი 19-ით ვაქცინირებული ცხოველები და ჯვარედინად მორეაგირე გრამუარყოფითი ბაქტერიებით ინფიცირებული ცხოველები. (C. Robleset. et. al. 2009.)

რძის რგოლური რეაქცია: ვეტერინარიაში ბრუცელოზის სადიაგნოსტიკოდ აპრობირებული და ფართედ გამოყენებულია ფურების რძის გამოკვლევა რგოლური რეაქციით. აღნიშნული რეაქცია შემოთავაზებულია 1937 წელს. რგოლური რეაქციის დასადგმელად შემუშავებულია ფერადი ანტიგენი. (П. А. Триленко, 1954., Ф. С. Логинов, 1956., WJ. McCaughey 1972., J. Huberat. et. al. 1986., L. Sutraet. et. al. 1986.)

რეაქციის არსი იმაში მდგომარეობს, რომ რძეში სპეციფიკური აგლუ-

ტინინების არსებობისას ხდება შეღებილი ანტიგენის შეჯგუფება რაც წარმოქმნის აგლუტინატს, ეს უკანასკნელი ადსორბირდება ნაღებთან (რძის ცხიმის ბურთულაკებთან), მათთან ერთად სინჯარაში ამოტივტივდება სითხის (რძისა და ანტიგენის ნარევის) ზედაპირზე

სადაც წარმოქმნის ფერად რგოლს. რძის დანარჩენი მასა უფერულდება. უარყოფითი რეაქციის შემთხვევაში ცხიმი (ნაღები) ფერს არ იცვლის და რძე რჩება თანაბრად შეფერადებულ მდგომარეობაში.

რეაქციის დასადგმელად გამოიყენება ბიოფაბრიკაში სპეციალურად დამზადებული ანტიგენი, რომელიც ბრუცელების სტანდარტული შენაწონია. ანტიგენი ჰემატოქსილინით ლურჯ ან ტრიფენოლ-ტეტრაზოლით ან დიფენილ-ტეტრაზოლით მუქ-წითელ ფერში შეღებილი სუსპენზიაა. ანტიგენი მზადდება *B. abortus* კულტურიდან, რომელიც ჩამოსხმულია ფლაკონებში. (О. И. Морякова, 1961). ანტიგენის შენახვისას წარმოიქმნება ნალექი. ხმარების წინ შენჯღრევისას ის ადვილად გადადის ჰომოგენურ მასაში.

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია: პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია ახალი მძლავრი მეთოდია, რომელიც საშუალებას იძლევა დ.ნ.მ-ის ერთი ასლისაგან უსაზღვრო რაოდენობის დ.ნ.მ-ის ასლების წარმოქმნას. (M. Da Costa et. al. 1996.) იდეა ეკუთვნის კარი მულისს 1980 წელს და მას უწოდა „პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია“ (PCR). ანუ ენზიმური ამპლიფიკაციის რეაქცია in vitro. (K. B. Mullis, et. al. 1986.) ამ მეთოდმა რევოლუცია მოახდინა გენეტიკურ კვლევებში, მათ შორის გენეტიკური დაავადებების დიაგნოსტიკაში, სასამართლო მედიცინაში და მოლეკულური ბიოლოგიის ევოლუციაში. (M. Clementietal. 1993., И. Г. Дубинина, 1998., С.В. Дентовская с соавт. 1999.)

უჯრედის დაშლისას, დნმ-ის რეპლიკაცია მოიცავს ფერმენტებით განპირობებულ რეაქციებს, რომლის საბოლოო შედეგს წარმოადგენს მთელი გენომის ზუსტი ასლის შექმნა. ფერმენტები თავდაპირველად

შლიან დნმ-ის ორმაგ ჯაჭვს ერთმაგ ჯაჭვებად. შემდეგ რეპლიკაციის დასაწყისში, რნმ პოლიმერაზა ასინთეზირებს მოკლე რნმ. ჯაჭვს, რომელიც კომპლემენტური იქნება დნმ-ის ერთ-ერთი ჯაჭვისა. ეს დნმ-რნმ ჰეტეროდუპლექსი მოქმედებს, როგორც დნმ პოლიმერაზას მიმაგრების „პრაიმინგის“ ადგილი, რომელიც შემდეგში ასინთეზირებს დნმ კომპლემენტურ ჯაჭვებს.

1990 წელს დ. ფეკეთმა (D. Fekete) მოახდინა *Brucella*-ას დეტექცია პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით. (A. Fekete et. al. 1990.)

ბრუცელების ინდიკაცია და იდენტიფიკაცია საკმაოდ შრომატევადია, ითხოვს მატერიალურ დანახარჯებს და დროს.

ბოლო ათწლეულია, რაც ბრუცელოზის სადიაგნოსტიკოდ აქტიურად გამოიყენება მოლეკულურ-ბიოლოგიური კვლევის აღნიშნული მეთოდი. (С. В. Балахонов с соавт. 1996., О. Д. Скляров с соавт. 2005.)

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით შესაძლებელია *Brucella*-ას სახეობების ბიოტიპებისა და შტამების სწრაფი იდენტიფიკაცია და დიფერენცირება. (Ю. К. Кулаков с соавт. 2006., М. М. Желудков с соавт. 2007., B. J. Bricker 2002.,) პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია გამოყენება ბრცელოზის სადიაგნოსტიკოდ და უფრო მგრძნობიარეა სეროლოგიურ ტესტებთან შედარებით. იგი იძლევა *Brucella*–ის ადრეული დიაგნოსტიკის საშუალებას, კერძოდ, ინფიცირებიდან დაახლოებით, ათი დღის შემდეგ. პოლიმერაზულ ჯაჭვურ რეაქციაზე დამყარებული მეთოდი ასვე საიმედო აღმოჩნდა *Brucella*-ის დეტექციისათვის სხვადასხვა ნიმუშში, მათ შორის ძროხის სისხლში და რძეში, ბუნებრივად ინფიცირებული ძროხის ორგანოებში, კულტურაში და

სხვა კლინიკურ მასალაში, (C. Romero, et. al. 1995., А. Г. Яковлев с соавт. 2002.). იგი საშუალებას იძლევა ერთი სამუშაო დღის განმავლობაში დაადგინოს ბრუცელას არსებობა უმნიშვნელოდ კონტამინირებულ ნებისმიერი სახის ნიმუშში. (К. В. Шумилов с соавт. 1996., И. Н.Шарова 2001., О. Д. Скляров с соавт. 2004.).

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის მეთოდის მეშვეობით თეორიულად შესაძლებელია, საკვლევ მასალაში აღმოვაჩინოთ დნმ-ს ანუ გენეტიკური მასალის ერთი ასლი ანუ მეთოდის მგრძნობელობას ზღვარი არ აქვს. პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის ერთ-ერთი უპირატესობაა აბსოლუტური მგრძნობელობის პარალელურად სპეციფიკურობა. (D. S. Leal-Klevezas et. al. 1995., С. Б. Гаранина 1996., М. М. Желудков с соавт. 2005.) გამოკვლევის სწორად ჩატარების შემთხვევაში ცრუ დადებითი შედეგის მიღება გამორიცხულია. პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია არ ცვლის კვლევის ტრადიციულ მორფოლოგიურ, ბიოქიმიურ ან იმუნურ მეთოდებს, ის კვლევის აუცილებელ დამატებით მეთოდს წარმოადგენს.

AMOS PCR საშუალებას იძლევა მოვახდინოთ ბრუცელას ოთხი სახეობის (A-abortus, M-melitensis, O-ovis, S-suis.) დიფერენციაცია. (B. J. Bricker, S. M. Halling 1994; B. J. Bricker. 2003.)

3. საკუთარი გამოკვლევები

3.1. გამოკვლევის მასალა და მეთოდები

თემით გათვალისწინებული სამუშაო შესრულებულია 2008–2011წ.წ.ში. კვლევა მიმდინარეობდა სოფლის მეურნეობის სამინისტროს ლაბორატორიაში, შ.პ.ს. „იმუნოგენში".

ცდების მსვლელობის პროცესში გამოკვლევას დავუქვემდებარეთ: 2008-2011 წ.წ.-ში მსხვილფეხა პირუტყვის 15175 სისხლის შრატი, 97 რძის ნიმუში. პარალელურად 2010-2011 წ.წ. პერიოდში მიმდინარეობდა მუშაობა მსხვილფეხა პირუტყვის ბრუცელოზის აღმძვრელის ტიპირებაზე, ამ მიზნით გამოვიკვლიეთ სოფლის მეურნეობის სამინისტროს ლაბორატორიაში, საქართველოს სამი რეგიონიდან (ქვემო ქართლი, კახეთი და იმერეთი) შემოსული 1253 სისხლის 577 რძის ნიმუში და 5 მოგდებული ნაყოფი, აგრეთვე 53 შრატის ნიმუში. სულ გამოვიკვლიეთ 15228 სისხლის შრატი, 1253 ნატივური სისხლი, 697 რძე და 5 მოგდებული ნაყოფი. (ცხრილი 2); გამოკვლევათა პროცესში გამოვყავით და სრულ ბაქტერიულ ანალიზს დავუქვემდებარეთ *B. abortus* 20 კულტურა.

გამოკვლევა მიმდინარეობდა ჯანდაცვის საერთაშორისო ორგანიზაციის (WHO) და ცხოველთა ჯანმრთელობის მსოფლიო ორგანიზაციის (OIE), მიერ დადგენილი დიაგნოსტიკური ტესტებით, რომლებიც გამოიყენება როგორც ეპიზოოტოლოგიური ასევე ლაბორატორიული კვლევისათვის.

ცხრილი. 1

ბრუცელოზზე გამოკვლეული პათ. მასალის ჩამონათვალი და რაოდენობა

№	წელი	სისხლის შრატი	ნატივური სისხლი	რძის ნიმუშები	მოგდებული ნაყოფი
1.	2008	3082	280	106	–
2.	2009	6740	335	162	1
3.	2010	3654	450	237	2
4.	2011	1752	188	192	2
5.	სულ	15228	1253	697	5

2008 წელს შემოვიდა და გამოკვლეულ იქნა 3082 მსხვილფეხა პირუტყვის სისხლის შრატი, 280 ნატივური სისხლი და ფურების 106 რძე.

2009 წელს გამოკვლევებს დავუქვემდებარეთ მსხვილფეხა პირუტყვის 6740 სისხლის შრატი, 335 ნატივური სისხლი, ფურების 162 რძის ნიმუში და 1 მოგდებული ნაყოფი.

2010 წელს გამოკვლევები ჩატარდა მსხვილფეხა პირუტყვის 3654 სისხლის შრატზე, 455 ნატივურ სისხლზე, 237 რძესა და 2 მოგდებულ ნაყოფზე.

2011 წელს გამოკვლევები მოიცავდა ლაბორატორიაში შემოსულ 1752 სისხლის შრატს, 188 ნატივურ სისხლს, ფურების 192 რძის ნიმუშს და 2 მოგდებულ ნაყოფს.

გამოკვლევებისათვის ვიყენებდით ბაქტერიოლოგიური და იმუნოლოგიური კვლევის კლასიკურ და თანამედროვე მეთოდებს.

მიკრობთა კულტურები: კვლევისათვის გამოყენებულ იქნა ჩვენს მიერ ცდების პროცესში გამოყოფილი და ტიპირებული *B. abortus* 20 კულტურა. ამ მიზნით შევისწავლეთ მათი მორფოლოგიურ-კულტურალური და ზოგიერთი ბიოქიმიური თვისებები.

ბიოქიმიური აქტივობა: ბრუცელების ბიოქიმიური თვისებების დადგენა მოიცავდა:

1) ოქსიდაზას ტესტს.

2) ურეაზას ტესტს.

3) კატალაზას ტესტს.

4) გოგირდწყალბადის (H_2S) წარმოქმნას.

5) სამშაქრიანი რკინის (TSI) მეტაბოლიზმს.

ბრუცელას სახეობების მგრძნობელობა საღებავების მიმართ:

ამისათვის ცდების პროცეში ჩვენს მიერ გამოყენებული იქნა ფუძე ფუქსინი და თიონინი.

ბაქტერიოლოგიური კვლევა: ბრუცელას კულტურის გამოყოფა ითვლება ბრუცელოზის დიაგნოსტირების „ოქროს სტანდარტად“.

ბრუცელების გამოყოფა და იდენტიფიკაციას ვახდენდით ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევის შემდეგი მეთოდებით:

ხელოვნურ საკვებ არეებზე ზრდა: ბრუცელების გამოსაყოფად ცდებში გამოვიყენეთ ხელოვნური საკვები ნიადაგები: მათ შორის ამჟამად მოწოდებული და დანერგილი საკვები არეები:

ა) 5%-იანი სისხლიანი აგარი

ბ) ბრუცელას სელექტიური (ფარელი) აგარი ბრუცელას დანამატით.

ბრუცელას სელექტიური (ფარელი) (გ/ლ)

ხარის გულის ინფუზია ----------500 გ.

ტრიპტოზა ----------10.გ

სოდიუმის ქლორიდი ----------5.გ

ბაქტერიოლოგიური აგარი ---------15.გ

ჟელატინი ----------1.გ

გლუკოზა ----------2.5გ

OXOID-ის ბრუცელას სელექტიური დანამატი SR 0083 ფორმულა:

ნისტატინი ---------5000 ერთეული

ბაციტრაცინი ---------12500 ერთეული

პოლიმიქსინი B---------2500 ერთეული

ციკლოჰექსიმიდი---------10 მგ.

ნალიდიქსის მჟავა-------2.5 მგ.

მიკროსკოპული გამოკვლევა: მოიცავდა ჩვენს მიერ გამოყოფილი ბრუცელას კულტურიდან დამზადებული ნაცხის შეღებვას გრამის და კოზლოვსკის მეთოდით.

ფაგოიდენტიფიკაცია: *B. abortus*-ის ტიპირებისათვის ჩვენს მიერ გამოყენებული იყო Tb ფაგი.

B. abortus-ის კულტურის გამოზრდას ვახდენდით, ანაეროსტატში 10-15% CO_2-ის შემცველობის პირობებში *B. abortus* მიკროაეროფილური თვისების გათვალისწინებით.

შრატში აგლუტინაციისა და აკრიფლავინის ტესტი: ბრუცელას კულ-

ტურის ხორკლიანობის და სიგლუვის განსაზღვრისათვის, გამოვიყენეთ აგლუტინაციისა აკრიფლავინის ტესტები.

სეროლოგიური კვლევა: კვლევის პროცეში ბრუცელოზზე სისხლის შრატები გამოვიკვლიეთ როზ-ბენგალ ტესტით, დადებითი და საეჭვო შედეგების დადასტურება მოვახდინეთ კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზით.

რძის რგოლური რეაქცია: ფურების რძის ნიმუშები გამოვიკვლიეთ რძის რგოლური რეაქციით.

გენეტიკური კვლევა: პოლიმერაზური ჯაჭვური რეაქციით გამოვიკვლიეთ *B. abortus* კულტურები და სისხლის შრატები.

ცდების პროცსში გამოყენებული დიაგნოსტიკუმები:

1) შრატების როზ-ბენგალ ანალიზისათვის დიაგნოსტიკუმად ვიყენებდით, ვეტერინარული დანიშნულების, უკრაინული წარმოების, ბრუცელოზურ ფერად, კომერციულ ანტიგენს როზ-ბენგალ ტესტისათვის. ს-№1, კ-№1 07.11.11წ.

2) კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზისათვის ცდების დადგმის პროცესში გამოვიყენეთ, ვეტერინარული დანიშნულების, შვედური წარმოების, სვანოვას ფირმის დიაგნოსტიკუმი, P06206, 04.09.11წ.

3) ფურების რძის ნიმუშების გამოკვლევა ხდებოდა რძის რგოლური რეაქციით. დიაგნოსტიკუმად გამოყენებულ იქნა უკრაინული წარმოების, ბრუცელოზური ანტიგენი, რომელიც განკუთვნილია ვეტერინარული მიზნებისათვის. ს-№2, კ-№2 23.12.11.წ

4) ცდების პროცეში პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით ბრუცელას დეტექციისათვის გამოყენებულ იქნა, ამერიკული წარმოების, ქაიჯენის მინი კიტი. (QIA gen Mini kit). ლოტ № 496811, 25.05.2012წ.

3.2. საქართველოში 2005-2011წ.წ. მსხვილფეხა პირუტყვის ბრუცელოზით დაავადების დინამიკა

მსხვილფეხა პირუტყვის ბრუცელოზი გავრცელებულია საქართველოს მთელს ტერიტორიაზე მეტნაკლები ინტენსიობით. უფრო მეტადაა დაინფიცირებული აღმოსავლეთ საქართველოს მეცხოველეობის ფერმებისა და მოსახლეობის კერძო მფლობელობაში მყოფი პირუტყვის სულადობა. დასავლეთ საქართველოში ეს ინფექცია ვერ პოულობს მასიურ გავრცელებას, ვინაიდან მეცხოველეობა ძირითადად დამხმარე დარგად არის წარმოდგენილი, დაბალია ცხოველთა კონცენტრაცია, რაც ამცირებს მათი ურთიერთდაინფიცირების რისკს.

აღმოსავლეთ საქართველოში ეპიზოოტიური სიტუაციის სირთულეს სხვა მიზეზებთან ერთად მნიშვნელოვან წილად განაპირობებს ცხოველთა მომთაბარეობა სეზონურ საძოვრებზე, გადასარეკ ტრასებზე, დასაწყურვებელ ადგილებში, უშუალოდ საძოვრებზე, რომლებიც არ არის მკაცრად იზოლირებული ერთმანეთისაგან. კეთილმოუწყობელ ცხოველთა საზაფხულო სადგომებში ხშირია კონტაქტი ბრუცელოზზე არაკეთილსაიმედო ცხოველების აგრეთვე გაურკვეველი ეპიზოოტიური სიტუაციის მქონე ჯგუფის ცხოველებისა.

საქართველოში დღეს-დღეობით დაბალ დონეზე რჩება ბრუცელოზის საწინააღმდეგო სისტემატიური, მიზანმიმართული და ქმედითი ღონისძიებების გატარება. დროულად არ ხდება დაავადებული ცხოველების გამოვლინება და იზოლირება, რაც წარმოშობს ბრუცელოზის გავრცელების საშიშროებას ცხოველებში და ადამიანებში.

ამ მიზნით გავაანალიზეთ 2005-2011წ.წ. სტატისტიკური მასალა და გამოკვლევებს დაუქვემდებარეთ საქართველოს რეგიონებში მოსახლეობის კერძო საკუთრებაში არსებული მსხვილფეხა პირუტყვის 375426 სისხლის შრატი და 2191 ფურის რძე.

მათ შორის აღმოსავლეთ საქართველოში (მათ შორის თბილისი), 275599 მსხვილფეხა პირუტყვის სისხლის შრატი. დასავლეთ საქართველოში 99827 სისხლის შრატი.

სტატისტიკური მასალის გაანალიზებამ გვიჩვენა (ცხრილი 3) საქართველოს რეგიონებში (მათ შორის თბილისშიც), როზ-ბენგალ სინჯით 2005 წელს გამოვლინდა 353 დაავადებული მსხვილფეხა პირუტყვი, რაც შეადგენს 0,67%-ს, 2006 წელს 427 (1,08%), 2007 წელს 2054 (3,61%), 2008 წელს 1271 (3,61%), 2009 წელს 2474 (4,82%), 2010 წელს 2247 (1,95%), 2011 წელს 667 (3,78%).

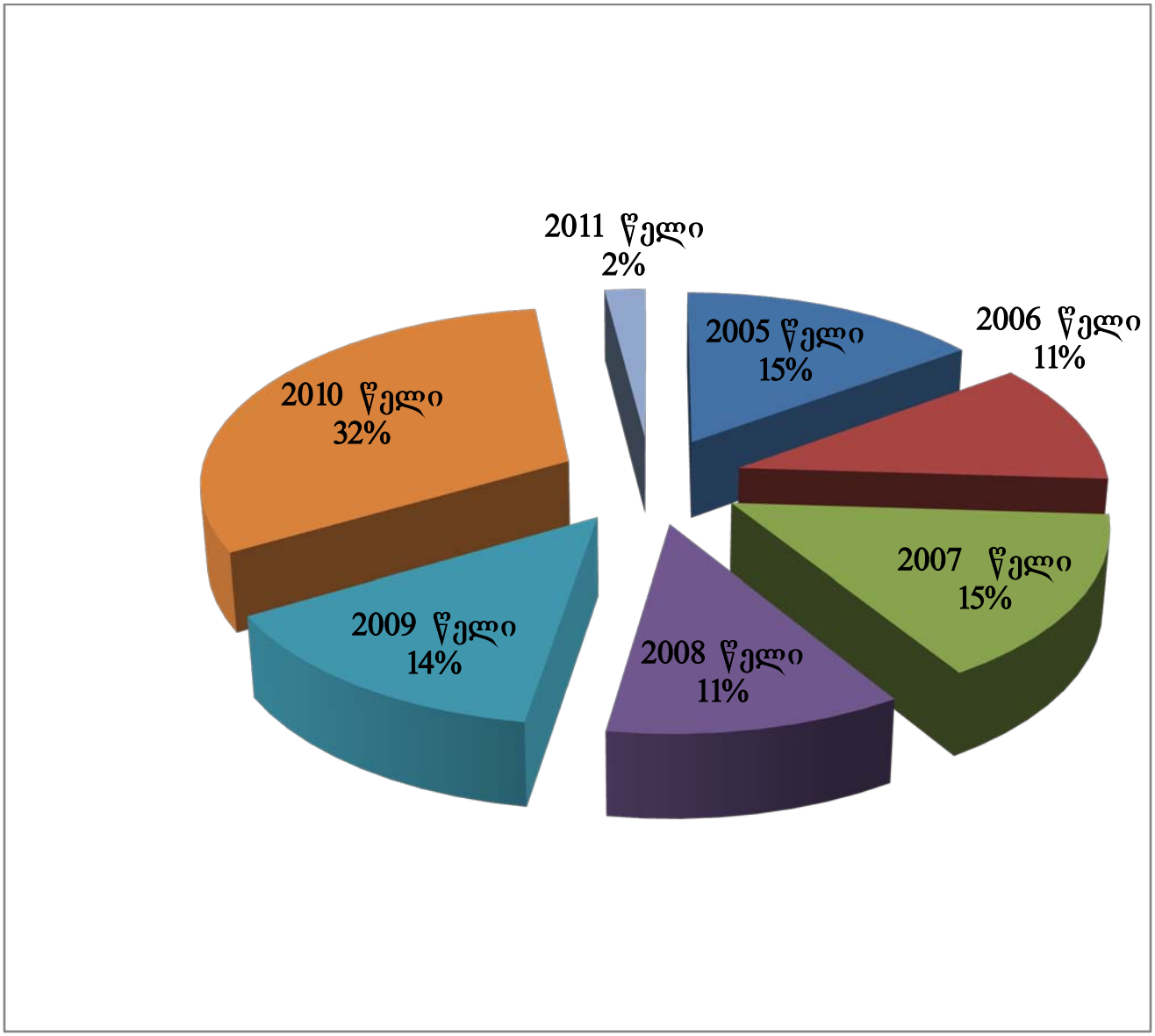
ცხრილი 3.

საქართველოში 2005-2011წ.წ. მსხვილფეხა პირუტყვის ბრუცელოზით დაავადების დინამიკა

წლები	გამოკვლეული მ.რ.პ-ის სულადობა	ჯანმრთელი ცხოველების სულადობა	დაავადებული ცხოველების სულადობა	დაავადებული ცხოველები (%)
2005	53660	53307	353	0.67
2006	39852	39425	427	1.08
2007	56943	54889	2054	3.61
2008	40179	38908	1271	3.17
2009	51417	48943	2474	4.82
2010	115703	113456	2247	1.95
2011	17672	17005	667	3.78
სულ	**375426**	**355897**	**9493**	**2,53%**

დიაგრამა 1

საქართველოში 2005-2011წ.წ. მსხვილფეხა პირუტყვის ბრუცელოზით დაავადების დინამიკა



მსხვილფეხა პირუტყვის ბრუცელოზით დაავადების შედარებით მაღალი ინტენსივობა აღინიშნა 2007, 2008, 2009 და 2010 წლებში. (დიაგრამა 1).

2005-2011წ.წ.-ს მონაცემებით რეგიონების მიხედვით ბრუცელოზის გავრცელების მაჩვენებელი შემდეგი სახით არის წარმოდგენილი. (დიაგრამა 2.)

კახეთის რეგიონში 2005-2011წ.წ.-ში როზ-ბენგალ სინჯით გამოკვლეული იქნა მსხვილფეხა პირუტყვის 48447 სისხლის შრატი, მათ შორის დადებითი იყო-2127.

ამავე პერიოდში ქვემო ქართლში გამოკვლეულ იქნა 104919 მსხვილფეხა პირუტყვის სისხლის შრატი დადებითი აღმოჩნდა –1771.

შიდა ქართლის რეგიონში გამოკვლეული 13992 შრატის ნიმუშიდან, დადებით იყო – 230.

მცხეთა-მთიანეთში გამოკვლეული 16258 მსხვილფეხა პირუტყვის შრატიდან დადებითი აღმოჩნდა 603.

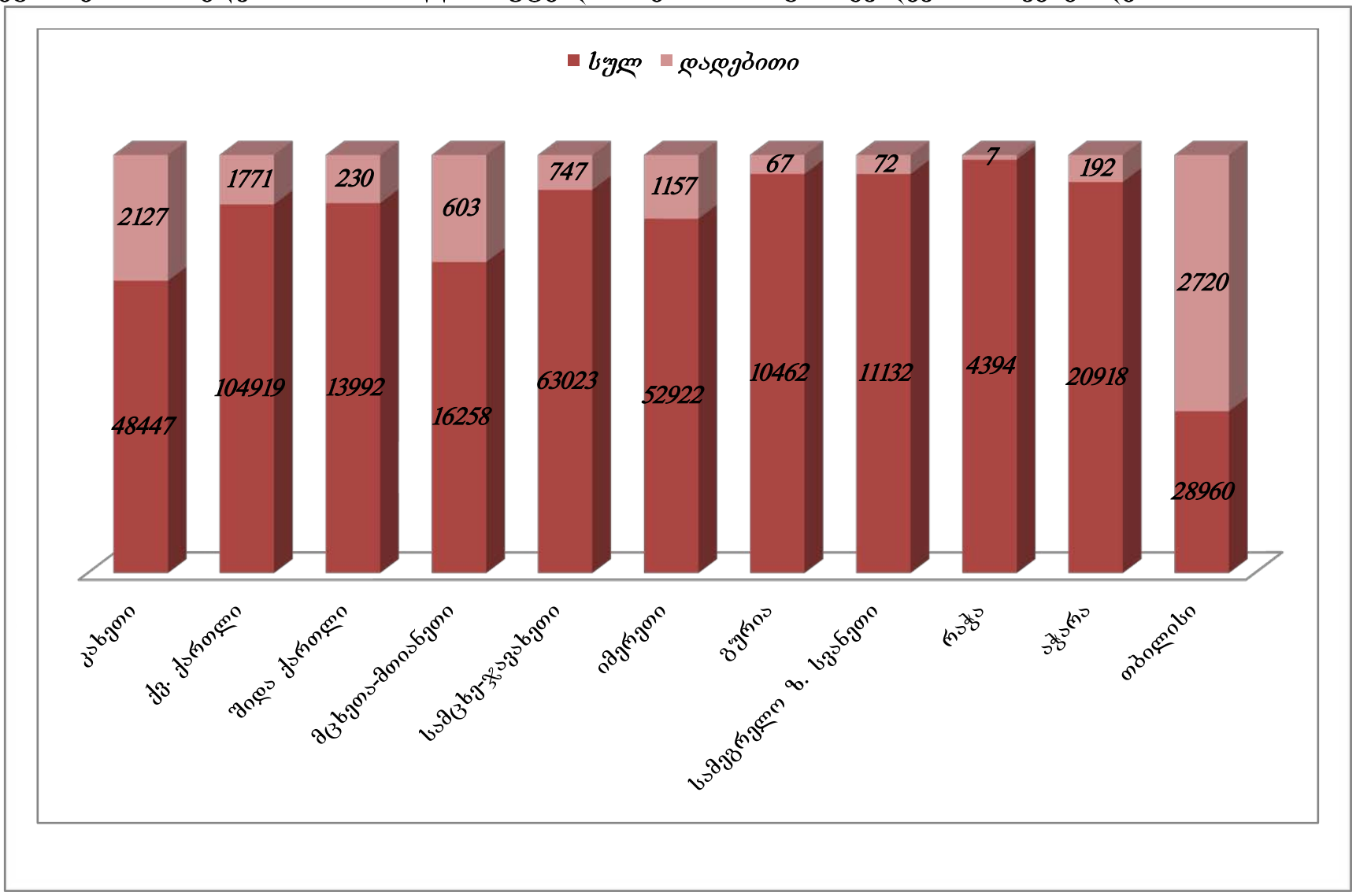
სამცხე-ჯავახეთში მსხვილფეხა პირუტყვის 63023 ნიმუშის გამოკვლევისას დადებით იყო 747 სისხლი შრატი.

იმერეთის რეგიონში 2005-2011წ.წ-ში 52922 მსხვილფეხა პირუტყვის შრატის როზ-ბენგალ სინჯით გამოკვლევის შედეგად მიღებულ იქნა 1157 დადებითი ნიმუში.

რაც შეეხება დასავლეთ საქართველოს დანარჩენ რეგიონებს მსხვილფეხა პირუტყვის სისხლის შრატების როზ-ბენგალ სინჯით გამოკვლევის შედეგად დადებითი შედეგები შედარებით მცირე აღმოჩნდა (გამონაკლისია იმერეთი) ვიდრე აღმოსავლეთ საქართველოს რეგიონებში, კერძოდ: გურიის რეგიონში გამოკვლეული 10462 შრატის ნიმუშიდან დადებითი აღმოჩნდა – 67.

დიაგრამა 2

რეგიონების მიხედვით 2005-2011წწ ბრუცელოზზე მრპ-ის გამოკვლევის მაჩვენებლები



სტატისტიკური მასალის გაანალიზებით პროცენტულად, (ცხრ. 4) ჩანს რომ, 2005-2011 წლებში როზ-ბენგალ სინჯით მსხვილფეხა პირუტყვის ბრუცელოზით დაავადების ყველაზე მეტი შემთხვევაა გამოვლენილი თბილისში-9,4%, რეგიონებიდან როზ-ბენგალ სინჯით მსხვილფეხა პირუტყვის ბრუცელოზით დაავადების ყველაზე მეტი შემთხვევა ფიქსირებულია მცხეთა-მთიანეთში-3,71%, კახეთში-4,39%, იმერეთში-2,19%, შიდა ქართლში-1,69%, ქვემო-ქართლში-1,65, სამცხე-ჯავახეთში-1.19%. დაახლოვებით ერთნაირი შედეგებია დანარჩენ რეგიონებში: აჭარა-0,92%, სამეგრელო-ზ. სვანეთი-0,65%, გურია-0,64%, რაჭა-0,16%.

შედეგების ანალიზით ირკვევა რომ, მსხვილფეხა პირუტყვის როზ-ბენგალ სინჯით დადებითი შემთხვევების უმეტესობა პროცენტულად მოდის თბილისსა და აღმოსავლეთ საქართველოზე. დასავლეთ საქართველოდან გამონაკლისია იმერეთი, სადაც დაავადების შედარებით მაღალი პროცენტული შემთხვევაა ფიქსირებული-2,19%.

სამეგრელო-ზემო სვანეთში 11132 გამოკვლეული ნიმუშიდან მიღებულ იქნა 72 დადებითი სისხლის შრატი.

რაჭაში გამოკვლეული მსხვილფეხა პირუტყვის 4393 შრატის ნიმუშიდან დადებითი იყო – 7.

აჭარაში გამოკვლეული 20918 ნიმუშიდან დადებითი აღმოჩნდა 192. თბილისში გამოკვლეულ იქნა მსხვილფეხა პირუტყვის 28960 შრატის ნიმუში დადებითი იყო – 2720.

2005-2011წ.წ. გაანლიზებული მასალიდან აღმოსავლეთ საქართველოში ბრუცელოზის შემთხვევები ჭარბობს (2,09%), დასავლეთ საქართველოში ბრუცელოზის შემთხვევათა რიცხვს (1,5%).

საქართველოში მრპ ბრუცელოზით დაავადების დინამიკა რეგიონების მიხედვით (2005-2011წ.წ.)

ცხრილი 4

№	რეგიონი	2005		2006		2007		2008		2009		2010		2011		%
		სისხლი	დადებითი	სისხლი	დადებითი	სისხლი	დადებითი	სისხლი	დადებითი	სისხლი	დადებითი	სისხლი	დადებითი	სისხლი	დადებითი	
1	კახეთი	3542	125	1019	111	20100	746	6710	325	1704	458	14371	261	1001	101	4.39
2	ქვ. ქართლი	15093	63	991	140	4658	64	6074	316	16638	332	55800	566	5665	90	1,69
3	შიდა ქართლი	10	–	46	8	1973	30	4443	55	2888	19	2942	64	1690	54	1,65
4	მცხეთა-მთიანეთი	6379	124	2781	68	1067	36	220	22	1254	73	3614	251	943	29	3,71
5	სამცხე-ჯავახეთი	–	–	31449	33	9581	45	5887	18	8902	497	6072	117	1132	37	1,19
6	იმერეთი	17526	40	1406	35	1867	43	4213	174	8039	324	18391	455	1480	86	2,19
7	გურია	–	–	42	0	2056	10	3224	3	1824	26	2255	19	1061	9	0,64
8	სამეგრელოზ. სვანეთი	–	–	–	–	1901	2	3692	3	2624	21	1925	36	990	10	0,65
9	რაჭა	–	–	200	0	269	0	1806	0	401	0	745	0	972	7	0,16
10	აჭარა	11110	1	70	10	1534	30	828	7	403	0	5934	127	1039	17	0,92
11	თბილისი	–	–	1848	22	11937	1048	3082	348	6740	724	3654	351	1699	227	9,4
სულ		53660	353	39852	427	56943	2054	40179	1271	51417	2474	115703	2247	17672	667	

2005-2010წ.წ. ფურების რძის რგოლური რეაქციით გამოკვლევის შედეგად მიღებულია შემდეგი შედეგები (ცხრილი 5). 2005 წელს დადებითი შემთხვევა არ დაფიქსირებულა, (გამოკვლეული 30 ფურების რძიდან), 2006 წელს დადებითი აღმოჩნდა 8 რძის სინჯი, (9,76%), 2007 წელს დაფიქსირდა 21 დადებითი შემთხვევა, რაც შეადგენს გამოკვლეული რძის 4,62%-ს. 2008 წელს დადებითი აღმოჩნდა გამოკვლეული ფურების რძის 9 ნიმუში – 4,31%. 2009 წელს 26 დადებითი ანუ 6,57% შემთხვევა დაფიქსირდა, 2010 წელს დადებითი შედეგი დადგინდა 21 (2,79%) შემთხვევაში, 2011 წელს დადებითი იყო 18 სინჯი, (6,77%). საერთო ჯამში გამოკვლეული 2191 ფურების რძიდან რგოლური რეაქციით დადებითი აღმოჩნდა 103 მსხვილფეხა პირუტყვი, რამაც შეადგინა 4,71%.

სტატისტიკური მასალის ანალიზით საქართველოში როზ-ბენგალ სინჯით და კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზით 375426 სული მსხვილფეხა პირტყვიდან დაავადებული აღმოჩნდა 7245 (2,58%), ხოლო 2191 რძის ნიმუშის რგოლური რეაქციით გამოკვლევის შედეგად 103 (4,71%). აღმოსავლეთ საქართველოში გამოკვლეული 275599 მსხვილფეხა პირუტყვიდან დადებითად მორეაგირე აღმოჩნდა 5750 (2,09%). ხოლო, დასავლეთ საქართველოში – 99827-დან, 1495 (1,5%).

ცხრილი 5

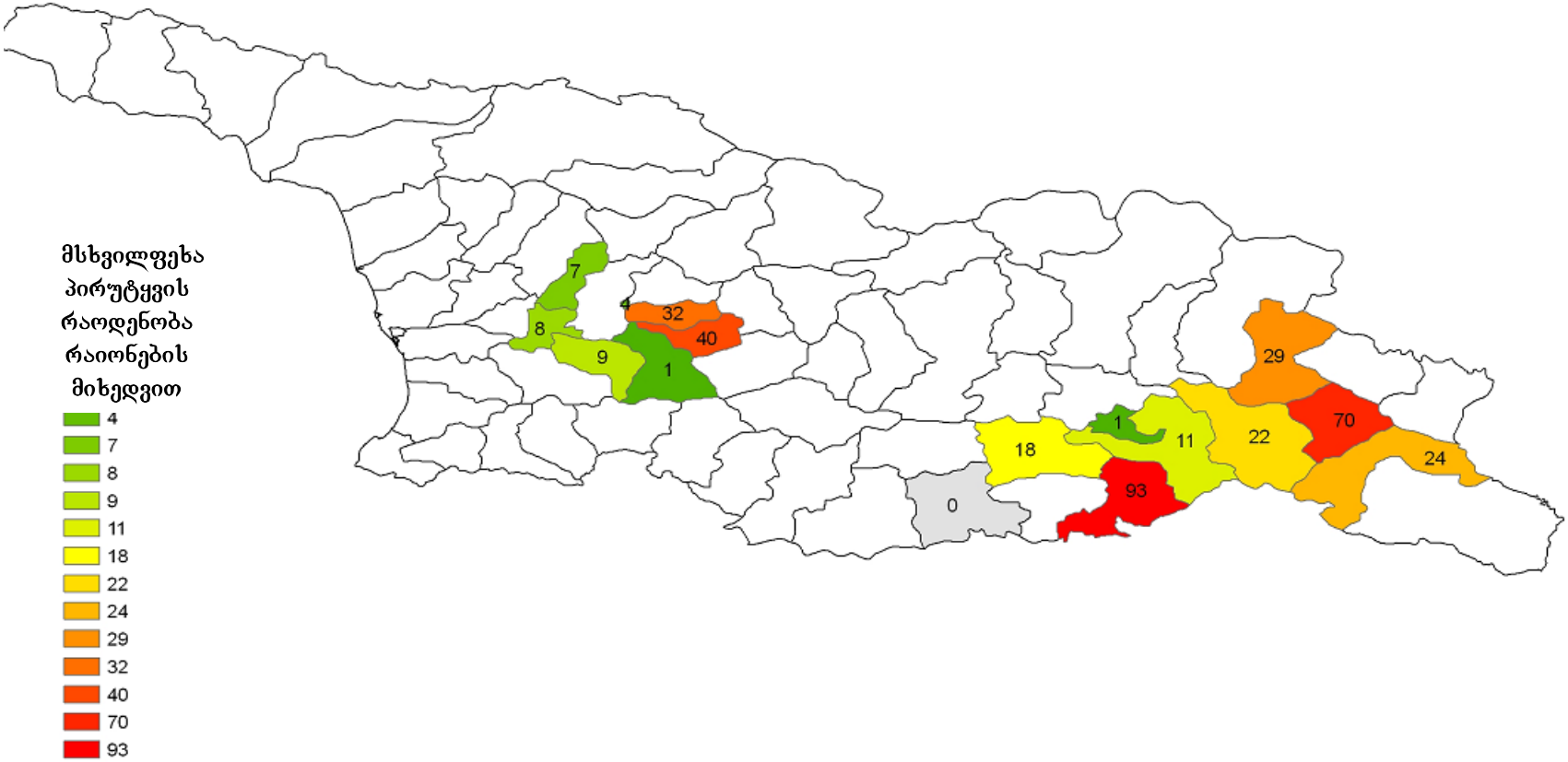
2005-2011წ.წ. ფურების რძის რგოლური რეაქციით

გამოკვლევის შედეგები

წელი	*გამოკვლეული რძის ნიმუშების რაოდენობა*	*უარყოფითი*	*დადებითი*	*%*
2005	30	30	–	–
2006	82	74	8	9,76
2007	455	434	21	4,62
2008	209	200	9	4,31
2009	396	370	26	6,57
2010	753	732	21	2,79
2011	266	248	18	6,77
სულ	**2191**	**2088**	**103**	**4,71%**

რუკა 1

მსხვილფეხა პირუტყვის სისხლის შრატების როზ-ბანგალ სინჯით გამოკვლევის შედეგები 2008-2010 წ.წ.



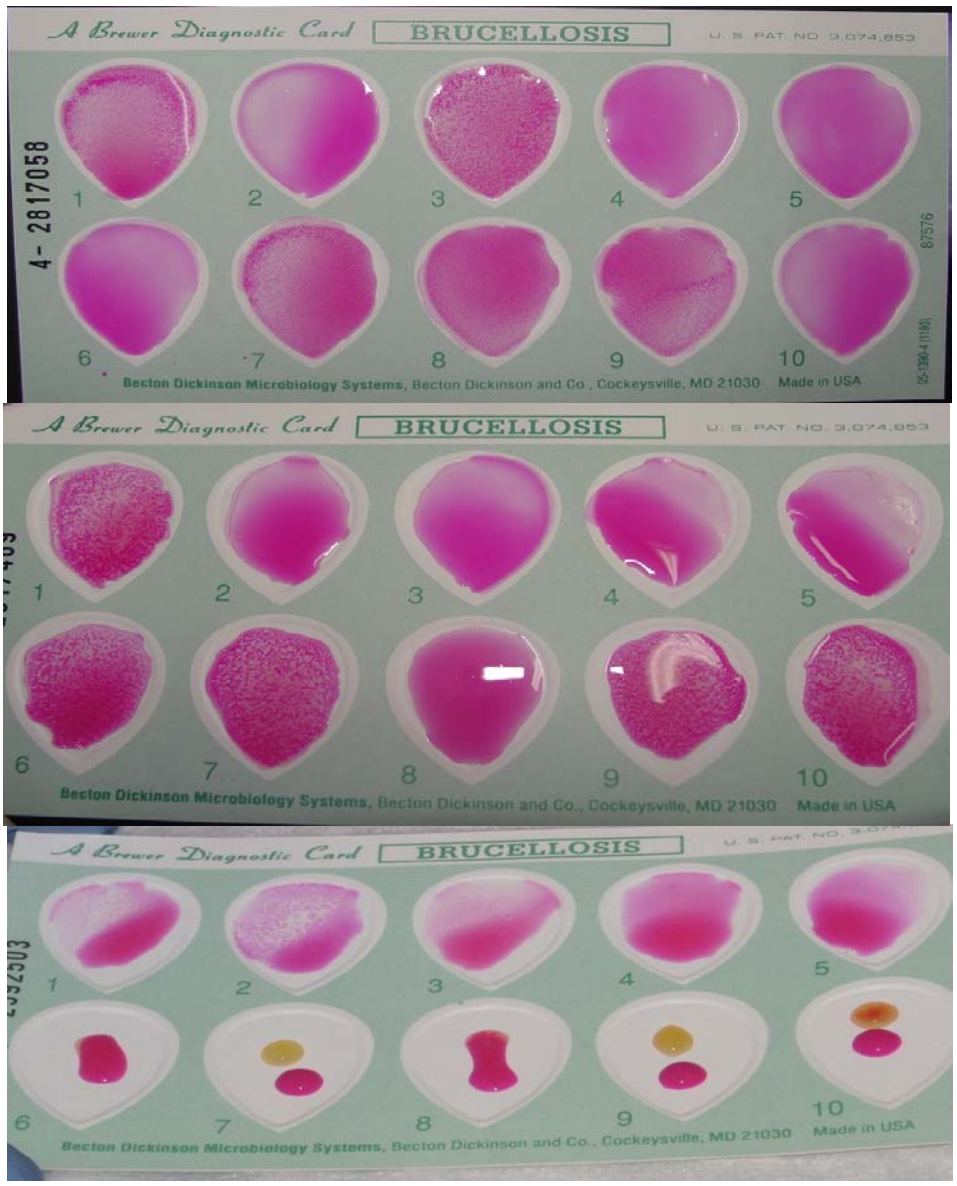
3.3. მსხვილფეხა პირუტყვის სისხლის შრატების როზ-ბენგალ სინჯით და კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზით გამოკვლევის შედეგები

გამოკვლევები ითვალისწინებდა საქართველოს სოფლის მეურნეობის სამინისტროს ლაბორატორიაში შემოსული მსხვილფეხა პირუტყვის სისხლის ნიმუშებიდან შრატების გამოყოფას და მათ გამოკვლევას როზ-ბენგალ სინჯით. დადებითი და საეჭვო შრატები, მოქმედი ინტრუქციის შესაბამისად ექვემდებარებოდა დამატებით გამოკვლევას კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზით.

როზ-ბენგალ სინჯის დასადგმელად ნაჭდევიან მინაზე ან ცრემლის ფორმის მქონე მყარ ბარათზე ან ასეთივე კერამიკულ დაფაზე მიკროპიპეტის საშუალებით შეგვქონდა 30 მკლ. (0,03 მლ) გამოსაკვლევი სისხლის შრატი. მის გვერდით ვათავსებდით ამავე მოცულობის სპეციალურ როზ-ბენგალის ანტიგენს. ჩხირის დახმარებით წვეთებს ერთმანეთში ვურევდით ერთგვაროვანი, ჰომოგენური სითხის მისაღებად, რეაქციის შედეგებს აღვრიცხავდით 4 წუთის შემდეგ ვიზუალურად, შეუიარაღებელი თვალით. პარალელურად რეაქციის შედეგების სარწმუნოებისათვის, ანალოგიური პრინციპით ვახდენდით საკონტროლო – წინასწარ ცნობილი ბრუცელოზზე დადებითი და უარყოფითი შრატების გამოკვლევას. შეფასებას ვახდენდით საკონტროლო შრატების დათვალიერებით. დადებით შრატთან სპეციფიკური რეაქციის, ხოლო უარყოფით შრატთან უარყოფითი რეაქციის მიღების შემთხვევაში. რეაქციის შეფასებისას ვხელმძღვანელობდით შრატში აგლუტინატის წარმოქმნის მიხედვით. დადებითი რეაქციის დროს მიმდინარეობდა ანტიგენის შეწებება,

რომელიც მკვეთრად მოჩანდა ვიზუალურად წითელ ფონზე თეთრი ფიფქების სახით.

უარყოფითი რეაქციის შემთხვევაში აგლუტინატი არ წარმოიქმნებოდა, წვეთი რჩებოდა ჰომოგენური (ერთგვაროვანი). (სურ. 2).



სურ. 2 როზ-ბენგალ ტესტი : 1; დადებითი კონტროლი, 2; უარყოფითი კონტროლი, საკვლევი ნიმუშები.

ჩვენს მიერ გამოკვლეული ყველა როზ-ბენგალ დადებითი შრატების დადასტურება მოხდა კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზით. კონკურენტული ენზიმური იმუნოფერმენტული ანალიზი *(C-ELISA*), გამოიყენება შინაური და გარეული ცხოველებიდან აღებულ სისხლის შრატებში *Brucella abortus* და *melitensis*-ის საწინააღმდეგო ანტისხეულების აღმოსაჩენად.

კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზის დასადგმელად გამოიყენება ფოსოებიანი მიკროტიტრაციის პლანშეტები, რომელიც ამოვსებულია *Brucella abortus*-ის ანტიგენით (გლუვი ლიპოპოლისაქარიდით S-LPS). მიკროპიპეტის საშუალებით ვამატებდით 50 მკლ. ბრუცელოზის საწინააღმდეგო ანტისხეულების შემცველ საკვლევ შრატს. საკვლევი შრატის გარდა პლანშეტზე შეგვქონდა შრატის კონტროლები (დადებითი, სუსტად დადებითი, უარყოფითი და კონიუგატ კონტროლი). შემდეგ ყველა ფოსოში ვამატებდით 50 მკლ. თაგვის მონოკლონურ ანტისხეულებს (mAb) (მონოკლონური ანტისხეულები სპეციფიურია S-LPS ანტიგენის თეოპოლისაქარიდის ეპიტოპის მიმართ). პლანშეტს 5 წუთის განმავლობაში ვათავსებდით შემრევზე რეაქტივების უკეთ შერევის მიზნით. საინკუბაციოდ პლანშეტს ვტოვებდით ოთახის ტემპერატურაზე (+18-25^{0}C) 30 წუთის განმავლობაში. ინკუბირების დამთავრების თანავე მიკროპლანშეტს ვრეცხავდით და ვამატებდით თხის, თაგვის IgG საწინააღმდეგო ანტისხეულების კონიუგატს (100 მკლ) პირშუშხას პეროქსიდაზასთან ერთად, რომელიც უკავშირდება ნებისმიერ mAb-ს, ეს უკანასკნელი დაკავშირებულია პლანშეტის S-LPS-თან. პლანშეტს განმეორებით საინკუბაციოდ ვტოვებდით ოთახის ტემპერატურაზე (+18-25^{0}C) 30 წუთის განმავლობაში.

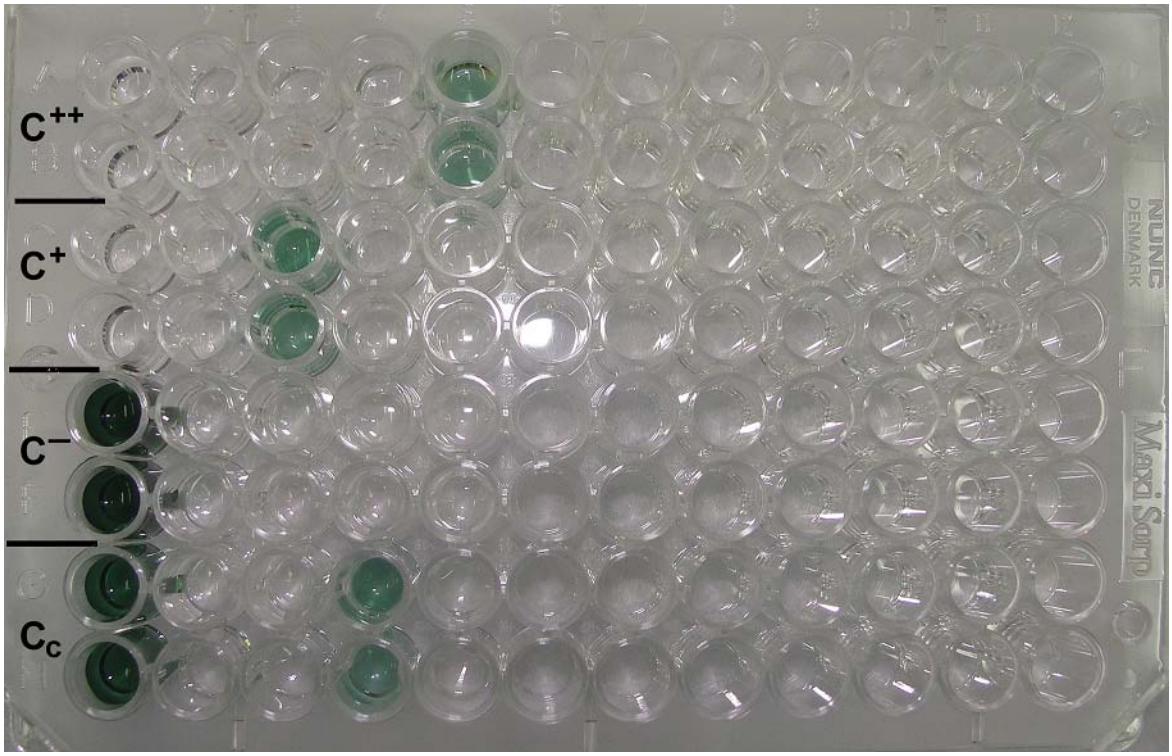
ვახდენდით პლანშეტის 4-ჯერ გარეცხვას სარეცხი ბუფერით. მომდევნო ეტაპზე პლანშეტის თითოეულ ფოსოში ვუმატებდით 100 მკლ. სუბსტრატის ხსნარს და საინკუბაციოდ ვათავსებდით 10 წუთი ოთახის ტემპერატურაზე (+18-25^{0}C), რეაქციის შევწყვეტის მიზნით ვამატებდით 50 მკლ. შემაჩერებელ ხსნარს, რეაქციას ვკითხულობდით კომპიუტერის საშუალებით, ოპტიკურ სიმკვრივეს ვზომავდით მიკროპლანშეტის ფოტომეტრის 450 ნმ-ზე.

ბრუცელოზით დაავადებული ცხოველიდან მიღებული შრატის დამატებისას ხდებოდა ანტისხეულების დაკავშირება ფოსოში ამოფენილ ანტიგენთან.

შეუკავშირებელი მასალა განიცდიდა მოცილებას გარეცხვით სუბსტრატის ხსნარის დამატებამდე. ფერის წარმოქმნა (მომწვანო-ლურჯი) წარმოქმნა ხდებოდა კონიუგატის მიერ სუბსტრატის კონვერსიის შედეგად. საკვლევ შრატში ანტი-ბრუცელა ანტისხეულების არარსებობისას (უარყოფითი), mAb უკავშირდება S-LSP ანტიგენის O-პოლისაქარიდის ეპიტოპს, რაც გამოვლინდება ფერის წარმოქმნით (მომწვანო-ლურჯი). თუ საკვლევი შრატი შეიცავს ბრუცელა-სპეციფიურ ანტისხეულებს (დადებითი), ისინი კონკურენციას უწევენ mAb-ს ეპიტოპის ადგილებისათვის და აინჰიბირებენ mAb-ის შეკავშირებას S-LPS ანტიგენის O-პოლოისაქარიდულ ნაწილთან და შეფერვის წარმოქმნას. (სურ. 3) ე.ი. დადებითი რეაქციის შემთხვევაში ფერი არ წარმოიქმნება.

კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზის უნივერსალურ თვისებად ითვლება ის, რომ შტამი 19-ით ვაქცინირებული ძროხებიდან მიღებული შრატები არ შედიან mAb-თან კონკურენციაში, მათი

სპეციფიურობის და დაბალი აფინურობის გამო, რაც გვაძლევს უარყოფით რეაქციას. ზოგ შემთხვევაში გამორიცხული არ არის ვაქცინაციიდან 6 თვის განმავლობაში აღებულმა ნიმუშებმა გამოიწვიონ დადებითი რეაქცია.



სურ. 3. C-ELISA.

C++ დადებითი კონტროლი

C+ სუსტად დადებითი კონტროლი

C- უარყოფითი კონტროლი

Cc კონიუგატ კონტროლი.

სოფლის მეურნეობის სამინისტროს ლაბორატორიაში 2008 წლის განმავლობაში მსხვილფეხა პირუტყვის ბრუცელოზზე გამოსაკვლევად შემოსული 3082 სისხლის შრატის სინჯიდან, როზ-ბენგალ ტესტით დადებითი აღმოჩნდა 348, ანუ 11.30%, 2009 წელს ბრუცელოზზე გამოკვლეული მსხვილფეხა პირუტყვის 6740 სისხლის შრატის სინჯიდან, როზ-ბენგალის ტესტით დადებითი აღმოჩნდა 724, (10.75%). ხოლო 2010 წელს მსხვილფეხა პირუტყვის 3654 სისხლის შრატიდან, როზ-ბენგალ ტესტით დადებითი შედეგები აღირიცხა 351 შემთხვევაში, (9.61%). 2011 წელს შემოსული და გამოკვლეული 1699 სისხლის შრატიდან, როზ-ბენგალ ტესტით დადებითებმა – 227, ანუ 13.36% შეადგინა. (დიაგრამა 3.)

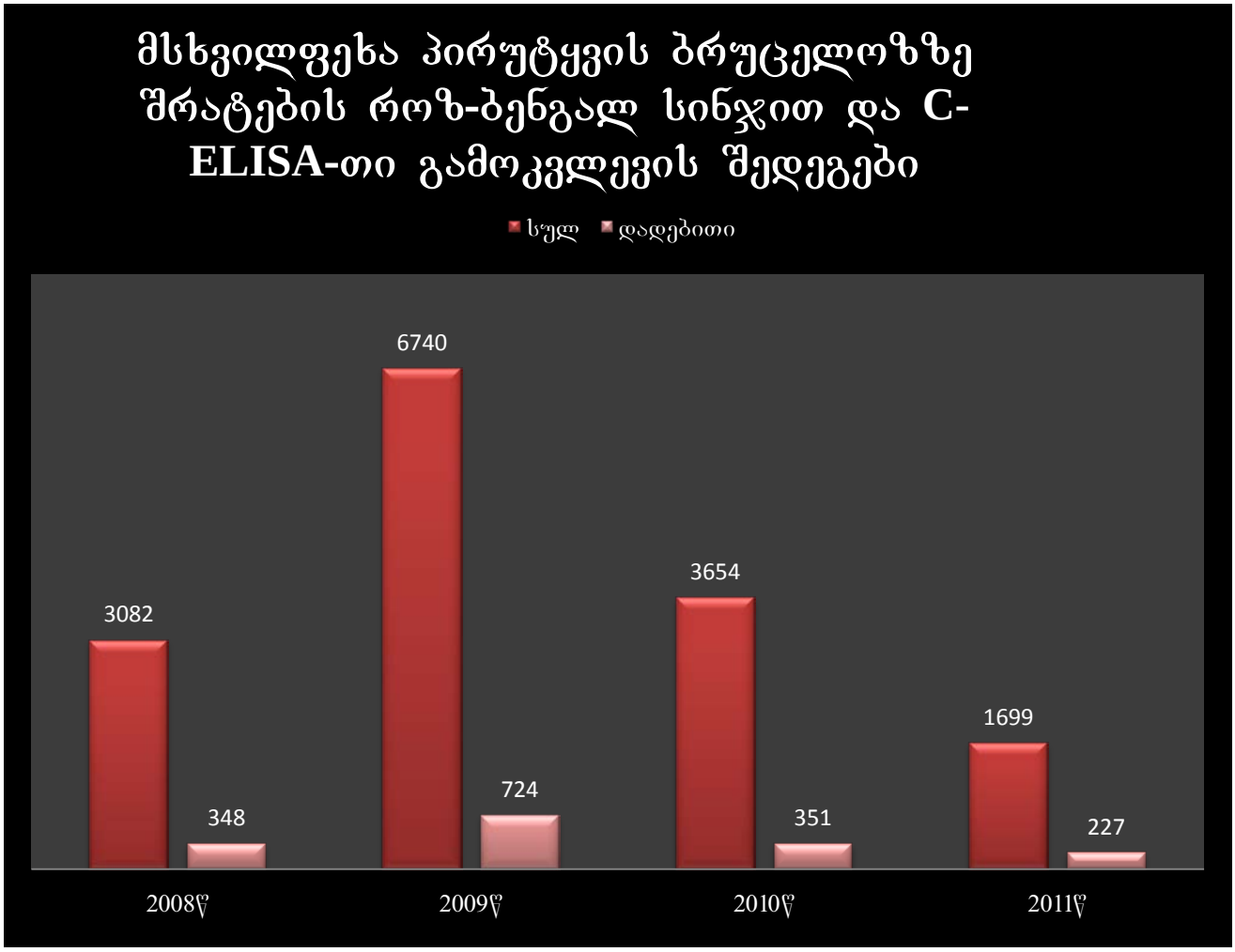
ყველა ზემოთ ჩამოთვლილი როზ-ბენგალ დადებითი შრატების დადასტურება მოხდა კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზით. შედეგები იდენტურია. რაც მიუთითებს აღნიშნული მეთოდების სიზუსტესა და სპეციფიურობაზე. (ცხრილი 6).

ცხრილი 6

მსხვილფეხა პირუტყვის სისხლის შრატების როზ-ბენგალ სინჯით და კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზით გამოკვლევის შედეგები

წელი	სისხლის შრატების, სინჯების რაოდენობა	რ.ბ.რ		ELISA-Ab		დადებითი (%)
		უარყოფითი	დადებითი	უარყოფითი	დადებითი	
2008	3082	2734	348	2634	348	11.30%
2009	6740	6016	724	6016	724	10.75%
2010	3654	3303	351	3303	351	9.61%
2011	1699	1472	227	1472	227	13.36%

დიაგრამა 3


მსხვილფეხა პირუტყვის ბრუცელოზზე შრატების როზ-ბენგალ სინჯით და C-ELISA-თი გამოკვლევის შედეგები
სულ
დადებითი
3082
348
6740
724
3654
351
1699
227
2008წ
2009წ
2010წ
2011წ

3.4. ფურების რძის ბრუცელოზზე რგოლური რეაქციით გამოკვლევის შედეგები

ცდების მსვლელობის პერიოდში ფურების რძის გამოკვლევას ვახდენდით რძის რგოლური რეაქციით, შემდეგი წინა პირობების გათვალისწინებით: გამოსაკვლევად ვარგისია, მხოლოდ მოუხდელი და ახალი რძე. აღნიშნულ რეაქციაში გამოკვლევას არ ექვემდებარება რძის ნიმუში, რომელიც აღებულია ცხოველის ახურებისა და დაგრილების პერიოდში, ნაყოფის მოგდებიდან პირველი თორმეტი დღის განმავლობაში, აგრეთვე მასტიტით დაავადებული ფურების რძე.

გამოკვლევებს დავუქვემდებარეთ საქართველოს სხვადსხვა რაიონებიდან 2008-2011წ.წ. სოფლის მეურნეობის სამინისტროს ლაბორატორიაში შემოსული მოსახლეობის კერძო საკუთრებაში არსებული 97 ფურის რძე.

გამოკვლევის წინ რძიან ჭურჭელს ვანჯღრევდით ნაღების თანაბარი განაწილებისათვის, სეროლოგიურ სინჯარებში შეგვქონდა 2000 მკლ. (ან 2-2 მლ.) რძე და ვუმატებდით 200 მკლ. (ან 0,2 მლ.) ანტიგენს. სინჯარებს გულდასმით ვანჯღრევდით.

ძირითადი რეაქციის პარალელურად სარწმუნო შედეგების მისაღებად ვდგავდით შემდეგ კონტროლებს:

– წინასწარ ცნობილი ჯანმრთელი ცხოველის რძესთან,

– ჯანმრთელი ცხოველის რძისა და დადებითი შრატის ნარევთან.

შტატივს გამოსაკვლევი და საკონტროლო რძის სინჯარებით ვათავსებდით თერმოსტატში 37^0C ერთი საათის განმავლობაში.

რეაქციის შეფასებას ვახდენდით ვიზუალურად, თერმოსტატიდან სინჯარების გამოღებისთანავე. შედეგების აღრიცხვას ვიწყებდით საკონტროლო სინჯარებიდან. რეაქცია ჯანმრთელი ცხოველის რძესთან უარყოფითია, ხოლო ჯანმრთელი ცხოველის რძისა და ბრუცელოზის დადებითი შრატის ნარევთან-დადებითი. რეაქციის შედეგების შეფასებას ვახდენდით ჯვრებით:

+++ (სამი ჯვარი) – რძის სვეტის ზემოთა ნაწილის ნაღების ფენაში მკაფიოდ გამოხატულია ლურჯი ფერის რგოლი, რძის დანარჩენი მასა თეთრია.

++ (ორი ჯვარი) – ნაღების ფენაში ნათლად გამოხატულია ლურჯი რგოლი, რძის დანარჩენი მასა მოლურჯო შეფერილობისაა.

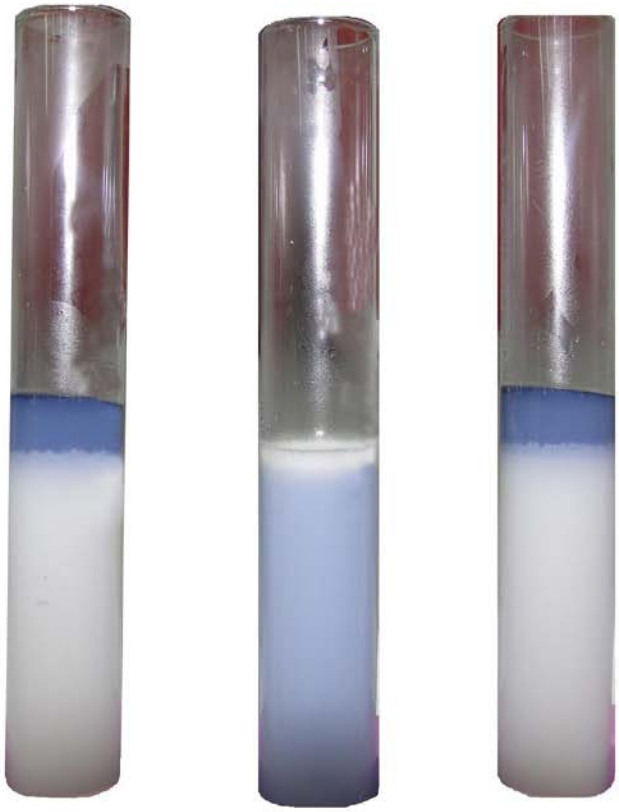
+ (ერთი ჯვარი) – რძის სვეტი შეღებილია ლურჯ ფერში, ნაღების ფენა თეთრი და მოყვითალოა.

რძის სინჯი, რომელიც შეფასდა სამი ან ორი ჯვრით – დადებითია, ხოლო ერთი ჯვრით – უარყოფითი. (სურ. 4).

ბრუცელოზზე რძის ნიმუშების, რგოლური რეაქციით ჩატარებულმა გამოკვლევებმა გვიჩვენა, რომ დადებითი შემთვევების უმეტესობა აღმოსავლეთ საქართველოზე მოდის. 97 რძის სინჯიდან 17 შემთხვევაში რგოლური რეაქცია აღმოჩნდა დადებითი, მათ შორის 2008წ. -1, (16.67%), 2009წ. – 4, (33.34%), 2010წ. -7, (18.92%), 2011წ– 5, (10,81%) (ცხრ. 7). (დიაგრამა 4).

აღსანიშნავია, რომ თექვსმეტივე დადებით შემთხვევაში აღირიცხა მკვეთრად დადებით რეაქციად (+++), რასაც ადასტურებს სინჯარის ზედა ნაწილში, ნაღების ფენაში ლურჯად შეღებილი დამახასიათებელი

რგოლის წარმოქმნა, რაც ადვილად გასარჩევია რძის სვეტის თეთრ ფონზე.



ა) ბ) გ)

სურ. 4. რძის რგოლური რეაქცია.

ა) დადებითი კონტროლი.

ბ) უარყოფითი კონტროლი.

გ) საკვლევი ნიმუში.

ცხრილი 7.

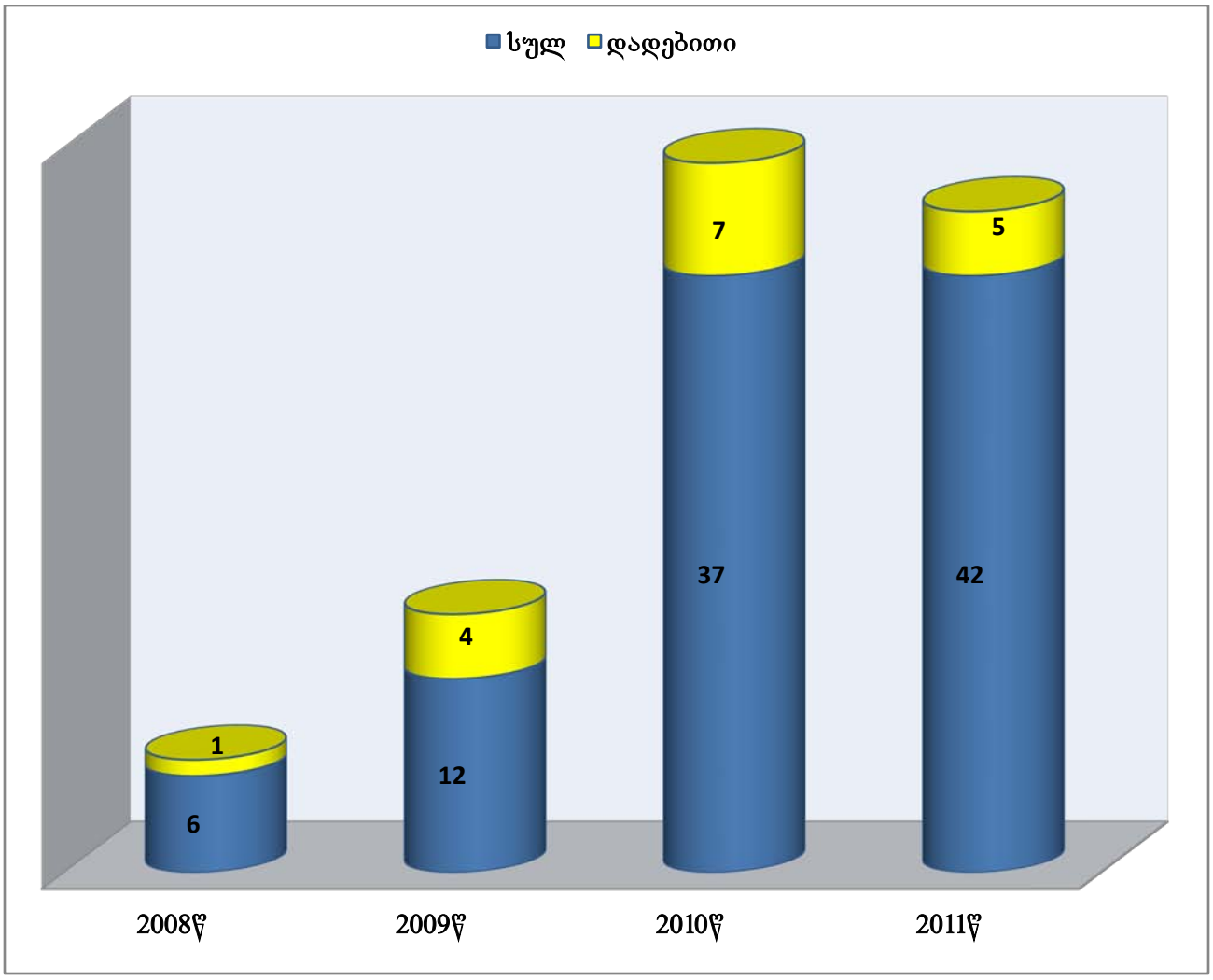
ფურების რძის რგოლური რეაქციით გამოკვლევის შედეგები

წელი	*გამოკვლეული რძის ნიმუშების რაოდენობა*	*უარყოფითი*	*დადებითი*	*%*
2008	6	5	1	16,67%
2009	12	8	4	33,34%
2010	37	30	7	18,92%
2011	42	37	5	11,9%
სულ	97	80	17	17.52%

დიაგრამა 4

ფურების რძის რგოლური რაქციით გამოკვლევის შედეგები

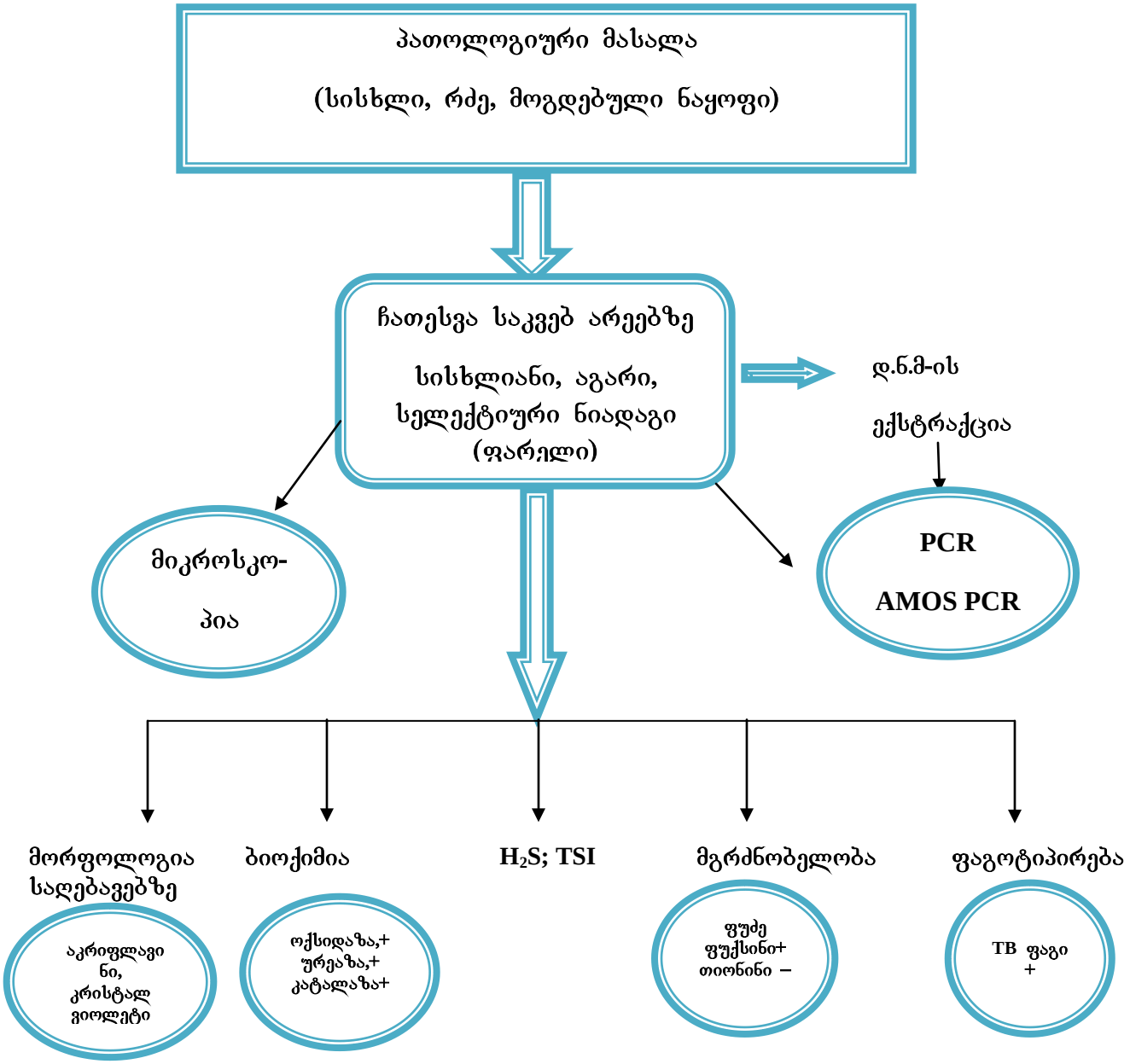
(2008-2011წ.წ.)



3.5. ფურებიდან გამოყოფილი *B. abortus* კულტურების შესწავლის შედეგები

2010-2011 წ.წ.-ში ჩატარებული კვლევითი სამუშაოები ითვალისწინებდა მსხვილფეხა პირუტყვიდან გამოყოფილი ბრუცელოზის აღმძვრელების ტიპირებას. ცდების პროცესში გამოკვლევას დავუქვემდებარეთ სოფლის მეურნეობის სამინისტროს ლაბორატორიაში, საქართველოს სამი რეგიონიდან (ქვემო ქართლი, კახეთი და იმერეთი) 2008-2010წ.წ. შემოსული 1253 სისხლის, 577 რძის, 5 მოგდებული ნაყოფის, და 53 შრატის ნიმუში. *Brucella*-ის გამოყოფისა და იდენტიფიკაციისათვის, ვახდენდით სისხლის, რძის და მოგდებული ნაყოფიდან აღებული ნიმუშების, ჩათესვას ხელოვნურ საკვებ არეებზე, კერძოდ ბრუცელას სელექტიურ ნიადაგზე და სისხლიან აგარზე. *Brucella* საეჭვო კულტურებს ვიკვლევდით ბიოქიმიური ტესტებით: ოქსიდაზა, კატალაზა, ურეაზა, გოგირდწყალბადის წარმოქმნა და სამშაქრიანი რკინის მეტაბოლიზმი. *Brucella*-ას კოლონიების მორფოლოგიის დასადგენად გამოვიყენეთ აკრიფლავინის და კრისტალ-ვიოლეტის ტესტები, მოვახდინეთ მიღებული კულტურების ფაგოტიპირება Tb ფაგით. ყველა ზემოთ ჩამოთვლილი ტესტების გამოყენების შედეგად გამოყოფილ იქნა *B. abortus* 20 საეჭვო კულტურა, რომელთა დადასტურება მოხდა მყისიერი PCR-ით და AMOS-PCR-ით. პარალელურად მოვახდინეთ 53 შრატის ნიმუშის ექსტრაგირება, მიღებული დ.ნ.მ-ის ნიმუშები გამოკვლეულ იქნა მყისიერი PCR-ით და AMOS-PCR-ით, 31 დადებითი შედეგით. (ალგორითმი №1).

ალგორითმი 1


პათოლოგიური მასალა
(სისხლი, რძე, მოგდებული ნაყოფი)
ჩათესვა საკვებ არეებზე
სისხლიანი, აგარი, სელექტიური ნიადაგი (ფარეელი)
დ.ნ.მ-ის ექსტრაქცია
PCR
AMOS PCR
მიკროსკო-პია
მორფოლოგია საღებავებზე
ბიოქიმია
H2S; TSI
მგრძნობელობა
ფაგოტიპირება
აკრიფლავი ნი, კრისტალ ვიოლეტი
ოქსიდაზა,+ ურეაზა,+ კატალაზა+
ფუძე ფუქსინი+ თიონინი –
TB ფაგი +

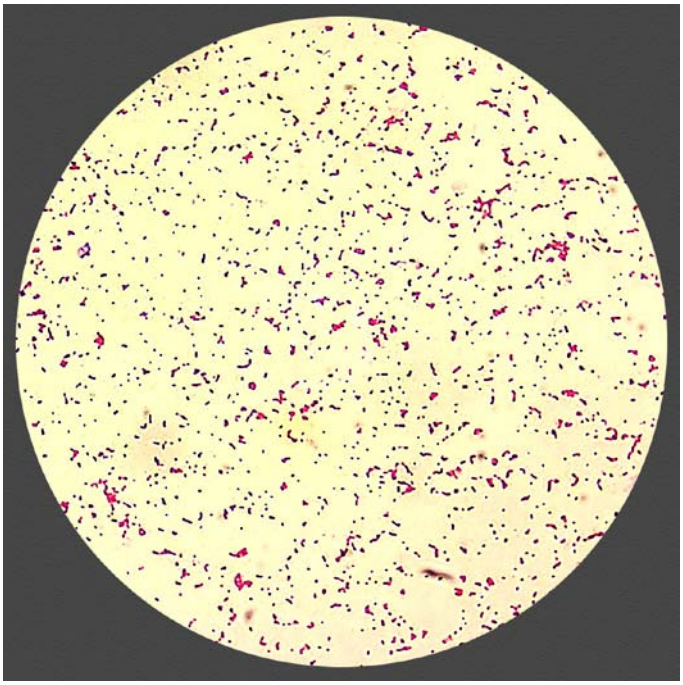
3.5.1. მორფოლოგია და ტინქტორიალური თვისებები

B. abortus შტამების მორფოლოგიისა და ტინქტორიალური თვისებების დასადგენად პათოლოგიური მასალიდან და ხელოვნურ საკვებ არეებზე (ბრუცელას ბულიონი, ფარელის აგარი) ნაზარდი კულტურებიდან დავამზადეთ ნაცხები და შევღებეთ გრამის და კოზლოვსკის წესით, ეს უკანასკნელი ტიპურია და შერეულ მასალაში ბრუცელების სხვა მიკრობებისაგან დიფერენცირების მიზნით გამოიყენება.

გრამი წესით შეღებვა. გრამის წესით შეღბვისათვის ბრუცელების 48 საათიანი კოლონიებიდან დამზადებული ნაცხები გავაშრეთ, მოვახდინეთ ფიქსაცია გაცხელებით, ფიქსირებულ ნაცხებს დავაფარეთ ფილტრის ქაღალდი, დავასხით გენციან-ვიოლეტის საღებავი; დავაყოვნეთ 2 წუთი, შემდეგ მოვაცილეთ ფილტრის ქაღალდი და დავაწვეთეთ ლუგოლის ხსნარი, დავაყოვნეთ 2 წუთი; 20 წამის განმავლობაში პრეპარატი დავამუშავეთ 96^0-იანი სპირტით, ნაცხი ჩავრეცხეთ წყლით, შევღებეთ საფრანინით 2 წუთის განმავლობაში, კვლავ ჩავრეცხეთ ონკანის წყლით, გავაშრეთ საშრობი ქაღალდით და გამოვიკვლიეთ მიკროსკოპში იმერსიული სისტემით. ჩვენს მიერ გამოყოფილი და შესწავლილი *B. abortus* შტამები, გარმუარყოფითი, წითელ ფერში შეღებილი კოკობაქტერიებია, რომლებიც პრეპარატში უმეტესად დალაგებულია წყვილად და გამონაკლისად ერთეული სახით. (სურ. 5)

კოზლოვსკის მეთოდით შეღებვა. ამ მიზნით ფიქსირებულ ნაცხებს ვაწვეთებდით საფრანინის 2%-იან წყლიან ხსნარს, და ვღებავდით გაცხელებით სპირტქურის ალზე აირების პირველი ბუშტუკების გამოყოფამდე. პრეპარატი ჩავრეცხეთ წყლით. ნაცხი დამატებით შევღებეთ 0,75-1%-იანი მეთილენის ლურჯის წყლიანი ხსნარით 30 წამის

განმავლობაში. პრეპარატები განმეორებით ჩავრეცხეთ წყლით, გავამშრალეთ და გავსინჯეთ მიკროსკოპში, იმერსიული სისტემით. მიკროსკოპული სურათი- ჩვენს მიერ გამოყოფილი *B. abortus* კოკობაქტერიები აღმოჩნდა შეღებილი ღია ვარდისფერში, რაც მათი ტიპურობის მაჩვენებელია.



სურათი 5. გრამის წესით შეღებილი ბრუცელები

2.5.2. საკვებ არეებზე ზრდის თავისებურება

მყარ საკვებ არეებზე ზრდის მიხედვით არჩევენ ბრუცელების S – ტიპიურ–გლუვი, R – შეცვლილ–ხორკლიანი, და M – ლორწოვან–კოლონიებს. ბრუცელებისათვის გამონაკლისად დამახასიათებელია ფილტრში გამავალი ე.წ. L ფორმის წარმოქმნა.

ტიპიური ვირულენტური შტამი S-ფორმა, აგარის ზედაპირზე წარმოქმნის წვრილ, 2-3 მმ. დიამეტრის, მრგვალ, ამობურცულ, გლუვი ზედაპირისა და სწორი კიდეების მქონე, მბრწყინავ, თაფლისფერ, კარაქის კონსისტენციის, კოლონიებს. ბრუცელას ხანდაზმულ კოლონიებს აქვს ჟანგისფერი.

ავირულენტური (R-ფორმა) აგარზე წარმოქმნის ხორკლიან კოლონიებს. მსხვილფეახა პირუტყვის საველე ნიმუშები (ანტი-კოაგულანტიანი სისხლი, რძე, ქსოვილი ან მშობიარობასთან ასოცირებული მასალა.) შესაძლებელია შეიცავდეს სხვა ბაქტერიებსაც, *Brucalla*-ს სახეობათა სუფთა კულტურის გამოყოფა საჭიროებს სპეცილიზირებულ საკვებ არეებს. *B. abortus* კულტურის გამოსაყოფად და ზრდის თავისებურებების დასადგენად, გამოვიყენეთ სელექტიური ნიადაგი, რომელიც ახდენს უცხო მიკროორგანიზმების ზრდის დათრგუნვას და ხელს უწყობს ბრცელების ზრდა-განვითარებას. *brucella*-ს სელექტიური ნიადაგი შეიცავს ანტიბიოტიკების ნარევს. საკვები არე ბრუცელების ზრდის დასაჩქარებლად დანამატის სახით შეიცავს სისხლს, (ბრუცელა –უარყოფითი), ან შრატს. ბრუცელების გამოსაყოფად პათ. მასალის ნიმუშებს ფინჯანზე გათესვამდე ვყინავდით -20^{0}C-ზე, გაყინვა ხელს

უწყობს ნებისმიერ ბაქტერიული უჯრედების განთავისუფლებას სისხლის ფორმიანი ელემენტებიდან. გაყინულ ნიმუშებს ვალღობდით და ვორტექსის გამოყენებით ვახდენდით შერევას.

თხევადი ნიმუშები (როგორიცაა სისხლი, რძე) 100 მკლ. რაოდენობით სტერილური პიპეტის წვერის საშუალებით გადაგვქონდა და ვათავსებდით სელექტიური ნიადაგის ცენტრში.

ქსოვილის ნიმუშებს სტერილური პინცეტისა და მაკრატლის გამოყენებით ვაქუვმაცებდით "სუფთა კიდეების" მისაღებად.

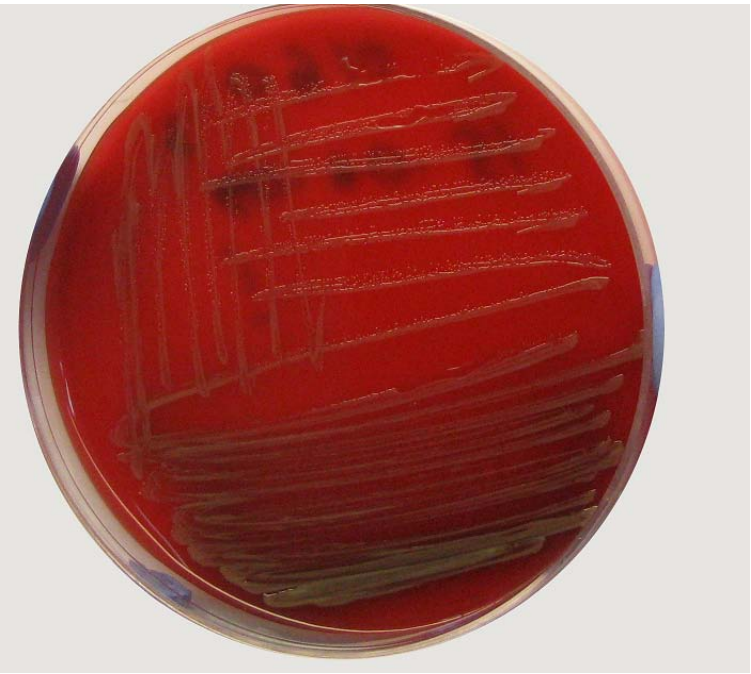
სტერილური მარყუჟით ვახდენდით წვეთის ან პათ. მასალის გადათესვას ფინჯანზე დაშტრიხვით, "მოლის" მსგავსად.

გაშრობის შემდეგ ფინჯნებს ვათავსებდით თავსახურიან პლასტმასის კონტეინერში და ვტოვებდით თერმოსტატში 37^0C-ზე. 10-15% CO_2-იან პაკეტებათან ერთად. (*B. abortus* მიკროაეროფილია და ზრდისათვის საჭიროებს CO_2-იანი გარემოს). ფინჯნების ინკუბირებას ვახდენდით 21 დღემდე, თერმოსტატში 37^0C-ზე.

ნათესებს ვამოწმებდით ყოველ 24 საათში და თითოეულ კოლონიას ვნიშნავდით ფინჯნის ფუძეზე შემოხაზვით, როგორც (არა "ბრუცელას") დაბინძურებული კოლონია.

ინკუბაციიდან მე-2-3-ე დღეს აღინიშნებოდა მკრთალი, გამჭვირვალე, თაფლისფერი შეფერილობის 2-3 მმ დიამეტრის მქონე მრგვალი კოლონიები, (სურ. 6.) ისინი ამობურცულ ზედაპირიანი და მოთეთრო. პრეპარატში ქსოვილების ნაწილაკებისა და ცხიმის წვეთების ზემოქმედების შედეგად აღინიშნებოდა უსწორმასწორო კიდეებიანი

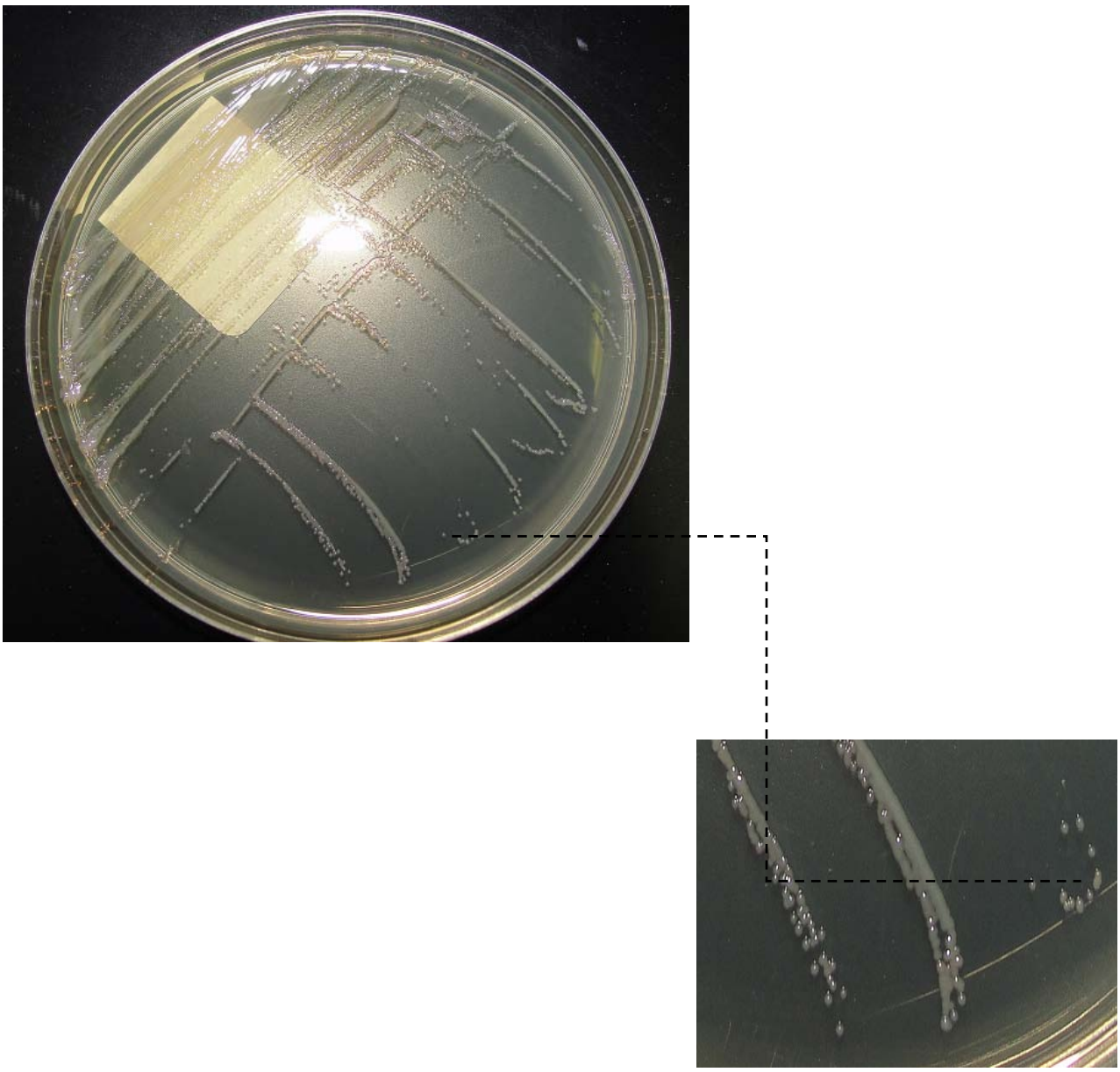
კოლონიების ზრდა. საეჭვო კოლონიები წარმოქმნისთანავე გადაგვქონდა სელექტიურ ნიადაგზე შემდგომი გამოკვლევებისათვის.



სურ. 6. ბრუცელას კოლონიები (S ფორმა)

შემდგომი ტესტირებისათვის, ვახდენდით საეჭვო კოლონიების ბრუცელას სელექტიურ ნიადაგზე გადათესვას. (ფარელის ნიადაგი). კულტივირებისათვის ნათესი კულტურები მოვათავსეთ (CO_2-ის გარეშე) თერმოსტატში 37^0C-ზე. ზრდის ხასიათზე დაკვირვებას ვახდენდით ყოველი 24 საათის შემდეგ. გამოკვლევებმა გვიჩვენა კულტურათა ზრდა

სუსტი ნაზარდის სახით აღინიშნა (სურ. 7). მესამე დღეს და მაქსიმალურ ინტენსივობას მიაღწია 21-ე დღეს. (ცხრილი 8).



სურ. 7. *B. abortus* ნაზარდი ბრუცელას სელექტურ (ფარელის) აგარზე.

B. abortus საკვებ არეებზე ზრდის მახასიათელები

ცხრილი 8

№	მიკრობის დასახელება	კოლონიის წარმოქმნის დრო (სთ-ში)	კოლონიის ფორმა	კოლონიის დიამეტრი (მმ)
1	0178-b	72	S	3
2	051-m	48	S	2
3	285-b	72	S	3
4	N1-t	48	S	2
5	IM.0014-m	48	S	2
6	IM.0018-m	48	S	2
7	K.K.0519-m	72	S	3
8	T.01-m	72	S	3
9	M.T.02-m	48	S	2
10	K.K.0790-m	72	S	3
11	K.K.1102-b	48	S	2
12	K.1556-m	72	S	3
13	K.1601-m	72	S	3
14	K.1733-m	48	S	2
15	K.1745-m	48	S	2
16	K.1573-m	72	S	3
17	IM.0030-m	72	S	3
18	T.03-m	72	S	3
19	K.K.1109-m	72	S	3
20	K.K.0808-m	72	S	3

3.5.3 *B. Abotus* იზოლატების ბიოქიმიური თვისებები

B. abortus სახეობის იდენტიფიკაციისათვის გამოვიყენეთ შემდეგი ბიოქიმიური ტესტები: ოქსიდაზა, ურეაზა კატალაზა; გოგირდწყალბადის გამომუშავება და რკინის მეტაბოლიზმი. (ცხრილი 9)

ოქსიდაზას ტესტი. ოქსიდაზას ტესტით ხდება ფერმენტ ციტოქრომ ოქსიდაზას აღმოჩენა, ის გამოიყენება გრამ-უარყოფითი ბაქტერიების ბიოქიმიური ტესტირებისათვის. დადებითი შედეგებისას ციტოქრომ ოქსიდაზას არსებობის შემთხვევაში მისი რეაქტივები ურთიერთქმედებენ ინდოფენოლის ლურჯთან.

ოქსიდაზას ტესტის ჩასატარებლად სტერილური ტამპონით ვიღებდით 2-3 იზოლირებულ კოლონიას. უშუალოდ ტამპონზე არსებულ ბაქტერიაზე ვაწვეთებდით ოქსიდაზას რეაქტივს და 30 წამის შემდეგ აღვრიცხავდით შედეგებს. ჩვენს მიერ გამოყოფილი *B. abortus* ყველა იზოლატი ოქსიდაზა დადებითია, რასაც ადასტურებს აღნიშნული ტესტის ჩატარებისას ლურჯი ფერის წარმოქმნა.

ურეაზას ტესტი – გამოიყენება მიკრორგანიზმის მიერ ფერმენტ ურეაზას საშუალებით შარდოვანას ჰიდროლიზის თვისებაში. ამონიუმის ორი ერთეული წარმოიქმნება ტუტე თვისობრიობის შედეგად. ტუტის აღმოჩენა ხდება pH-ინდიკატორის საშუალებით. ქრისტენსენის შარდოვანა რომელიც pH ინდიკატორს ფენოლ წითელს შეიცავს, ჩვეულებრივ მჟავე გარემოში (pH 6.8) ყვითელი შეფერილობისაა; ტუტე გარემოში (pH 8.4) ინდიკატორი იცვლის ფერს და ხდება მოვარდისფრო-მოწითალო.

ურეაზას ტესტის ჩასატარებლად ვიღებდით სინჯარას ქრისტენსენის

ირიბი აგარით. აგარის ზედაპირზე ვახდენდით ბრუცელას კოლონიების გადათესვას. სინჯარებს ინკუბირებისათვის ვტოვებდით თერმოსტატში 35-37^{0}C-ზე. ნაზარდის შემოწმებას ვახდენდით 24-48 საათის შემდეგ. ჩატარებული გამოკვლევებით დავადგინეთ, რომ *B. abortus* ყველა შტამი, იწვევს ვარდისფერ-წითელი ფერის წარმოქმნას, რაც დადებითი ურეაზას ტესტის მაჩვენებელია. (სურათი 8). აღსანიშნავია, რომ ჩვენს მიერ გამოყოფილ შტამებში ვარდისფერ-წითელი ფერის წარმოქმნა სხვადასხვა ინტენსივობით ხდებოდა.

სურ 8. ურეაზა ტესტი

კატალაზას ტესტი: ფერმენტი კატლაზა ახდენს წყალბადის ზეჟანგის ჰიდროლიზის კატალიზებას, რის შედეგად წარმოიქმნება წყალი და ჟანგბადი. ჩვენს მიერ გამოყოფილი ბრუცელათა ყველა სახეობა აღმოჩნდა კატალაზა დადებითი.

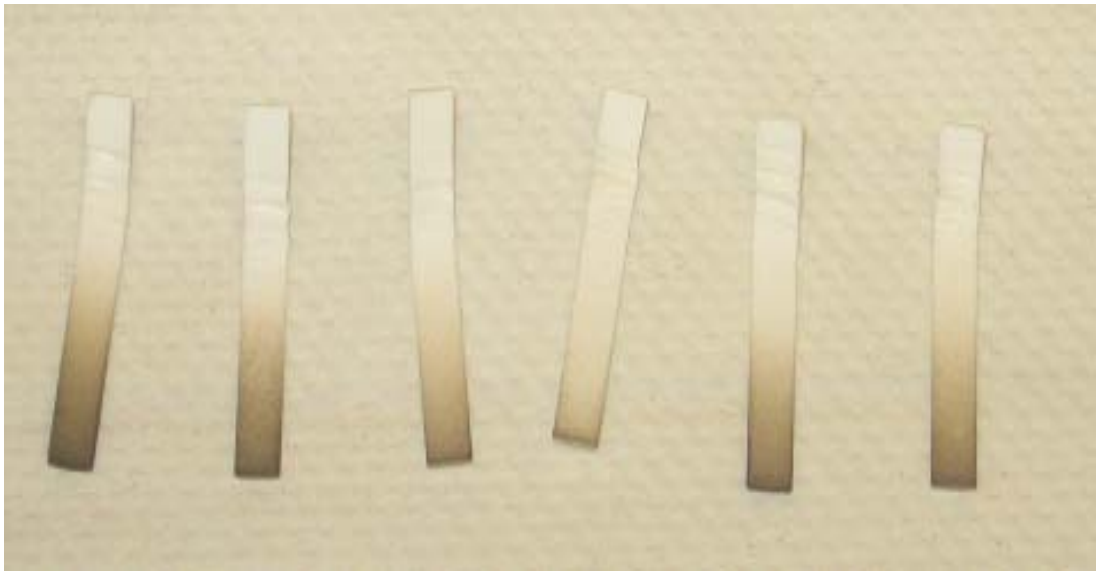
კატალაზას ტესტის ჩასატარებლად სტერილური მარყუჟით იზოლირებული კოლონია გადაგვქონდა სასაგნე მინაზე, რომელშიც შეგვქონდა 1-2 წვეთი 3%-იანი წყალბადის ზეჟანგის ხსნარი, რასაც მყისიერად თან სდევდა აირების ბუშტუკების წარმოქმნა, რაც ჩვენს მიერ გამოყოფილი *B. abortus* კატალაზური აქტივობის მიმანიშნებელია.

სამშაქრიანი რკინის აგარი (Triple sugar Iron – TSI) მისი საშუალებით ხდება დექსტროზას, ლაქტოზასა და საქაროზას ფერმენტაციის დადგენა. მისი გამოყენება შესაძებელია დამატებითი ტესტით ზოგიერთი მიკროორგანიზმების მიერ წყალბადის ზეჟანგის პროდუქციის აღმოსაჩენად, თუმცა არაეფექტურია ბრუცელას სახეობების დასადგენად. აგარის ფერი განიცდის ცვლილებას – ყვითელი მჟავების პროდუცირებისას, და წითელი ტუტეს წარმოქმნისას – ფერმენტაციის დროს შესაძლებელია აგრეთვე წარმოქმნას გაზები. ბრუცელას სახეობები, არიან არა-რეაქტიული, ანუ TSI უარყოფითი მიკროორგანიზმები. (არ იცვლება შეფერილობა და არ ხდება აირების წარმოქმნა).

ბრუცელას სახეობათა იდენტიფიკაციისათვის სინჯარებში სამშაქრიანი რკინის ირიბი აგარით ვახდენდით *B. abortus* კულტურათა გათესვას გაზონის სახით. საცობსა და სინჯარის შიდა ზედაპირს შორის ვათავსებდით ტყვიის აცეტატიან სტრიპს. სინჯარებს ვტოვებდით 35-37^{0}C-ზე 24-48 საათის განმავლობაში. შედეგებზე ვმსჯელობდით

საკვები არის ფერის შეცვლით, აირების წარმოქმნით, რაც ჩვენ ცდებში არ აღმოჩნდა დამახასიათებელი *B. abortus* კულტურებისათვის ანუ ბრუცელების აღნიშნული სახეობები TSI უარყოფითია.

H_2S-ის ტესტი: ტყვიის აცეტატის ტესტ სტრიპები გამოიყენება ბაქტერიების მიერ გოგირდწყალბადის გამოყოფის აღმოსაჩენად. გოგირდწყალბადის წარმოქმნა შესაძლებელია ბრუცელას მიერ გოგირდის შემცველი ამინომჟავების დაშლის შედეგად. ამისათვის ბაქტერიათა კულტურები ჩავთესეთ კარბორჰიდრატებიან საკვებ ნიადაგზე, კერძოდ სამვალენტიანი შაქრის რკინა. გოგირდწყალბადი შევიდა რა კონტაქტში ტყვიის აცეტატის სტრიპთან, წარმოქმნა შავი პრეციპიტატი, რაც სტრიპზე შავი ფერის რეაქციის წარმოქმნით გამოიხატა. *B. abortus* გოგირდწყალბად დადებითია. (სურათი. 9)



სურ. 9. გოგორგწყალბადის ტესტი.

შრატის აგლუტინაციის ტესტი: შრატის აგლუტინაციის ტესტი გამოიყენება მიკრობებში O-პოლისაქარიდის გვერდითი ჯაჭვის არსებობის დასადგენად, რაც დამყარებულია ჰომოგენური ანტისხეულების შებოჭვაზე. O-პოლისაქარიდის გვერდითი ჯაჭვის არსებობის შემთხვევაში ანტისხეულისა და ანტიგენის ურთიერთქმედებას თან სდევს აგლუტინაცია. გლუვი კოლონიები აგლუტინირდება O-პოლისაქარიდ სპეციფიურ პოლიკლონურ შრატთან, მაშინ როცა ხორკლიანი მიკროორგანიზმები დარჩება სუსპენზიის სახით. *B. abortus* გლუვი მიკროორგანიზმია, რომელიც აგლუტინირდება შრატის არსებობისას.

შრატის აგლუტინაციის ტესტისათვის მინაზე ვაწვეთებდით 30 მკლ. შრატს, შრატში სტერილური მარყუჟით შეგვქონდა 2-3 *B. abortus*-ზე საეჭვო კოლონია. ინგრედიენტებს გულდასმით ურევდით ჰომოგენული ხსნარის მისაღებად. დადებითი რეაქცია მიუთითებს, რომ დატანილი საეჭვო კოლონია მიეკუთვნება *B. abortus*, რაც ჩვენს ცდებში დამახასიათებელია *B. abortus* ყველა იზოლატისათვის.

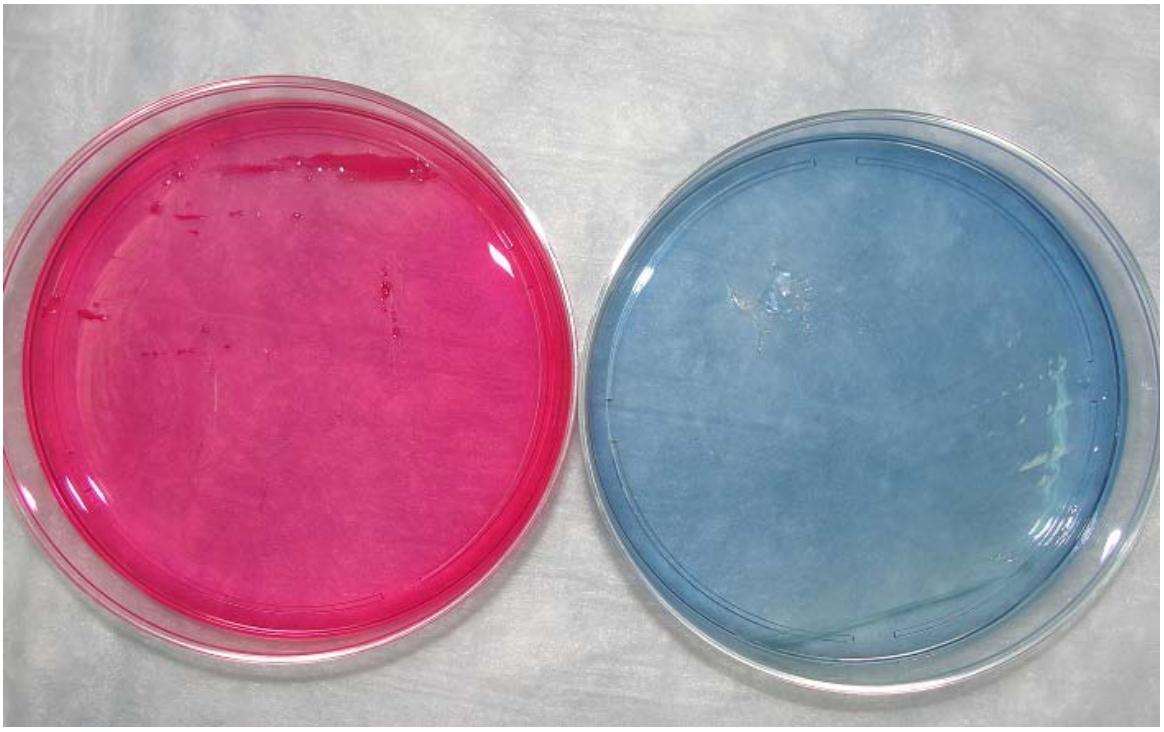
აკრიფლავინის ტესტი: აკრიფლავინის ტესტი გამოიყენება მიკროორგანიზმთა გლუვი ან ხორკლიანი კოლონიების განსაზღვრისათვის. ხორკლიანი კოლონიები განიცდიან აგლუტინაციას ნეიტრალური აკრიფლავინის არსებობის შემთხვევაში. ამ მოვლენას საფუძვლად უდევს რეაქციაში მათი გარეთა მემბრანის სრული ჩართვა. ხორკლიანი მიკროორგანიზმები განიცდიან აგლუტინაციას აკრიფლავინის არსებობისას; მის საპირისპიროდ გლუვი მიკროორგანიზმები აღნიშნულ თვისებას მოკლებულია.

აკრიფლავინის ტესტის ჩასატარებლად სუფთა სასგნე მინაზე შეგვ-

ქონდა აკრიფლავინის ხსნარი 30 მკლ-ის მოცულობით, სტერილური მარყუჟით წვეთში ვხსნიდით 2-3 *B. abortus*-ზე საეჭვო კოლონიას, ჰომოგენური ხსნარის მისაღებად. კომპონენტებს ერთმანეთში გულდასმით ურევდით. *B. abortus*, როლებიც წარმოქმნიან გლუვზედაპირიან კოლონიას არ განიცდის აგლუტინაციას და ხსნარში იმყოფებიან ფიფქების სახით.

ფუძე ფუქსინისა და თიონინის ტესტი: გამოიყენება ბრუცელას სახეობათა იდენტიფიკაციისათვის. ფუძე ფუქსინის შემცველ საკვებ არეებში *B. abortus* კულტურები განიცდიან ინტენსიურ ზრდას; თიონინის შემცველ საკვებ არეებში მათი ზრდა ითრგუნება.

ბრუცელათა ზრდა-განვითარებაზე ფუძე-ფუქსინისა და თიონინის გავლენის დასადგენად *B. abortus* კულტურები გავთესეთ პეტრის ფინჯნებში ჩამოსხმულ, აღნიშნულ ნივთიერებათა შემცველ საკვებ არეებზე. ნათესები ინკუბაციისათვის მოვათავსეთ თერმოსტატში 37^0C-ზე. შედეგები აღვრიცხეთ ინკუბირებიდან 48-72 საათის შემდეგ. გამოკვლევებით დავადგინეთ, რომ ჩვენს მიერ პათ. მასალიდან გამოყოფილი *B. abortus* ოცივე შტამი ინტენსიურად იზრდება ფუძე ფუქსინის შემცველ საკვებ არეზე, რაც შეეხება თიონინიან ნიადაგზე ზრდა არ აღინიშნება. (სურ. 10.)



ა) ბ)

სურ. 10. მგრძნობელობა საღებავზე

ა) ფუძე ფუქსინი (ვარდისფერი): *B. abortus* ზრდა.

ბ) თიონინი (ლურჯი): *B. abortus* ზრდა არ არის.

***B. abortus* იზოლატების ბიოქიმიური თვისებები** ცხრილი 9

№	ბრუცელას კულტურები	გრამით შეღებვა	გლუვი ან ხორკლიანი	CO2	ოქსიდაზა	კატალაზა	ურეაზა	H2S	TSI	თიონინი	ფუძე ფუქსინი
1	0178-b	უარყოფითი	გლუვი	+	+	+	+	+	–	–	+
2	051-m	უარყოფითი	გლუვი	+	+	+	+	+	–	–	+
3	285-b	უარყოფითი	გლუვი	+	+	+	+	+	–	–	+
4	N1-t	უარყოფითი	გლუვი	+	+	+	+	+	–	–	+
5	IM.0014-m	უარყოფითი	გლუვი	+	+	+	+	+	–	–	+
6	IM.0018-m	უარყოფითი	გლუვი	+	+	+	+	+	–	–	+
7	K.K.0519-m	უარყოფითი	გლუვი	+	+	+	+	+	–	–	+
8	T.01-m	უარყოფითი	გლუვი	+	+	+	+	+	–	–	+
9	M.T.02-m	უარყოფითი	გლუვი	+	+	+	+	+	–	–	+
10	K.K.0790-m	უარყოფითი	გლუვი	+	+	+	+	+	–	–	+
11	K.K.1102-b	უარყოფითი	გლუვი	+	+	+	+	+	–	–	+
12	K.1556-m	უარყოფითი	გლუვი	+	+	+	+	+	–	–	+
13	K.1601-m	უარყოფითი	გლუვი	+	+	+	+	+	–	–	+
14	K.1733-m	უარყოფითი	გლუვი	+	+	+	+	+	–	–	+
15	K.1745-m	უარყოფითი	გლუვი	+	+	+	+	+	–	–	+
16	K.1573-m	უარყოფითი	გლუვი	+	+	+	+	+	–	–	+
17	IM.0030-m	უარყოფითი	გლუვი	+	+	+	+	+	–	–	+
18	T.03-m	უარყოფითი	გლუვი	+	+	+	+	+	–	–	+
19	K.K.1109-m	უარყოფითი	გლუვი	+	+	+	+	+	–	–	+
20	K.K.0808-m	უარყოფითი	გლუვი	+	+	+	+	+	–	–	+

3.5.4. *Br. Abortus bovis* იზოლატების ფაგოიდენტიფიკაცია

ბრუცელათა ფაგოიდენტიფიკაცია სპეციფიკური ინდიკატორი ფაგებით ხორციელდება.

ბრუცელათა სპეციფიკური ფაგების მიღების, შესწავლის მედიცინასა და ვეტერინარიაში წარმატებით გამოყენების ადრეული გამოკვლევები ეკუთვის მ. დ. დროჟევკინას (1953). მკვლევარის მიერ მიღებული ბრუცელების პოლივალენტური ბაქტერიოფაგი. ბრუცელოზის აღმძვრელის 174 შტამზე შემოწმებით ფაგი აღმოჩნდა სპეციფიკური. ბაქტერიოფაგი მკვლევარმა წარმატებით გამოიყენა ბრუცელების ინაგლუტინობელური შტამების იდენტიფიკაციისათვის.

თეორიული და პრაქტიკული თვალსაზრისით საგულისხმო ცდებია ჩატარებული ბრუცელოზის სადიაგნოსტიკოდ ფაგის ზრდის რეაქციის გამოყენებაზე. ნ. ნ. ოსტროვსკაიამ, დ. მ. გოლდფარბმა (1959) რეაქციაში ინდიკატორულ ფაგად გამოიყენეს *B. abortus*-ის ტიპოსპეციფიკური ფაგი. მათ დაადგინეს, რომ 72 საათიანი ინკუბაციის პირობებში რეაქცია ხელოვნურად დაინფიცირებულ ბულიონში, ერთეული მიკრობის აღმოჩენის საშუალებას იძლევა. ფტზრ შედარებით ნაკლებად მგრძნობიარეა რძისა და ნიადაგის გამოკვლევისას, რაზედაც გავლენას ახდენს ვულგარული მიკროფლორა.

საკვებისა და სოფლის მეურნეობის ორგანიზაციის (FAO). ექსპერტების დასკვნით (1986), სხვა კომპლექსურ მეთოდებთან ერთად ბრუცელას შტამების დიფერენციაციისათვის რეკომენდებულია თბილისის ელიავას სახელობის ინსტიტუტში მიღებული Tb ფაგის გამოყენება. (მ. ფოფხაძე თანაავტ. 1968წ).

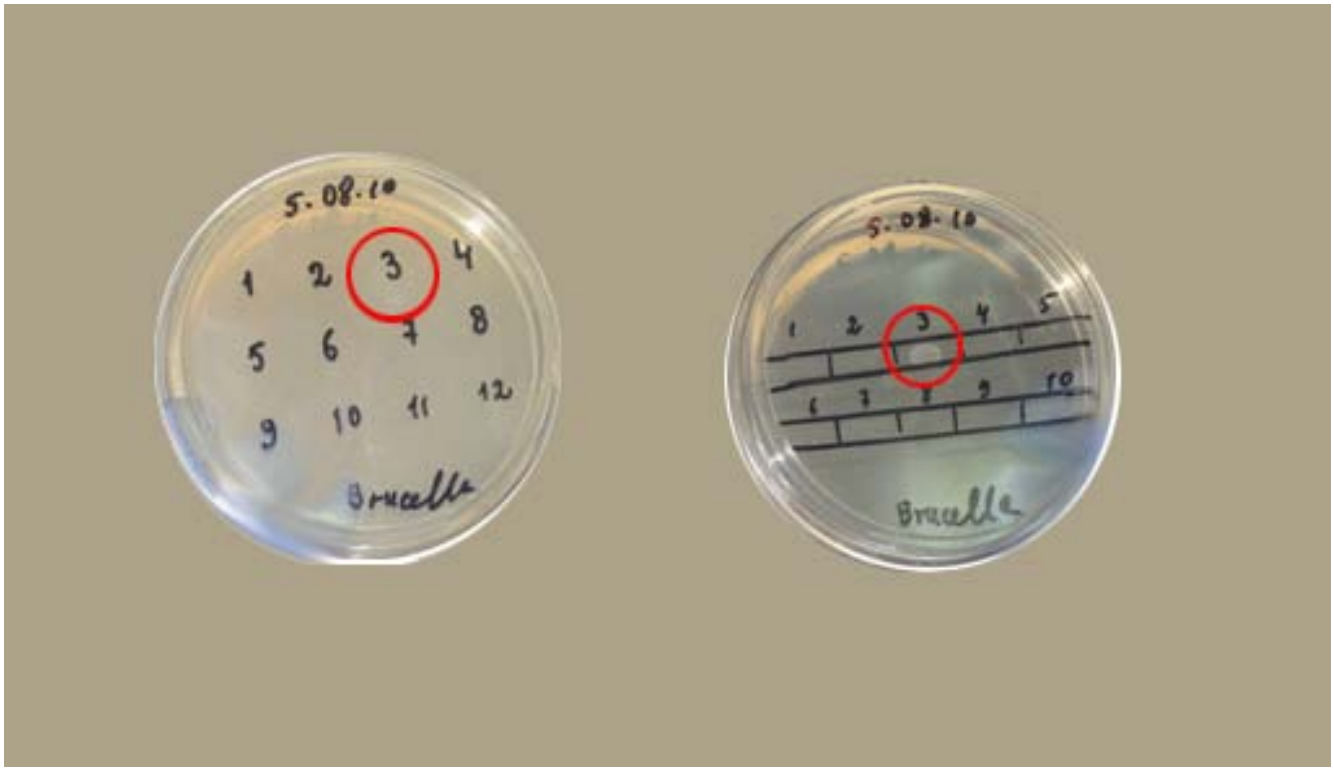
ფაგოტიპირება *Brucella*-ის შტამების იდენტიფიკაციის დამატებითი ტესტია *Brucella*–ის ფაგი და მისი რუტინული ტესტ-განზავება (RTD) ახდენს *B. abortus*-ის გლუვი კოლონიების ლიზისს და იძლევა მცირე ზომის ფოლაქებს. სიხლიდან, შრატიდან, რძიდან და მოგდებული ნაყოფიდან გამოყოფილი *B.abortus* კულტურების ფაგოიდენტიფიკაციისათვის პეტრის ფინჯანში ფარელის ნიადაგის ზედაპირზე ბაქტერიოლოგიური მარყუჟით ვავლებდით 24-საათიანი ბრუცელას ბულიონიანი კულტურის ზონრებს, ოთახის ტემპერატურაზე გაშრობის შემდეგ ზონრებს წვრილწვერიანი პიპეტით ვაწვეთებდით Tb ფაგის რუტინულ ტესტ-განზავების 1 წვეთს (25 მკლ.) წვეთის გაშრობის შემდეგ გადმობრუნებულ ფინჯნებს საინკუბაციოთ ვათავსებდით 10% CO_2-ის პირობებში თერმოსტატში 37^0C-ზე, 48 საათი.

ჩატარებულმა გამოკვლევებმა (ცხრილი 10). გვიჩვენა, რომ შესწავლილი ყველა ოცი შტამი განიცდის ლიზისს Tb სპეციფიკური ფაგით რაც *B. abortus* არსებობის დამადასტურებელია. ფაგით კულტურათა ლიზისის ხარისხმა 3+ და 4+ შეადგინა. (სურ. 11) შესწავლილი 20 კულტურიდან ყველამ განიცადა Tb ფაგით სრული ლიზისი, რომლის ხარისხიც შეფასდა 4+.

ცხრილი 10

B. abortus კულტურების ფაგომგრძნობელობა

№	კუტურათა დასახელება	შედეგები
1	0178-b	4+
2	051-m	4+
3	285-b	4+
4	N1-t	4+
5	IM.0014-m	4+
6	IM.0018-m	4+
7	K.K.0519-m	4+
8	T.01-m	4+
9	M.T.02-m	4+
10	K.K.0790-m	4+
11	K.K.1102-b	4+
12	K.1556-m	4+
13	K.1601-m	4+
14	K.1733-m	4+
15	K.1745-m	4+
16	K.1573-m	4+
17	IM.0030-m	4+
18	T.03-m	4+
19	K.K.1109-m	4+
20	K.K.0808-m	4+



სურ. 11. *B. abortus* კულტურის Tb ფაგით ლიზისი.

3.5.5. *B. abortus bovis* იზოლატების დ.ნ.მ სკრინინგი

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია: პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის პრინციპი ორჯაჭვიანი დ.ნ.მ-ის დენატურაციისას ერთჯაჭვიანი დ.ნ.მ-ის მიღებაში მდგომარეობს, ეს პროცესი მიმდინარეობს ფერმენტების მეშვეობით, დ.ნ.მ-ის მოკლე კომპლემენტარულ მონაკვეთს (პრაიმერი) შეუძლია დაუკავშირდეს დ.ნ.მ-ის ცალკე მყოფ ჯაჭვის სტანდარტულ ფრაგმენტს (მატრიცა). პრაიმერი სცნობს მატრიცას და უკავშირდება (ახდენს ჰიბრიდიზაციას) ამოცნობილ თანამიმდევრობას. პრაიმერი 3'-დაბოლოების გამოყენებით დ.ნ.მ პოლიმერაზა ახდენს დ.ნ.მ-ის ახალი ჯაჭვის სინთეზს (ელონგაცია) – დაგრძელება. დ.ნ.მ-ის რაოდენობის გაორმაგება 1 ციკლის განმავლობაში ხდება. 25 ციკლის შემდეგ $3{,}2X10^7$ დ.ნ.მ-ის მოლეკულაა ამპლიფიცირებული.

პრაიმერებად გამოიყენება სინთეზირებული ერთჯაჭვიანი დნმ (20-30 ნუკლეოტიდი). ორი სხვადასხვა პრაიმერის სექვენსი (გაშიფრული ნუკლეოტიდების თანამიმდევრობა) გამოიყენება გასამრავლებელი რეგიონის ორივე მხრიდან შემოსაზღვრისათვის. ერთი პრაიმერი სამიზნე რეგიონის დასაწყისში კომპლემენტურია დნმ ერთი ჯაჭვისა, მეორე პრაიმერი სამიზნე რეგიონის ბოლოში კომპლემენტურია მეორე ჯაჭვის.

კვლევის პროცესში ჩვენს მიერ გამოყენებულ იქნა მყისიერი პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია, რომელიც ტრადიციულის მოდიფიკაციაა, უფრო სწრაფია და გამოსაყენებლად მოსახერხებელი. თუმცა ტესტს სჭირდება ექსტრაქციის ჩატარება, დ.ნ.მ-ის გამოყოფა. პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის მსვლელობას ვახორციელებდით რამდენიმე ეტაპად: თავდაპირველად ვახდენდით ნიმუშიდან (შრატი, *B. abortus* კულტურა და ა.შ) დ.ნ.მ-ის ექსტრაქციას.

1) დ.ნ.მ-ის ექსტაქცია: 20 მკლ. K პროტეინაზას ვასხავდით 1.5 მლ-იან ეპენდორფის სინჯარაში. ვამატებდით 200 მკლ. ანტიკოაგულირებულ სისხლს ან 10%-იან ქსოვილის ჰომოგენატს. ვამატებდით 200მკლ AL ბუფერს. ვორტექსის საშუალებით ვახდენდით მათ შერევას და ვაჩერებდით საინკუბაციოდ 56^0C-ზე 10 წუთის განმავლობაში. ვამატებდით 200 მკლ. 96-100-იან სპირტს, ისევ ვავორტექსებდით. 620 მკლ. ნარევი გადაგვქონდა Dneasy მინი სვეტში, ვაპიპეტირებდით და ვაცენტრიფუგირებდით 1წთ 6000 x g, სინჯარის ქვედა ნაწილს ვაგდებდით, ხოლო სინჯარის სვეტი გადაგვქონდა ახალ შესაგროვებელ სინჯარაში. შემდეგ ეტაპზე ვამატებდით 500მკლ. AW1 ბუფერი (AW1-ეს არის სარეცხი ბუფერი, რომელიც ნიმუშიდან გამორეცხავს ყველა ზედმეტ ბალასტს, როგორიცაა მარილები ან ცილოვანი ნივთიერებები). ისევ ვაცენტრიფუგირებდით 1წთ. 6000 x g, სინჯარის ქვედა ნაწილს ისევ ვაგდებდით, მინის სვეტს ვდებდით ახალ შესაგროვებელ სინჯარაში. ვამატებდთ 500მკლ. AW2 ბუფერს (ესეც სარეცხი ბუფერია, იგივე ფუნქციას ასრულებს რასაც AW1 და გამორეცხავს დარჩენილ ბალასტს). გავიმეორეთ ცენტრიფუგირება 3წთ. 16,000 x g, სინჯარის ქვედა ნაწილი გადავაგდეთ, მიღებული ექსტრაქტიანი მინის სვეტი გადავიტანეთ შესაგროვებელ სინჯარაში. გავიმეორეთ ცენტრიფუგირების პროცედურა, მშრალად. (16,000 კერძოდ x g,). მიღებილი ექსტაქტიანი მინის სვეტი გადავიტანეთ ეპენდორფის სინჯარაში (რომელიც თავისუფალია რ.ნ.მ-აზასაგან) და დავამატეთ 200მკლ. ბუფერი (შეიძლება გამოყენებული იქნას რ.ნ.მ-აზასაგან თავისუფალი წყალი.) გავაჩერეთ 1 წთ. ოთახის ტემპერატურაზე და დავაცენტრიფუგეთ 1 წთ. 6000 x g. მიღებული ექტრაგირებული დ.ნ.მ მზადაა შემდგომი ტესტირებისათვის (იმ შემთხვევაში თუ PCR-ის გაშვება არ ხერხდება მაშინვე, მაშინ ექსრაგი-

გირებული დ.ნ.მ ინახება მაცივარში -20 ან -80^0 C-ზე.)

2) PCR მასტერ მიქსის მომზადება: ბრუცელას მყისიერი PCR-ით სადიაგ-

ნოსტიკოდ გამოიყენება აიდაჰოს ტექნოლოგით დამზადებული კიტი, რომელიც დაფუძნებულია მშრალ ტექნოლოგიაზე „ლიოფილიზირებული“. ეს იმას ნიშნავს, რომ მწარმოებლის მიერ დამზადებული მასტერ მიქსი მოწოდებულია მშრალი სახით. (მასტერ მიქსი შეიცავს პოლიმერაზას, ოლიგონუკლეოტიდების მოკლე პრაიმერებს, ოთხ დეზოქსირიბონუკლეოტიდებისაგან შემდგარ ასაშენებელ ბლოკებს დნმ-სთვის და კოფაქტორს $MgCl_2$.-ს).

ლიოფილიზირებული ანუ მშრალი მასტერ მიქსის აღდგენას ვახდენდით 40 მკლ. დეიონიზირებული წყლის დამატებით (დადებითი და უარყოფითი კონტროლებისათვის).

3) PCR რეაქცია: სინჯარებში, უცნობი ნიმუშებისთვის, ვამატებდით 40 მკლ. წინასწარ, ჩვენს მიერ ექტრაგირებულ და განზავებულ საკვლევ დ.ნ.მ-ს (4 მკლ. დ.ნ.მ + 36 მკლ. დეიონიზირებული წყალი).

4) PCR ციკლირება: „ლაით ციკლერის“ კაპილარულ სინჯარებში შეგვქონდა 18 მკლ. აღდგენილი რეაგენტები და საკვლევი ნიმუშები. Roche LightCycler 2.0. კაპილართა როტორის მაქსიმალური ტევადობაა 32 კაპილარი. თუ დუბლირებული დადებითი და უარყოფითი კონტროლებისათვის გამოიყენება ოთხი კაპილარი, შესაძლებელია დუბლირებულად გაშვებულ იქნას 14 საკვლევი ნიმუში. შემდეგ ეს სინჯარები ჩავტვირთეთ „ლაით ციკლერის“ კარუსელში ცენტრიფუგირებისათვის. შემდეგ ხდება რეაქციის გაშვება. ერთი გაორმაგების ციკლი მიმდინარეობს 3 ეტაპად:

1) დენატურაცია, 2) ჰიბრიდიზაცია, 3) ელონგაცია. სამივე ეტაპი დამოკიდებულია გარკვეულ ტემპერატურაზე.

1) დენატურაციის დროს დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავა ცხელდება მაღალ ტემპერატურაზე, (94 -97^{0}C-ზე 1 წუთის განმავლობაში). რაც განაპირობებს დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავას ორი ძაფის ერთმანეთისაგან დაშორებას.

2) ჰიბრიდიზაციის დროს ხდება პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის ტემპერატურის შემცირება 50-65^0-მდე 1 წუთის განმავლობაში ისე, რომ პრაიმერებს შესაძლებლობა ეძლევათ დაუკავშირდნენ დ.ნ.მ-ის მატრიცას ანუ მოახდინონ ჰიბრიდიზაცია (ან „ანილირება“ წყალბადის ბმების მეშვეობით) სამიზნე სეკვენსის კომპლემენტარულ ადგილს ორივე ბოლოდან, ეს პროცესი გრძელდება ერთი ან რამოდენიმე წუთის განმავლობაში.

3) ელონგაცია-დაგრძელება, ხდება ტემპერატურის მომატება 72^{0}C-მდე, 1 წუთის განმავლობაში, რომელიც საჭიროა დნმ პოლიმერაზას ფუნქციონირებისათვის ოპტიმალური ტემპერატურის შესაქმნელად. დნმ პოლიმერაზა საწყისი მატრიცის კომპლემენტარულად პრაიმერზე ახდენს დნმ-ის ახალი ასლის აგებას.

ციკლირებისათვის გამოვიყენეთ როშეს ფირმის „ლაით ციკლერი“ (LightCycler 2.0.) სისტემა, რომელიც შედგება ხელაწყოსაგან, პროგრამისაგან, რეაგენტებისაგან და დადგმის მეთოდიკისაგან.

მყისიერი PCR აღმოაჩენს ზოგადად ბრუცელოზის არსებობას ან არ არსებობას მოცემული ნიმუშის დნმ-ში, თუმცა შეუძლებელია

ბრუცელას სახეობის დადგენა, ვინაიდან მყისიერი PCR-ის დროს გამოიყენება გენის ის მონაკვეთი, რომელიც ბრუცელას ყველა სახეობისათვის არის საერთო და მუდმივი.

AMOS-PCR კვლევაში გამოვიყენეთ 5 ოლიგენუკლეოტიდის პრაიმერის კოქტეილს, მათ შორის *Brucella* ერთი გვარის აღმომჩენი პრაიმერი IS*711* სეკვენსისადმი და 4 პრაიმერი სპეციფიური თითოეული სახეობისათვის. აღნიშნული მეთოდი დაფუძვნებულია გენეტიკური ელემენტის IS*711* სახეობის სპეციფიურ განლაგებაზე ქრომოსომაში.

AMOS-PCR წარმატებით გამოიყენება 498 კილოფუძის მქონე ნუკლეოტიდი *B. abortus* დნმ-დან (მსხვილფეხა პირუტყვის ბიოვარ) -1; 2 და 4-ის დიფერენცირებისათვის.

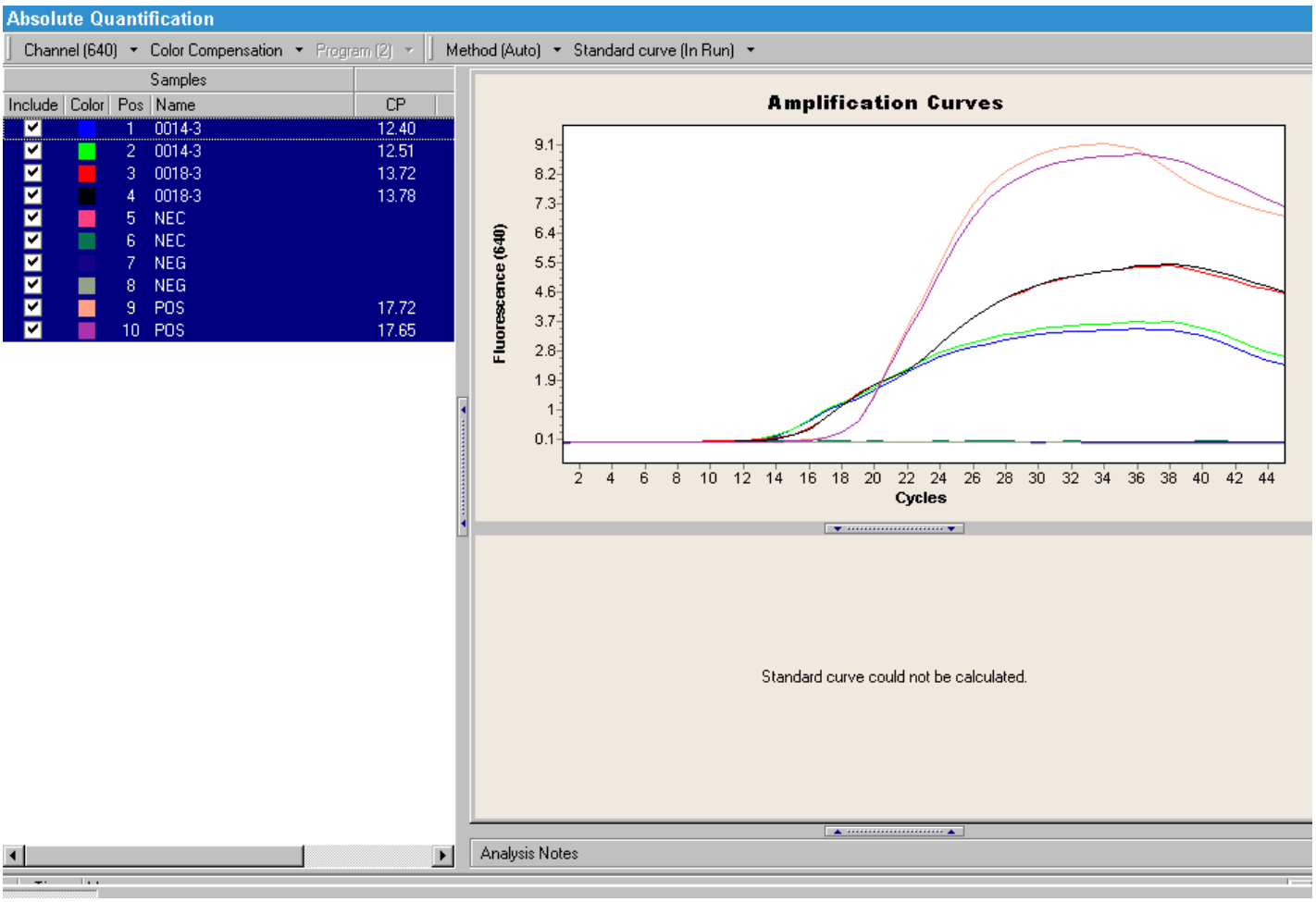
IS*711* პრაიმერი: 5'– TGCCGATCACTTAAGGGCCTTAT –3'

B. abortus პრაიმერი: 5' –GACGAACGGAATTTTTCCAATCCC –3'

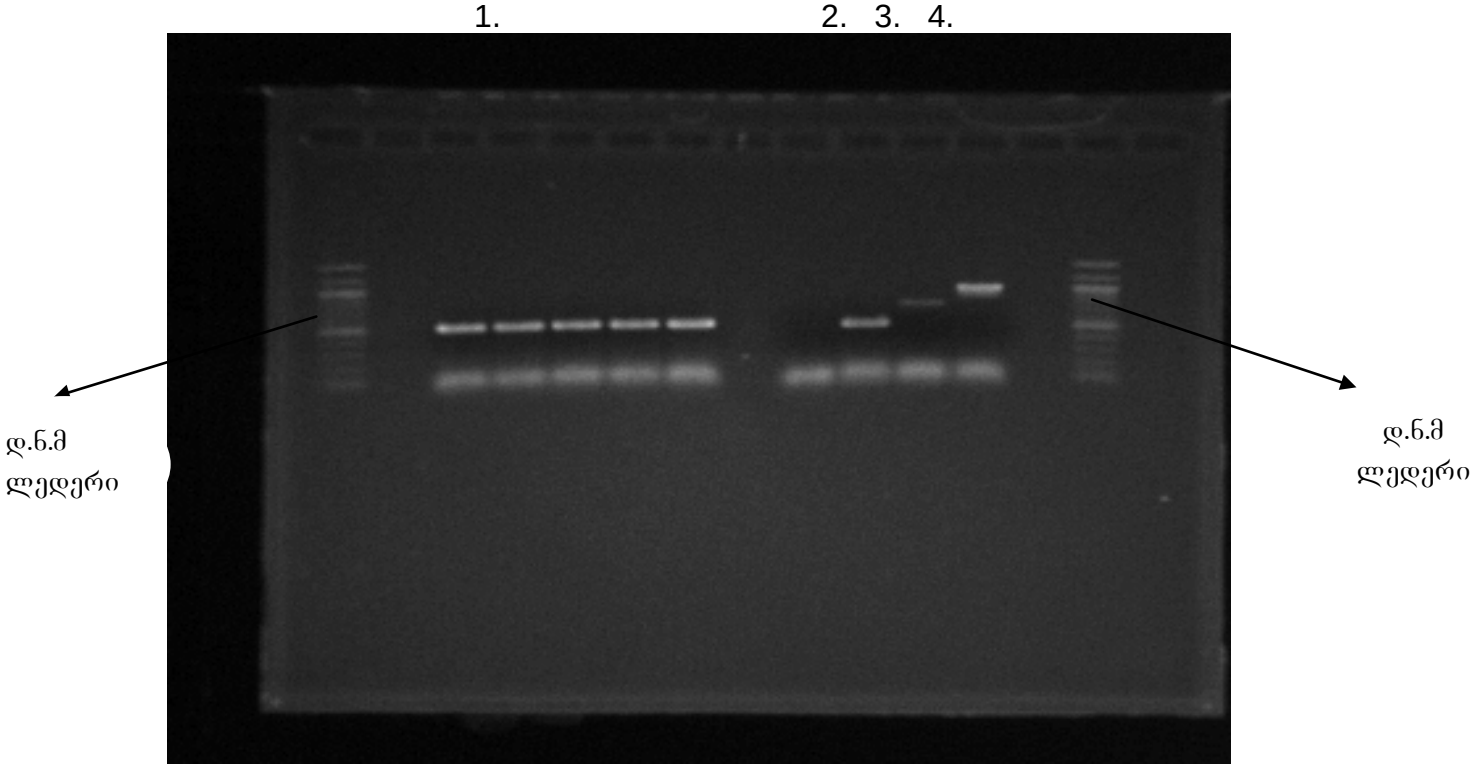
ცდების პროცესში გამოკვლევას დავუქვემდებარეთ სოფლის მეურნეობის სამინისტროს ლაბორატორიაში, საქართველოს სხვადასხვა რაიონებიდან 2008-2010წ.წ. ბრუცელოზზე გამოსაკვლევად შემოსული მოსახლეობის კერძო საკუთრებაში არსებული მსხვილფეხა პირუტყვის 53 სისხლის შრატის, 1253 სისხლის, 577 რძის და 5 მოგდებული ნაყოფის ნიმუშები. (ცხრ. 11). მათ შორის ექსტრაგირებული 53 შრატის ნიმუშიდან მიღებული დ.ნ.მ-ის ნიმუში გამოკვლეულ იქნა მყისიერ PCR-ზე, ჩვენს ცდებში *B. abortus* ოცივე შტამის მიმართებაში შედეგი აღმოჩნდა დადებითი. საინტერესო შედეგი მივიღეთ როგორც რძისა და სისხლის ისე მოგდებული ნაყოფის ნიმუშებიდან მიღებული კულტურების ექსტრაქციის შედეგად, მიღებული დ.ნ.მ-ი გამოვიკვლიეთ

მყისიერი PCR–ით, კულტურას მივიჩნევდით ბრუცელად იმ შემთხვევაში, როდესაც მრუდის კვეთა, რომელიც აისახება კომპიუტერში გრაფიკულად იწყებოდა მე-11-13-ე ციკლიდან მე-40-ე ციკლის ჩათვლით (45-ე ციკლი ითვლება სუსტად დადებითად ან საეჭვოდ)

მოცემული სურათიდან ჩანს, (სურათი 12) რომ კვეთის წერტილი (CP) იმყოფება მე-12-13-ე ციკლებს შორის და მრუდი შესაბამისად არის სიგმოიდური. აღნიშნული პარამეტრები მიუთითებს დადებით შედეგზე. რადგან მყისიერი PCR საშუალებას იძლევა აღმოაჩინოს ბრუცელოზის არსებობა ზოგადად. (დადებითი ან უარყოფითი). მყისიერი PCR-ით მიღებული დადებითი შედეგები დადასტურებულ იქნა AMOS PCR-ით. (სურათი 13).



სურ. 12. მყისიერი პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის დროს დნმ-ის ამპლიფიკაციის დიაგრამა



სურ. 13. AMOS PCR გელში ელექტროფორეზი

1. *B. abortus* საკვლევი ნიმუში.
2. *B. abortus* დადებითი კონტროლი.
3. *B. melitensis* დადებითი კონტროლი.
4. *B. ovis* დადებითი კონტროლი.

ცხრილი 11

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით გამოკვლეული ნიმუშები

№	გამოსაკვლევი მასალა	ნიმუშების რაოდენობა	შედეგები	
			დადებითი	უარყოფითი
1	მოგდებული ნაყოფი	5	1	4
2	რძე	577	16	565
3	სისხლი	1253	3	1250
4	სისხლის შრატი	53	31	22

4. მიღებული შედეგების ანალიზი

ბრუცელოზი განსაკუთრებით საშიშ ინფექციათა შორის მსოფლიო მასშტაბით ისევ რჩება აქტუალურ პრობლემად. ცხოველთა დაცვის მსოფლიო ორგანიზაციის (OIE) მონაცემებით, დედამიწის ხუთივე კონტინენტის 193 სახელმწიფოდან მხოლოდ 38-ია თავისუფალი ბრუცელოზისაგან; ხუთში ინფექცია დაფიქსირებულია გამონაკლისი შემთხვევების სახით. ორმოცდაათ ქვეყანაში დაავადების ერთეული შემთხვევებია აღწერილი. ენზოოტიური გავრცელების ფორმით ბრუცელოზი გვხვდება 38 სახელმწიფოში, ხოლო ექვსში პოულობს ფართე გავრცელებას; განსაკუთრებით ხმელთაშუა ზღვის აუზში, მცირე აზიაში, არაბეთის ყურეში, მექსიკაში, ცენტრალურ და სამხრეთ ამერიკაში აღმოსავლეთ აზიაში, აფრიკაში.

ბრუცელოზი საზოგადოებისათვის ეკონომიკურ და სოციალურ პრობლემას წარმოადგენს. ცხოველთა ბრუცელოზი ფართოდაა გავრცელებული მსოფლიოს ბევრ ქვეყანაში, მათ შორის საქართველოშიც. ის დიდ ეკონომიურ ზარალს აყენებს მეცხოველეობას, ხშირია ადამიანთა ბრუცელოზით დაავადების შემთხვევებიც. ბრუცელოზიანი ადამიანი ძალიან ძნელად ინკურნება, ხშირად იგი რჩება ინვალიდად შრომისუნარიანობის დაკარგვის გამო. ადამიანთა დაავადების აღკვეთის საიმედო გარანტს წარმოადგენს ამ ინფექციის სრული და შეუქცევადი ლიკვიდაცია ცხოველებს შორის.

ცხოველთა ბრუცელოზის ლიკვიდაცია ძალზე ძნელია, რაც აიხსნება რიგი ობიექტური მიზეზებით. ძირითადი ამ მიზეზთაგან შემდეგია: პათოგენობის ფართე სპექტრი, რაც სახეობრივი მრავალფეროვნებით არის გამოწვეული; დაავადების მაღალი კონტაგიოზურობა; აღმძვრელის

უნარი, ხანგრძლივად იარსებონ გარემოში (0,5-დან 5 თვემდე); ცხოველურ პროდუქტებსა და (10-დან 320 დღემდე) და ცხოველის ორგანიზმში. ბრუცელების გადაცემის მექანიზმსა და ცხოველთა დაინფიცირების, აგრეთვე, ინფექციის გავრცელების გზების მრავალნაირობა; ხანგრძლივი ინკუბაციური პერიოდი; მხოლოდ ბრუცელოზისათვის დამახასიათებელი რაიმე განსხვავებული კლინიკური ნიშნების უქონლობა. ლიტერატურაში აღწერილია ავადმყოფი ცხოველის ორგანიზმიდან აღმძვრელის შვიდი და უფრო მეტი ხნის განმავლობაში გამოყოფის შემთხვევები.

ბრუსისა და ბანგის მიერ ბრუცელას აღმოჩენიდან კოლოსალური რაოდენობის კვლევებია ჩატარებული მსოფლიოს სხვადასხვა ქვეყნებში, შესწავლილია საკითხთა ფართე ჩამონათვალი, რომელიც შეეხება ცხოველთა ბრუცელოზს. მიუხედავად დიაგნოსტიკის, მკურნალობისა და პრევენციის მიმართებაში არსებული წარმატებისა ბრუცელოზი კვლავ რჩება გლობალური მასშტაბის პრობლემად ჯანდაცვისა და ვეტერინარიისათვის.

ჩვენს მიერ ჩატარებული გამოკვლევები ითვალისწინებდა საქართველოს სხვადასხვა რეგიონებში ბრუცელოზის გავრცელების დინამიკას და კარტირებას. სისხლის შრატების გამოკვლევას როზ-ბენგალ სინჯით და კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზით, მათი სადიაგნოსტიკო ღირებულების დადგენას, პათ. მასალიდან *B. abortus* კულტურათა გამოყოფას და ეტიოლოგიური როლის დადგენას მორფოლოგიური, კულტურალური ნიშან-თვისებების შესწავლით, პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით დნმ-ს სკრინინგს და დნმ. ანალიზით *B. abortus* კულტურათა იდენტიფიცირებას.

სტატისტიკური მასალის გაანალიზებით ბრუცელოზი უპირატესად

აღმოსავლეთ საქართველოშია გავრცელებული, მათ შორის დაავადების ხშირი შემთხვევები მოდის კახეთში, ქვემო-ქართლში და მცხეთა-მთიანეთში.

2008-2011წ.წ. მსხვილფეხა პირუტყვის სისხლიდან ჩვენს მიერ გამოყოფილი შრატების შესწავლამ გვიჩვენა, რომ: 2008 წლის განმავლობაში პირუტყვის ბრუცელოზზე გამოსაკვლევად შემოსული 3082 სისხლის შრატის სინჯებიდან, როზ-ბენგალ ტესტით დადებითი აღმოჩნდა 348, ანუ 11.30%, 2009 წელს ბრუცელოზზე გამოკვლეული მსხვილფეხა პირუტყვის 6740 სისხლის შრატის სინჯიდან - 724, (10.74%). ხოლო 2010 წელს მსხვილფეხა პირუტყვის 3654 სისხლის შრატიდან -351 შემთხვევაში, (9.61%). 2011 წელს შემოსული და გამოკვლეული 1699 სისხლის შრატიდან, როზ-ბენგალ ტესტით დადებითებმა – 227, ანუ 9,42% შეადგინა.

ყველა ზემოთ ჩამოთვლილი როზ-ბენგალ დადებითი შრატების დადასტურება მოხდა კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზით. შედეგები იდენტურია. რაც მიუთითებს აღნიშნული მეთოდების სიზუსტესა და სპეციფიურობაზე.

პარალელურად 2008-2011წ.წ. ფურების რძის გამოკვლევას ვახდენდით რძის რგოლური რეაქციით. გამოკვლევებს დავუქვემდებარეთ საქართველოს სხვადასხვა რაიონებიდან სოფლის მეურნეობის სამინისტროს ლაბორატორიაში შემოსული მოსახლეობის კერძო საკუთრებაში არსებული 97 ფურის რძე.

მათ შორის 2008წ. 6 ნიმუში, 2009წ. – 12, 2010წ. –37, 2011წ. –42 ნიმუში. გამოკვლეული 97 რძის სინჯიდან 17 შემთხვევაში რგოლური რეაქცია აღმოჩნდა დადებითი, მათ შორის 2008წ. -1, (16.67%), 2009წ. – 4, (33.34%),

2010წ. -7, (18.925), 2011წ. -5, (11.9%). აღსანიშნავია, რომ ჩვიდმეტივე დადებითი შემთხვევა აღირიცხა მკვეთრ დადებით რეაქციად (+++), რასაც ადასტურებს სინჯარაში ნაღების ფენაში ტიპური ლურჯ ფერში შეღებილი რგოლის წარმოქმნა.

2010-2011წ.წ.-ის განმავლობაში საკვალიფიკაციო თემაზე მუშაობის ერთ-ერთ ძირითად მიმართულებას წარმოადგენდა მსხვილფეხა პირუტყვის პათ. მასალიდან *B. abortus* კულტურათა გამოყოფა და იდენტიფიცირება. ცდების პროცესში გამოკვლევას დავუქვემდებარეთ საქართველოს სამი რეგიონიდან (ქვემო ქართლი, კახეთი და იმერეთი) 2008-2010წ.წ. შემოსული 1253 სისხლის 577 რძის და 5 მოგდებული ნაყოფი, აგრეთვე 53 შრატის ნიმუში. სისხლის, რძის და მოგდებული ნაყოფის ყველა ნიმუში, *Brucella*-ს გამოსაყოფად ვახდენდით ჩათესვას ხელოვნურ საკვებ არეებზე, კერძოდ ბრუცელას სელექტიურ ნიადაგზე და სისხლიან აგარზე, ნაცხების შეღებვას ვახდენდით გრამით და კოზლოვსკის მეთოდით. გრამის წესით შეღებილ პრეპარატში მიკროსკოპირებისას ვნახულობდით წყვილ-წყვილად განლაგებულ გრამუარყოფით კოკობაცილებს (წითელი ფერის), ხოლო კოზლოვსკის მეთოდით შეღებილ ნაცხებში მოწითალო ცალ-ცალკე ან დიპლოკოკებად დალაგებულ კოკობაქტერიებს. ბრუცელების ბიოქიმიური თვისებების დადგენა მოიცავდა: ოქსიდაზას, ურეაზას, კატალაზას ტესტებს, სამშაქრიანი რკინის მეტაბოლიზმს, გოგირდწყალბადის წარმოქმნას.

B. abortus ოქსიდაზა და ურეაზა დადებითია. ოქსიდაზას ტესტით ხდება ფერმენტ ციტოქრომ ოქსიდაზას აღმოჩენა, ის გამოყენება გრამ-უარყოფითი ბაქტერიების ბიოქიმიური ტესტირებისათვის. ჩვენს მიერ გამოყოფილი *B. abortus* ყველა იზოლატი ოქსიდაზა დადებითია, რასაც

ადასტურებს აღნიშნული ტესტის ჩატარებისას ლურჯი ფერის წარმოქმნა.

ურეაზას ტესტი გამოიყენება მიკრორგანიზმის მიერ ფერმენტ ურეაზას საშუალებით შარდოვანას ჰიდროლიზის თვისებაში. ჩატარებული გამოკვლევებით დავადგინეთ, რომ *B. abortus* ყველა შტამი, იწვევს ვარდისფერ-წითელი ფერის წარმოქმნას, რაც დადებითი ურეაზას ტესტის მაჩვენებელია. თუმცა ფერის შეცვლა უფრო ნელა მიმდინარეობს ვიდრე ბრუცელა ურეაზა დადებით სხვა სახეობებში.

B. abortus წარმოქმნიან გოგირდწყალბადს რასაც ადასტურებს ტესტ-სტრიპზე შავი შეფერილობის მიღება. ბრუცელები TSI-უარყოფითია.

ბრუცელას სახეობათა იდენტიფიკაციისათვის ჩვენს მიერ აგრეთვე გამოყენებულ იქნა თიონინისა და ფუძე ფუქსინის საღებავებიც. *B. abortus* იზრდებიან საკვებ არეში ფუძე ფუქსინის არსებობისას, მაშინ როდესაც თიონინიან საკვებ არეში *B. abortus* არ იზრდებიან.

Brucella-ას კოლინიების მორფოლოგიის დასადასტურებლად გამოვიყენეთ აკრიფლავინის და კრისტალ ვიოლეტის ტესტები. *B. abortus* მიკროაეროფილია, ზრდისათვის საჭიროებს 10-15% CO_2-ს. აღნიშნულის გათვალისწინებით *B. abortus* კულტურების გამოზრდას ვახდენდით 10-15%CO_2 -იან გარემოში.

საკვებისა და სოფლის მეურნეობის ორგანიზაციის (FAO), ექსპერტების რეკომენდაციების გათვალისწინებით (1986), სხვა კომპლექსურ მეთოდებთან ერთად *B. abortus* გამოყოფილი შტამების დიფერენციაციისათვის გამოვიყენეთ ბაქტერიოფაგის, მიკრობიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის ინტიტუტში მიღებული Tb ბაქტერიოფაგი.

აღნიშნული ტესტი გამოიყენება, როგორც დამატებითი *Brucella*-ის შტამების იდენტიფიკაციისათვის.

ჩატარებულმა გამოკვლევებმა გამოავლინა *B. abortus* მაღალი მგრძნობელობა Tb ფაგის მიმართ. ბაქტერიოფაგით შესწავლილი კულტურების ლიზისის ხარისხმა 15 შემთხვევაში შეადგინა 4+, ხოლო 5 შემთხვევაში 3+. მიღებული შედეგები თვალნათლივ ადასტურებს, რომ გამოყოფილი შტამები მიეკუთვნება ტიპურ *B. abortus* სახეობას.

ყველა ზემოთ ჩამოთვლილი ტესტირების შედეგად მიღებულ იქნა *B. abortus* 20 საეჭვო კულტურა, რომელთა დადასტურება მოხდა მყისიერი PCR-ით და AMOS-PCR-ით. 31 შრატის ნიმუში დადებითი იყო ბრუცელოზზე.

ბრუცელოზის პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით დიაგნოსტირებაზე მრავალი მკვლევარი მუშაობდა მთელს მსოფლიოში. (Fekete A. et. al., 1990; Baily G.G. et. al., 1992; Bricker B.J. et. al.,1994; Leal-Klevezas D.S. et. al., 1995; Romero C. et. al., 1995; Куличенко А.Н. 1995; Rijpens N.P. et.al. 1996;

Гаранина С.Б. 1996; Шумилов К.В.с соавт. 1996, 1998.).

ბოლო პერიოდში აღინიშნება დნმ ტექნოლოგიის ინტენსიური განვითარება, რომლის ობიექტური მიზეზები გახდა რევოლუციური აღმოჩენები მოლეკულურ ბიოლოგიაში და გენურ ინჟინერიაში. რამაც უზრუნველყო ლაბორატორიული მეთოდოლოგიის ახალი მიმართულების ჩამოყალიბება –ინფექციური დაავადებების გენოდიაგნოსტიკა. გენეტიკური დიაგნოსტიკის პრინციპი მოიცავს სხვადასხვა მეთოდებით განისაზღვროს სპეციფიური საკვლევი მიკროორგანიზმის ნუკლეინისმჟავას უბანი (დნმ ან რნმ). გენოდიაგნოსტიკის ძირითადი

მიმართულებებია დნმ ზონდირება და ნუკლეინის მჟავების ამპლიფიკაციის მეთოდები.

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის დადგმის ტექნიკა შედარებით ხელმისაწვდომია და ამასთან ერთად უზრუნველყოფს საკმაოდ მაღალეფექტურობას, სპეციფიურობასა და ანალიზის მგრძნობელობას.

გამოკვლევის შედეგების ანალიზმა გვიჩვენა, რომ სანიტარულ-ეპიდემიოლოგიური კეთილსაიმედოობის უზრუნველსაყოფად, ბრუცელოზის საწინააღმდეგოდ ღონისძიებების ეფექტურად გატარება საჭიროებს დაავადებული ცხოველების დროულ გამოვლინებას და დაავადების სწრაფ დიაგნოსტიკას. სეროლოგიური დიაგნოსტიკისათვის ერთ-ერთი ყველაზე პერსპექტიული მეთოდია კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზი და თანამედროვე მოლეკულურ-გენეტიკური კვლევის მეთოდი – პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია.

5. დ ა ს კ ვ ნ ე ბ ი

1. ბრუცელოზი უპირატესად აღმოსავლეთ საქართველოშია გავრცელებული 2,09%, დასავლეთ საქართველოში – 1,5%-ია.
2. 2005-2011წ.წ. გამოკვლეული 375426 სული მსხვილფეხა პირუტყვიდან ბრუცელოზით დაავადებულთ რიცხვმა როზ-ბენგალ სინჯით და კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზით 9493 (2,53%), ხოლო 2191 რძის ნიმუშის რგოლური რეაქციით გამოკვლევით 103 (4,71%) შეადგინა.
3. საქართველოში მსხვილფეხა პირუტყვის ბრუცელოზით დაავადების შედარებით მაღალი ინტენსივობა 2007, 2008, 2009 და 2010 წლებში აღინიშნა. დაავადებაზე განსაკუთრებით არაკეთილსაიმედო რეგიონებია: კახეთი, ქვემო ქართლი, მცხეთა-მთიანეთი, იმერეთი.
4. როზ-ბენგალ სინჯი ბრუცელოზით დაავადებული მსხვილფეხა პირუტყვის გამოვლენის სწრაფი და სპეციფიკური სეროლოგიური რეაქციაა. მისი საშუალებით ბრუცელოზზე დიაგნოზის დასმა უმოკლეს დროში 4 წუთში ხორციელდება. როზ-ბენგალ სინჯით გამოვლენილი შედეგები საჭიროებს იმუნოფერმენტული ანალიზით შემდგომ დაზუსტებას.
5. როზ-ბენგალ სინჯით და კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზით გამოვლენილი ბრუცელოზზე დადებითი შედეგები თანხვედრილია.
6. კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზი ბრუცელოზის დიაგნოსტიკის მაღალმგრძნობიარე და ზედმიწევნით სპეციფიკური მეთოდია, რომელიც დაავადებული და ვაქცინირებული ცხოველების დიფერენცირების საშუალებას იძლევა.
7. *B. abortus* გრამუარყოფითი კოკობაცილაა, გრამის და კოზლოვსკის

წესით შეღებვისას იღებებიან ღია ვარდისფერში, აგარზე წარმოქმნიან ტიპურ S ტიპის კოლონიებს. სელექტიურ ფარელის საკვებ აგარზე კულტივიებისას მნიშვნელოვნად ჩქარდება მათი ზდრა-განვითარება და პირველი გენერაციის მიღება 48-72 საათშია შესაძლებელი.

8. პათ. მასალიდან გამოყოფილი *B. abortus* კულტურები ტიპური ბრუცელოზის აღმძველებია. ისინი ხასიათდებიან კატალაზური აქტივობით- ოქსიდაზა და ურეაზა დადებითია, გამოიმუშავებენ გოგირდწყალბადს. TSI-უარყოფითებია. კულტივირებისათვის საჭიროებენს 10-12% CO_2-ს.
9. პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია, მსხვილფეხა პირუტყვში ბრუცელოზის მწვავე და ქრონიკული ფორმის დიაგნოსტიკის მაღალმდრძნობიარე, ეფექტური და სწრაფი მეთოდია.
10. პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციისათვის დამახასიათებელია აბსოლუტური სპეციფიკურობა, აპრობირებული მეთოდიკით ჩატარების შემთხვევაში ცრუ დადებითი შედეგის მიღება გამორიცხულია. AMOS PCR საშუალებით ზუსტად ხორციელდება ბრუცელების სახეობათა დიფერენცირება, რაც დაავადების საწინააღმდეგო ღონისძიებათა დროულად და ეფექტურად გატარების საფუძველია.

6. პრაქტიკული წინადადებები

1. ბრუცელოზის სეროდიაგნოსტიკისათვის როზ-ბენგალ ტესტის დასადასტურებლად იმუნოფერმენტულ ანალიზს, რომელიც მნიშვნელოვნად სწრაფი, ეფექტური და მაღალმგრძნობიარეა.

2. *B. aborus* შტამების კულტივირებისა და იდენტიფიკაციისათვის: სელექტიური ფარელის აგარის, ურეაზას, ოქსიდაზას, კატალაზური აქტივობის დადგენის, გოგირწყალბადის წარმოქმნის ტესტებსა და Tb ფაგით ტიპირების გამოყენებას.

3. რაიონულ და საველე ლაბორატორიებში მოლეკულურ-ბიოლოგიური კვლევის სწრაფ და ეფექტურ მეთოდს-პოლიმერაზულ ჯაჭვურ რეაქციას (პ.ჯ.რ), რომელიც საშუალებას იძლევა ჩატარდეს ბრუცელათა გენეტიკური ანალიზი.

4. ბრუცელათა სახეობების, ბიოტიპებისა და შტამების სწრაფი დიფერენცირებისათვის AMOS PCR ტესტის ფართედ გამოყენებას.

7. გამოყენებული ლიტერატურა

1. ბაბაკიშვილი ჯ., მამაიაშვილი მ., ცხაკაია თ., კერესელიძე მ. „ცხოველთა ინფექციური დაავადებები". თბილისი 2005, გვ.53-65.

2. გამყრელიძე ი., ბერიანიძე ე., ბაბაკიშვილი თ. „რძის გამოკვლევა ბრუცელოზზე." აგრარული მეცნიერების პრობლემები, სამეცნიერო შრომათა კრებული, XXXI თბილისი. 2005წ. გვ.184-186.

3. კოლიაკოვი ი. „ვეტერინარული მიკრობიოლოგია" თბილისი 1987წ. გვ.73-82.

4. ლომინეიშვილი მ., გავაშელი თ. „ბრუცელოზი და მისი საწინააღმდეგო ღონისძიებები" თბილისი. 1995.

5. ნათიძე მ., ჭანიშვილი თ., გომარელი გ. „ბაქტერიოფაგი". თბილისი 1989წ.

6. ნათიძე მ. „სასოფლო-სამეურნეო ცხოველების ინფექციურ დაავადებათა სეროლოგიური დიაგნოსტიკა." თბილსი 1989წ.

7. ნათიძე მ., გაბისონია ტ., რიგვავა ს. „ზოგადი ვირუსოლოგია". თბილისი 1996წ. გვ. 147-148.

8. ნათიძე მ., გაბისონია ტ., ნათიძე თ., რიგვავა ს. „ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევების საფუძვლები სავეტერინარო მედიცინაში". თბილისი 2005წ. გვ. 98-102.

9. ნათიძე მ., გიორგაძე მ. „ბრუცელოზის აღმძვრელი". მეთოდური მითითება სავეტერინარო მედიცინისა და მეცხოველეობის პროდუქტების წარმოებისა და გადამუშავების ფაკულტეტის სტუდენტებისათვის. თბილისი 2006წ.

10. ნათიძე მ., მაჩიტიძე ც., ყოჩიაშვილი შ., რამიშვილი გ., ღვალაძე ლ. „მსხვილფეხა პირუტყვის ბრუცელოზის სადიაგნოსტიკოდ ხედლსონის რეაქციის აპრობაცია." საქართველოს სახელმწიფო ზოოტექნიკურ-

სავეტერინარო უნივერსიტეტის შრომათა კრებული. თბილისი 2005წ. 303-306.

11. ნათიძე მ., სარჯველაძე მ. „ხედლსონის რეაქციის მოდიფიკაცია და ბრუცელოზის სადიაგნოსტიკოდ გამოყენების შედეგები“. საქართველოს სოფლის მეურნეობის მეცნიერებათა აკადემიის მოამბე 15. თბილისი 2006წ. 202-204.

12. Абдулин Х. Х. Серологическая диагностика бруцеллеза и пути повышения ее эффективности //Научные труды КазНИВИ., Казань, 1980.-Т. 135. -С.16-20.

13. Авилов В. М., Селиверстов В. В., Пылинин В. Ф., Шумилов К. В., Калмаков В. В. Бруцеллез животных и его специфическая профилактика // Ветеринария.-1997-№7-С.3-13.

14. Адаме М. Бактериофаги: Пер. сангл.- М.: Иностраннаялитература,1961.-528с.

15. Алтухов Н. М., Афанасьев В. И. «Справочник ветеринарного врача». Москва. «Колос» 1996г.

16. Аляпкина Ю. С., Аксенов М. Ю., Чернов Б. К., Гинцбург А. Л. Количественный ПЦР-анализ: разработка системы определения содержания амплифицированно-го фрагмента ДНК // Молекул, генет., микробиол. и вирусол. 1994. - № 5. - С. 22-26.

17. Антонов Б. И. Лабораторные исследования в ветеринарии. М.: Агропромиздат, 1986. -265 с.

18. Антонов Б. И., Шумилов К. В., Скляров О. Д. / Реакция иммунодиффузии в агаровом геле (РИД) с О-ПС антигеном ИЭВСиДВ при диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота // Ветеринария. 1994.-№ 8. - С. 19-21.

19. Артёмов В. Т. «Эпизоотология и инфекционные болезни». Москва «Колос» стр.1993г. стр.-688.

20. Ассонов Н. Р. «Микробиология». Москва. «Колос» 2002. стр.-350.

21. Балахонов С. В., Шестопалов М. Ю., Калиновский А. И. Оптимизации детекции бруцелл с помощью полимеразной цепной реакции // Молекул, генет., микробиол. и вирусол. 1996.-№4.-С.33-35.

22. Баташев В. В., Уралева В. С., Кучин Г. А. с соавт. Эпидемиологическая характеристика бруцеллеза в современных условиях // Журн. микробиол. 1998. - № 3. - С. 24-26.

23. Бельченко В. Б., Сайдашева С. Е. Роз-бенгал проба при диагностике бруцеллеза у крупного рогатого скота // Вестник сельскохозяйственной науки Казахстана. 1980. - № 4. - С. 66-68.

24. Буткин Е. И. Бруцеллез. В кн. Эпизоотология с микробиологией под ред. Бакулова И. А. // М., "Колос", 1981.

25. Воробьев А. Л., Султанов А. А., Тен В. Б. // Бактериофаги и вирулентнось бруцелл.// Ветеринария. 2005. № 10. С-27

26. Гандара Б., Желудков М. М., Чернышева М. И. Оценка эффективности методов лабораторной диагностики бруцеллеза.// ЖМЭИ.- 1994.- №4,- С.55-58.

27. Гаранина С. Б. Конструирование тест-системы, основанной на полимеразной цепной реакции, для детекции возбудителя бруцеллеза: Автореф. дис. . канд. биол. наук. Саратов, 1996. - 19с.

28. Григорьева Г. И., Сочнев В. В., Бацанов Н. П., Филиппов Н. В. //Бруцеллы и бруцеллез.// Н. Новгород. - 1998. - 245-246с.

29. Девришев Д. А., Янышев А. А. //Результаты эпизоотологического анализа по бруцеллёзу животных.// Ветеринария. 2007. №6. С-12.

30. Дегтяренко Л. В., Новицкий А. А., Разницына Г. В., Власова С. А., //дифференцальная диагностика бруцеллёза крупного рогатого скота, привитого вакциной из штамма 82. Ветеринария. 2002. №1. С.17.

31. Дентовская С. В., Куличенко А. Н. Использование молекулярно-генетических подходов для лабораторной диагностики бруцеллеза // Пробл. особо опасных инф. Саратов, 1999.-С.3-11.

32. Дрожевкина М. С. Бруцеллезный бактериофаг. Явление бактериофагии в бруцеллезных культурах и выделение первых штаммов бактериофага //ч. Журн. микробиол- 1951.-№ 11.-С.34-37.

33. Дрожевкина М. С. Поливалентный бруцеллезный бактериофаг, его специфичность и валентность // Тр. Ростов. н/Д. гос. науч.-исслед. противочумного ин-та.- 1957.- Т.XII.- С.392-402.

34. Дрожевкина М. С., Киселева В.И. Новый поливалентный фаг для идентификации бруцелл // Диагностика особо опасных инфекций Изд-во Ростов. ун-та, 1968-С.150-154.

35. Дубинина И.Г., Щербо С. Н. Роль метода полимеразной цепной реакции в генодиагностике // В кн: Новые генетические технологии.М.,1998.-С.20-37.

36. Желудков М. М., Павлова И. П., Умнова Н. С., Перекопский И. С. //Иммуноферментный метод в диагностике бруцеллеза у людей.// ЖМЭИ.- 1986,- №8.- С.59-63.

37. Желудков М. М., Павлова И. П. Иммуноферментный метод - универсальный метод диагностики бруцеллеза./ В сб. Применение иммуноферментного анализа в медицине (тезисы докл.).-Харьков.-1989.- С.87-88.

38. Желудков М. М., Кулаков Ю. К., Алексеева Н. В., //Использование иммуноферментного анализа и полимеразной цепной реакции для оценки персистенции возбудителя бруцеллеза.// ЖМЭИ.- 2003,- №4,- С.67-71.

39. Желудков М. М., Кулаков Ю. К., Алексеева Н. В., .Толмачева Т. А. ПЦР в диагностике бруцеллеза. // Клин, лабор. диагностика.- 2005.- №9,- С.58-59.

40. Желудков М. М., Кулаков Ю. К., Толмачева Т. А. Метод ПЦР для идентификации и дифференциации бруцелл. // В сб. Материалы IX съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов.-2007.-М.-ЧЗ.-С.54.

41. Жованик П. Н., Демченко А. В., Божко Г. К., Коротич А. С. Бруцеллез /Киев: Урожай, 1975. - 224 с.

42. Иванов М. М. Диагностика и борьба с бруцеллезом // Научные труды ГНКИ.-1975.-21.-С. 125-134.

43. Иванов М. М., Малахова Т. И., Ватке Б. Испытание Роз-бенгал антигена при диагностике бруцеллеза у животных // Ветеринария. 1976. - № 9. - С. 8789.

44. Кайтмазова Е. И., Чернышева М. И. Лабораторная диагностика бруцеллеза // Бруцеллез: под ред. П. А. Вершиловой. М.: Медицина, 1972. - 21 с.

45. Калиновский А. И., Иннокентьева Т. И., Лемешко Р. А., Гордеев П. П. Современные аспекты эпидемиологии и профилактики бруцеллеза // Журнал инфекционной патологии 1998 - Т.5, №.4 -С.6-11.

46. Каплун В. И., Колыванова Г. Е. «Методы диагностики и профилактики бруцеллёза и туберкулёза животных». Омск. 1988г. стр. 127-132.

47. Кассал Б. Ю. «Бруцеллёз сельскохозяйственных животных». Омск 1989г. стр.88-98.

48. Козловский С. В., Емельяненко П. А. «Ветеринарная микробиология» Москва «Колос» 1982г. стр.304 .

49. Колычев Н. М., Росманов Р. Г. «Ветеринарная микробиология и иммунология» Москва «Колос» 2003г. стр.432.

50. Косилов И. А. Бруцеллез сельскохозяйственных животных. -Новосибирск, 1992. 259 с.

51. Косилов И. А., Аракелян П. К., Димов С. К., Хлыстунов А. Г. Бруцеллез

сельскохозяйственных животных. Новосибирск, 1999. 342с.
52. Косилов И. А. Бруцеллез сельскохозяйственных животных // Новосибирск, 1992.
53. Костенко Т. С., Скаршевская Е. И., Гительсон С. С. «Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии». Москва. «агропромиздат» 1989г. стр. 272.
54. Кулаков Ю. В., Желудков М. М., Селютина Д. Ф., Разработка современных средств диагностики и профилактики бруцеллеза с использованием методов генной инженерии. Мол. генетика, микробиол. и вирусол.-1994.-№5.- С.32-34
55. Кулаков Ю. К., Желудков М. М. Молекулярные основы вирулентности бруцелл.// Мол. генетика, микробиол. и вирусол.-2001.- №4.- С.8-12.
56. Кулаков Ю. К., Желудков М. М. Молекулярные основы персистенции бруцелл. / ЖМЭИ.- 2006.- №4 - С.72-77.
57. Кулаков Ю. К., Горелов В. Н., Мотин В. JI. Высокочувствительная неизотопная система гибридизации ДНК с применением амплификации (ПЦР) для идентификации и индикации бруцелл // Молекул, генет., микробиол. и вирусол.- 1992.- № 7-8. С. 23-27.
58. Куличенко А. Н. Конструирование молекулярно-генетических систем для детекции возбудителей особо опасных инфекций: чумы, бруцеллеза и сибирской язвы: Автореф. дис. . докт. мед. наук. Саратов, 1995. - 38 с
59. Куличенко А. Н., Гаранина С. Б., Амплеева Э. А., Попов Ю. А., Дроздов И. Г. Способ детекции бруцелл при помощи полимеразной цепной реакции // Пробл. особо опасных инф. 1994. - № 4 (74). - С. 165-172.
60. Логинов, Ф.С. К вопросу применения кольцевой реакции с цельным молоком для диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота. // Ветеринария. 1956. №2. - С.37.

61. Мамацашвили Э. Г. Получение бруцеллезного бактериофага и установление его свойств // Бактериофагия Тбилиси, 1957 - С.327-332.

62. Морякова, О. И. Кольцевая реакция с молоком при диагностике бруцеллеза у коров / Морякова О.И. // Тр. ВИЭВ. Москва, 1961. -Вып.24. - С. 124.

63. Ненатов Н. Е. «Некоторые аспекты патогенности бруцеллёза» Омск 1990г. стр.78-85

64. Нуратинов Р. А., Ургуев К. Р., Юсупов О. Ю., Нажалов М. И. Серологическая диагностика бруцеллеза крупного рогатого скота // Ветеринария. 1993. - № 2. - С. 25-28.

65. Обоснея Р. Б.«Иммунология, диагностика и лечение инфекционных болезней сельскохозяйственных животных». Новосибирск 1986г. стр.60-63

66. Объедков Г. А. Основные достижения в изучении патогенеза бруцеллеза, совершенствования его диагностика // Совершенствование систем и методов в борьбе с бруцеллезом и туберкулезом животных. Новосибирск, 1987. - С. 7-12.

67. Островская Н. Н., Кайтмазова Е. И. Проба фагом «Тб» как дополнительный тест для дифференциации видов бруцелл // Журн. микробиол — 1966-№3- С. 75-79.

68. Островская Н. Н., Толмачева Т. А. Динамика адсорбции антибруцеллезного фага Тб на клетках Br. abortus, melitensis и suis II Журн. микробиол — 1968 № 9.- С.79-83.

69. Островская Н. Н. Микробиология бруцеллеза // Бруцеллез: под. ред. П. А. Вершиловой, 2е изд-е М.: Медицина, 1972 С. 43-105.

70. Плотникова Э. М., Салмакова К. М., Иванов А. В., //Иммуномониторинг бруцеллёза животных.// Журн. Ветеринария. 2010. №5. С.26.

71. Попхадзе М. З. Использование бруцеллезного бактериофага Тб для дифференциации бруцелл // Журн. микробиол 1968 - №2 - С.119-124.

72. Попхадзе М. С., Антадзе И. А. Сравнительное изучение свойств фагов, выделенных из разных видов бруцелл // Бактериофаги: Теоретические и практические вопросы-М., 1983-С.58-63.

73. Садыков С. Ж. // Обнаружение бруцеллёзного антигена в патологическом материале при помощи реакции нейтрализации антител.// Тр. ВИЭВ. 1976. Т 44. С 51-54.

74. Самуйленко А. Я., Кузнецов Д. П., Кузнецова С. В., //Иммуноферментный анализ в ветеринарной медицине//. Ветеринария. 2001. №12. С. 20-25.

75. Скляров О. Д. Результаты сравнительного изучения методов диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота. // Сб. науч. тр. ВГНКИ. М., 2005. - С. 150182.

76. Скляров О. Д., Шумилов К. В., Мельниченко Л. П. Использование метода ПЦР для постановки окончательного диагноза на бруцеллез // Генодиагностика инфекционных болезней. М. - 2004. - Т. 2. - С.239-242.

77. Скляров О. Д., Яцышина С. Б., Обухов И. Л., Мельниченко Л. П. Изучение возможности проведения прижизненной диагностики бруцеллеза методом полимеразной цепной реакции // Сб. науч. тр. ВГНКИ М., 2003. - Т.64. - С.208-217.

78. Скляров О. Д., Яцышина С. Б., Шумилов К. В. Экспресс-диагностика бруцеллеза методом ПЦР. // Ж. Ветеринария. 2004. - № 9. — С. 18-22.

79. Стент Г. Молекулярная генетика. М.: "Мир", 1974. - 531 с.

80. Тавамаишвили М. Е. Бруцеллёз коз и совершенствование серологической диагностики и специфической профилактики бруцеллёза сельскохозяйственных животных. // Автореферат. Москва, 1988.

81. Таран И. Ф., Лямкин Г. И. Бруцеллез. Ставрополь, 1996. - 176 с.

82. Таран И. Ф., Цибин Б. П., Крылова А. А. Изучение L-форм бруцелл, их ревертантов и исходных культур// Журнал микробиологии, эпидемиологии и

иммунологии. 1981. - № 6. - С. 39-43.

83. Таран И. Ф., Лямкин Г. И. Бруцеллез (микробиология, иммунология, эпидемиология, профилактика). Ставрополь, 1996.-173с.

84. Таран И. Ф. Занина В. М., Лямкин Г. И., Цыбин Б. П., Тихенко Н. И. Сравнительное изучение спектра литического действия бактериофагов Тб, Wb, Fi, Bk2 и R // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол 1983 - №2 — С.48-52.

85. Триленко П. А. //Особенности реакции агглютинации и кольцевой реакции при исследовании на бруцеллез сыворотки крови и молока// Ветеринария. 1954. - №1. - С.34-35.

86. Умнова Н. С., Желудков М. М., Павлова И. П., Шаханина К. Л. Выявление антигенов возбудителя бруцеллеза иммуноферментным методом. // ЖМЭИ.-1986, №9., С.103-107.

87. Федоров Н. А., Суханов Ю. С., Асади Мобархан А. Х., Артемьев М. И. Полимеразная цепная реакция (ПЦР). М., 1996. 33 с.

88. Федоров Н. А., Суханов Ю. С. , Асади Мобархан А. Х., Артемьев М. И. Полимеразная цепная реакция. М.:"Мила", 1996-34с.

89. Федоров Н. А., Искандеров М. И., Альбертян М. П. //Изучение антигена, провоциюрущего скрытые формы бруцеллёзной ифекции.// Ветеринария. №6. С-23. 2007.

90. Фомин Б. А., Розанцев К. Э., Мельниченко В. И. Разработка метода идентификации бруцелл с помощью амплификации ДНК // Матер, науч. конф. по с/х биотехнологии. Целиноград, 1991. - С. 126.

91. Шарова И. Н. Совершенствование тест-системы для выявления возбудителя бруцеллеза методом ПЦР: Автореф. дис. канд. биол. наук. Саратов, 2001. - 20 с.

92. Шестопалов М. Ю. Практические аспекты использования полимеразной цепной реакции в лабораторной диагностике бруцеллеза: Автореф. дис. канд. мед. наук. Иркутск, 1999. - 22 с.

93. Шумилов К. В., // Бруцеллез. // Инфекционные болезни животных. М. 1987. №1. С-288.

94. Шумилов К. В., Скляров О. Д., Обухов И. Л., Груздев К. Н., Шипулин Г. А., Шипулина О. Ю. /Идентификация бактерий рода бруцелла методом полимеразной цепной реакции // Ж. Ветеринария. - 1996. -№12. - С. 19-23.

95. Шумилов К. В., Вылегжанина Е. С., Кузьмина В. Б., Астахова Т. С., Богатудинов З. Ф., Ниязов У. Э., /ИФА для дифференциальной диагностики иерсиниоза и бруцеллёза у крупного рогатого скота/ // Ж. Ветеринария. - 2000. -№ 9. - С. 18.

96. Яковлев А. Т., Зыкин Л. Ф., Рыбкин В. С. Иммуноферментный анализ в микробиологии. Саратов: Изд-во Сарат.ун-та.-1990,-112с.

97. Яковлев А. Г., Шеенков Н. В., Ярцева Н. Н. Персистентные свойства Brucella abortus, выделенных из разных источников //Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., -2002. №4. - С.123-124.

98. Яременко Н. А. Эпизоотическая ситуация в мире и Российской Федерации в 2000-2001. М. - 2002. - С. 24-29.

99. Ackerman H.W., Simon F., Verger J. A survey of brucellaphages and morphology of new isolates // Intervirology.-1981.-Vol.16.- P. 1-7.

100. Adrian Whatmore, Claire Dawson, Lorraine Perrett, Mark Koylass, Pauline Groussaud, Gavin Hunter,StephenShankster, Simon Brew, Amanda King, Jakub Muchowski, Christine Quance and Beth Harris. Molecular and phenotypic characterization of North American isolates of *Brucella* from marine mammals and comparison with European isolates Bucellosis 2011 International Research Conference Buenos Aires- Argentina. September 21/23, 2011. p.24.

101. Alim A, Tomul ZD. Short communication: investigation of Brucella in the fresh

cheese samples sold at the bazaars of district in Sivas Center, Turkey //Microbiyol Bul.-2005.-V. 29 (2).-P. 219-223.

102. Al Dahouk S, Nockler K, Hensel A, Tomaso H, Scholz HC, Hagen RM, Neubauer H. Human brucellosis in a nonendemiccountri: a report From Germany, 2002 and 2003. //Eur J ClinMicrobiol Infect Dis. 2005.-V. 24 (7).-P. 450-456.

103. Allardet-Servent A., Bourg G., Ramuz-M., Pages M., Bellis M., Roizes G. DNA polymorphism in stains of the genus Brucella // J.Bacterid., 1988.-Vol.170.- №10.-P.4603-4607.

104. Alton G. G, Jones L. M, Angus R. D, and Verger J. M. // Techniques for the brucellosis laboratory / Bacteriological methods: Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, France.-1988. P.13-61.

105. Alton G. G., Jones L. M., Lab Technique in Brucellosis, WHO, Geneva. 1967.

106. Atlas R. M. Handbook of Microbiological Media, 2nd Edi., Parks L.C. (Ed.), CRC Press, New York. 1997.

107. Baily G. G., Krahn J. B. Drasar B. S., Stoker N. G. Detection of *Brucella melitensis* and *Brucella abortus* de DNA amplification // J. Trop. Med. Hyg. 1992. - Vol. 95, №4. - P. 271-275.

108. Bergsrom K. E, Boqvist S. Brucella surveillance and clinical sampling among animals in Sweden /Brucellosis 2003 International Research Conference September 1517, University of Navarra, Pamplona (Spain), -2003.-P 94-95.

109. Beh K. J. Distribution of *Brucella* antibody among immunoglobulin classes and a low molecular weight antibody fraction in serum anwhey of cattle. Res Vet Sci 1973; 14: 381-384.

110. Boschiroli M., Foulongne V., O'Callaghan D. Brucellosis: a worldwide zoonosis// Curr. Opin. Microbiol. -2001, V. 4 (l).-P. 58-64.

111. Bredley D. E. J. Phade typing // Roy. Microscop. Soc.- 1965.- Vol.8.-P.257-261.

112. Brew S. D; Perrett L. L; Stack J. A; MacMillan A. P; Staunton N. J. Human exposure to Brucell recovered from a sea mammal. Vet.Rec. 1999 Apr 24; 144(17): 483

113. Bricker B. J., Ewalt D. R., MacMillan A. P. Molecular characterization of Brucella strains isolated from marine mammals. J. Clin. Microbiol.-2000,V. 38(3).-P.1258-1262.

114. Bricker B. J. PCR as a diagnostic tool for brucellosis / Bricker B. J.// Vet. Microbiol. 2002. - V.90. - P.435-446.

115. Bricker B. J, Ewalt D. R, Olsen SC. Evaluation of the *Brucella abortus* species-specific polymerase chain reaction, an improved version of the *Brucella* AMOS polymerase chain reaction assay forcattle. J Vet Diagn Invest 2003; 15: 374-378.

116. Brucellosis // Fact Sheet №173.-Wld. Hlth. Org., 1997.

117. Brucellosis. Griffith's 5 minute Clinical Consult – 9 th Ed. (2001), p. 1-5.

118. Byrd J. W., Heck F., Hidalgo R. Evaluation of the enzime-linked immunosorbent 122 assay for detecting *Brucella abortus* antibodies //Amer. J.V et.Res. -1979. Vol. 10. -P. 896-898.

119. Calderone J. G., Pickett J. Characterisation of Brucella phage // J. Gen. Microbiol.- 1965.- Vol.39.- P. 1-10.

120. Carlsson H, Hurvell B, Lindberg A. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for titration of antibodies against *Brucella abortus* and *Yersinia enterocolitica*. Acta Pathol Microbiol Scand 1976; 84C: 168-176.

121. CBRNE. ,,Brucellosis" . / Medicine Journal. October 15, 2001. 2, 10.

122. Chin J, Daniels J, Bundesen P. Bovine brucellosis: evaluation of field sera by a competitive and superimposable ELISA utilizing a monoclonal antibody against *Brucella abortus* lipopolysaccharide.Vet Immunol. Immunopathol 1989; 20: 109-118.

123. Clementi M., Menzo S., Bagnarelli P. Quantitative PCR and RT-PCR in virology // PCR Methods Appl. 1993. - Vol. 2. - P. 191-196.

124. Cloeckaert A, Verger J.-M., Grayon M. / Classification of Brucella spp. Isolated from marine mammals DNA polymorphism at the omp2 locus. //Microb.Infect.-2001.-V.3(9).-P.729-738.

125. Corbel M. J. Recent advances in Brucella-phage // Veterinary Bulletin.-1984.-Vol.54.-P.65-74.

126. Corbel M. J. Characterization of antibodies active in the Rose Bengal plate test for bovine brucellosis. Vet Rec 1972; 90: 484-485.

127. Corbel M. J. Brucellosis: an overview / Corbel M. J. // 1st International Conference on Emerging Zoonoses: Emerging Infectious Diseases, April-June 1997. Jerusalem, Israel. 1997. - V. 3. - № 2 - P.213-221.

128. Cross N.C.P. Quantitative PCR techniques and applications // Br. J. Haematol. - 1995. Vol. 89. - P. 693-697.

129. Da Costa M, Guillou J.- P, Garin-Bastuji B, Thiebaud M, and Dubray G. //Specificity of six gene sequences for the detection of the genus Brucella by DNA amplification / J. Appl. Bacteriol. 1996. - V.81. - P.267-275.

130. Del Vecchio. /Molecular genotyping of Brucella // V.G. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002. - V.99. - №1. - P.443-448.

131. DiDomenico Nicolas, Link Hans, Knobel Rolf. COBAS AMPLICOR: Filly automated RNA and DNA amplification and detection system for routine diagnostic PCR // Clin. Chem. 1996. - Vol.42,№12.-P.1915-1923.

132. Dr. Alfredo Garín “Program of Control/Eradication of Bovine Brucellosis in Uruguay,” *Fernando Padilla Poester*,“Strategies for the control and eradication of Brucellosis in Brazil,”*PatriciaLopetegui I.* “Strategy for eradication bovine brucellosis in Chile”.Bucellosis 2011 International Research Conference Buenos Aires- Argentina. September 21/23, 2011. p.18-22)

133. England T, Kelly 1, Jones RD, MacMillan A, Wooldridge M. A simulation model of brucellosis spread in British cattle under several testing regimes. // Prev Vet Med.-

2004.- V. 63 (1-2).- P. 63-73.

134. Engvall E, Perlman P. / Enzim-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G// Immunochem. -1971.-V.8.-№9-P.871-874.

135. Ergonul O, Celikbas A, Tezeren D, Guvener E, Dokuzogus B. Analisisi of risk factors for laboratory-acquired brucella infections // J Hosp Infect.- 2004.- V.56 (3).- P.223-227.

136. Eskra L., Canavessi A., Carey M. Brucella abortus genes identified following constitutive growth and macrophage infection// Infect Immun.- 2001.- V. 69(12).-P. 7736-7742.

137. Fekete A., Bandl J. A., Hailing S. M., Sanborn M. R. Preliminary development of a diagnostic test for Brucella using polymerase chain reaction //J. of Applied Bacteriology. 1990.- V. 69. -N.2. - P. 216-227.

138. Foster G, Jahans K L, Reid R J. Isolation of *Brucella* species from cetaceans seals and an otter. Vet Rec 1996; 138: 583-586.

138. Forbes L. B, Nielsen O, Measures L. Brucellosis in ringed seals and harp seals from Canada. J Wildl Dis 2000; 36: 595-598.

139. Foster G, MacMillan A P, Godfroid J. A review of *Brucella* sp. infection of sea mammals with particular emphasis on isolates from Scotland. Vet Microbiol 2002; 90: 563-580.

140. Gall D, Nielsen K. Improvements to the competitive ELISA for detection of antibodies to *Brucella abortus*i n cattle sera. J. Immunoassay 1994; 15: 277-291.

141. Gall D, Colling A, Marino O. Enzyme immunoassays for serological diagnosis of bovine brucellosis: a trial in Latin America. ClinDiagn Lab Immunol 1998; 5: 654-661.

142. Hennager S.G, Harris S.K, Ewalt D.R, Jarnagin J.L: Rapid identification of dominant Brucella antigens using a microagglutination test. Am. J. Vet. Res. 1983, 44; p- 2418-2419

143. Greenfield, R. A., Drevets, D. A., Machado, L. J., Voskuhl, G.W., Cornea, P. and Bronze, M. S. Bacterial pathogens as biological weapons and agents of bioterrorism. Am J Med Sci. 2002. 323, 299 – 315.

144. Herman L., De'Rider H. Identification for Brucella spp. by using the polymerase chain reaction // Appl. and Environ. Microbiol. 1992. - Vol. 58. - P. 2099-2101.

145. Hubalek Z, Scholz H C, Sedlacek I, Melzer F, Sanogo YO, Nesvadbova J. Brucellosis of the common vole (Microtusarvalis).//Vector Borne Zoonotic Dis.- 2007.- V.7(4).- P.679-687

146. Huber J, Nicoletti P. Comparison of the results of card, rivanol, complement fixation and milk ring test with the isolation rate of *Brucella abortus* from cattle.Am J Vet Res 1986; 47: 1529-1531.

147. Hurtado R. “Brucellosis”. / New end old issues regarding diagnosis and management/ . January 31,2001.

148. Jones R. D., Kelly L., England T., MacMillan A., Wooldridge M. A quantitative risk assessment for the importation of brucellosis-infected breedinding cattle into Great Britain from selected European countries //Prev Vet Med.- 2004.- V.63 (l-2).-P.51-56.

149. Krkic-Dautovic S., Mehanic S., Ferhatovic M., Cavaljuga S. Brucellosis epidemiological and clinical aspects (Is brucellosis a major public health problem in Bosnia and Herzegovina) //Bosn J Basic Med SCI.- 2006.- V. 6 (2).- P. 11-15.

150. Lamb V. L., Jones L. M., Schurig G. G., Berman D. T. Enzyme linked immunosorbent Assay for Bovin immunoglobulin Subclass Specific Response to *Brucella abortus* Lipopolysaccharides // Infect, and Immun. 1979. -V. 26. - №1. - P. 240-247.

151. Landau Z; Green L. Chronic brucellosis in workersin a meat – packing plant. Scand. J. Infect. Dis. 1999; 31(5): 511-512.

152. Leal-Klevezas D.S., Lopes-Merino A., Martinez-Soriano J.P. Molecular detection

of Brucella spp.: rapid identification of *Brucella abortus* bv 1 using PCR // Arch. Med. Res. 1995. - V.26. - P.263-267.

153. Leal-Klevezas D. S., Martynez-Vazquez I. O., Lopez-Merino A., and Martynez-Soriano J. P.. //Single-step PCR for detection of Brucella spp. from blood and milk of infected animals / J. Clin. Microbiol.- 1995.- V.33. -№12. P.3087-3090.

154. Leong D., Diaz R., Wilson J. B. Identification of the toxic component of *Brucella abortus* endotoxin and it labeling with radioactive chromate //J. Bacteriol. 1968. - V. 95. - № 2. - P. 612-617.

155. Lopez Merino A., Young E. J., Corbel M. J. Brucellosis in Latin America. Clinical and laboratory aspects. //CRC Press Inc: Boca Raton;- 1989.- H.- P. 151-161.

156. Luzzi G. A., Brindle R., Sockett P. N., Solera J. Brucellosis: imported and laboratory-acquired cases, and an overview of treatment trials. (Review) //Transactions ofthe Royal Sofety of Tropical Medicine &Hygiene.-1993.-V.87.-N2.-P.37-41.

157. MacMillan A., Greiser-Wilde I., Moenning V. A competitive enzyme immunoassay for brucellosis diagnosis. DtschTierarztl Wchnschr 1990; 97: 83-85.

158. Mayfield I. E., Bricker B. J., Godfrey E. The cloning, expression, and nucleotide sequence of a gene coding for an immunogenic Brucella abortus protein // Gene. 1988. - Vol. 63. - P. 1-9.

159. Mayfield J. E., Bantle J. A., Ewalt D. R., Meador V.P. and Tabatabai L.B: Detection of *Brucella* cells and components. In animal Brucellosis, Ed. Nielsen K and Duncan J.R.//CRC Press, Boca Raton, USA.1990; P. 97-120.

160. McDonald W. L., Jamaludin R., Makareth G., Hansen M. Characterization of a Brucella sp. Strain as a marine-mammal type despite isolation from a patient with spinal osteomyelitisin New Zealand //J. Clin. Microbiol.- 2006.- V.44(4). P. 363-370.

161. McCaughey W. J. Brucella milk ring tests on churn samples: a threeyear study. Vet Rec 1972; 90: 6-10.

162 Moyer N. P., Holcomb L. A. Brucellosis // Laboratory Diagnosis of Infectious

Diseases. Principle and Practice / Ed. Balows A., Hausker W. J., Ohashi Jr. M., Turano A.- Springer-Verlag, New York,1988.-Vol.1.-P.143-154.

163. Morgan W, MacKinnon D, Lawson J,. The rose Bengal plate agglutination test in the diagnosis of brucellosis. Vet Rec 1969; 85: 636-637.

164. Moyer N. P., Holcomb L. A., Hausler W. J. Brucella // Manual of Clinical Microbiology.- Fifth Edition.- Washington, D.C., 1991.- P.457-462.

165. Mullis K. B, Faloona F, Scharf S, Saiki R. K, Horn G, Erich H. // Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The polymerase chain reaction / Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 1986. - V.51. - P.263.

166. Muma J B, Toft N, Oloya J. Evaluation of three serological tests for brucellosis in naturally infected cattle using latent class analysis. Vet Microbiol 2007; 125: 187-192.

167. Murray P. R., Baron E. J., Jorgensen J. H., Pfaller M. A., Yolken R. H., (Eds.) 8th Ed., Manual of Clinical Microbiology, ASM, Washington, D.C. 2003.

168. Nielsen K, Smith P, Yu WL. Second generation competitiveenzyme immunoassay for detection of bovine antibody to *Brucella abortus*. Vet Microbiol 2007; 124: 173-177.

169. Nielsen K, Smith P, Yu WL. Validation of a second generation competitive enzyme immunoassay (CELISA) for the diagnosis of brucellosis in various species of domestic animals. Vet Immunol Immunopathol 2008; 125: 246-250.

170. Nielsen K, Kelly L, Gall D. Improved C-ELISA for the diagnosis of bovine brucellosis. Vet Immunol Immunopathol 1995;

171. Nielsen K. Diagnosis of brucellosis by serology. Vet Microbiol 2002; 90: 447-459.

172. Nielsen K, Heck F, Stiller J. Interaction of specifically purifiedisotypes of bovine antibody to *Brucella abortus* in the haemolysis in gel test and enzyme linked immunosorbent assay. Res Vet Sci 1983; 35: P. 14-18.

173. Nielsen K, Cherwonogrodsky J, Duncan R. Enzyme immunoassay for the differentiation of antibody response of *Brucella abortus* in fected and vaccinated

cattle. Am J Vet Res 1989; 50: P. 5-9.

174. Nielsen K, Gall D. Advances in the diagnosis of bovine brucellosis: use of enzyme immunoassays. Genet Eng Biotech 1994; 14: 25-39.

175. Nielsen K., Wright P. F., Cherwonogrodzky J., Duncan J. R. Enzyme immunoassay for diagnosis of bovin brucellosis // 2rd Forum in Microbiology Brucella and brucellosis: Ann. Inst. Pasteur Microbiol. 1987. - Vol. 138, № 1. - P. 75-79.

176. O'Hara M. J., Collins D. M., De Lisle G. W. Restriction tndonuclease analysis of Brucellaovis and other Brucella species // Vet. Microbiol.-1985.-Vol.l0.-№5.-P.425-429.

177. Ouahrani-Bettache S., Soubrier M. P., Liautard J. P. IS6501-anchored PCR for the detection and identification of Brucella species and stains // Appl. Bacteriol. 1996. -Vol. 81, №2.-P. 154-160.

178. Ouahrani-Bettache S, Soubrier M.-P, Liautard J. P. // Ouahrani-Bettache S. IS6501-anchored PCR for the detection and identification of Brucella species and strains / J. Appl. Bacteriol. 1996. - V.81. - №2. - P. 154160. 298.

178. Paweska J, Potts A, Harris H. Validation of an indirect enzyme linked immunosorbent assay for detection of antibody against *Brucella abortus* in cattle using an automated ELISA workstation. Onderstepoort J Vet Res 2002; 69: 61-77.

179. Pickett M. J., Nelson E. L. Brucella bacteriophage // J. Hyg.- 1950.-Vol.48.-P.500-503.

180. Quepo-Ortuno M. I., Morata P., Ocon P. Rapid diagnosis of human brucellosis by peripheral-blood PCR assay // J. Clin. Microbiol. 1997. -V. 35.-P. 2927-2930.

181. Rasmussen S., Timms P. Detection of Chlamydia-psittaci using DNA probes and the polymerase chain reaction. // FEMS Microbiol. Lett. 1991. - V.77. - P. 169-173.

182. Renukaradhya G, Isloor S, Crowther J. Development and field validation of an avidin-biotin enzyme linked immunosorbent assay kit for bovine brucellosis. Rev Sci Tech 2001; 20: 749-756.

183. Rigby C. E, Fraser A. D. // Plasmid transfer and plasmid-mediated genetic exchange in Brucella abortus / Can. J. Vet. Res. 1989. -V.53. - №3. -P.326-330.

184. Rijpens N. P., Jannes G., Van Asbroeck M. Direct detection of Brucella spp. in raw milk by PCR and reverse hybridization with 16S-23S rRNA spacer probes // Appl. Environ. Microbiol 1996. - V.62.-P.1683-1688.

185. Robles C, Nielsen K, Gall D. An indirect enzyme linked immunoassay for detection of antibodies against *Brucella abortus* RB51 in vaccinated heifers. Vet. Immunol. Immunopathol. 2009; 127: 153-155.

186. Rolfs A., Schuller I., Finckh U., Weber-Rolfs I. PCR: Clinical diagnostics and research. N.Y., Springier Verlag Berlin Heidelberg. -1993.-21p.

187. Romero C., Gamazo C., Padro M., Lopez-Coni I. Specific detection of Brucella DNA by PCR // J. Clin. Microbiol. 1995. - V. 33. - P. 615-617.

188. Romero C., Padro M., Grillo M. J. Evaluation of PCR and enzyme- linked immunosorbent assay on milk for diagnosis of brucellosis in dairy cattle // J. Clin. Microbiol. 1995 b. - Vol. 33. - P. 3198-3200.

189. Rylatt D, Wyatt D, Bundesen P. A competitive enzyme immunoassay for the detection of bovine antibodies to *Brucella abortus* using monoclonal antibodies. Vet. Immunol.Immunopathol. 1985; 8: 261-271.

190. Samartino L, Gall D, Gregoret R. Validation of enzyme linked immunosorbent assays for the diagnosis of bovine brucellosis. Vet Microbiol 1999; 70: 193-200.

191.Sauret I. M., Villisova N. Human brucellosis //1. Am. Board. Fam Pract. 2002. - V.15.-N.5.-P. 401-403.

192. Sifuintes-Ricon A. M., Revol A., Barrera-Saldana H. A. Detection and differentiation of the six Brucella spp. by PCR // Mol. Med. 1997.-V.3-P.734-739.

193. Simon F. Contribution a l'etude des bacteriophage du genre Brucella: phage Tb, BM29 et Bk // Thesis.- University of Paris, 1979.-P.41

194. Spickler A.R., Roth J.A., Emerging and Exotic Diseases of Animals 2010. P111

-117.
195. Stukelj M. Surveillance and monitoring of brucellosis in Slovenia / Brucellosis 2003 International Research Conference September 15-17, University of Navarra, -Pamplona (Spain).- P.89-90.
196. Sutherland S, den Hollander. Comparison of an enzyme linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies and a complement fixation test for cattle vaccinated and infected with *Brucella abortus*. Vet Microbiol 1986; 12: 55-64.
197. Sutherland S. An enzyme linked immunosorbent assay for detection of *Brucella abortus* in cattle using monoclonal antibodies. Aust Vet J 1985; 62: 264-272.
198. Sutra L, Caffin J, Dubray G. Role of immunoglobulins in the *Brucella* milk ring test. Vet Microbiol 1986; 12: 359-366.
199. Thoen C. O., Pietz D. E., Armbrust A. L., Harrington R. Enzyme immunoassay for detecting Brucella antibodies in cows milk // J. Clin. Microbiol. 1979. - V.10. -P.222-225.
200. Thomas E. L., Corbel M. J. Isolation of a phage lytic for several Brucella species following propagation of Tbilisi phage in the presence of mytomycin C // Archs. Virol.-1977.- Vol.54.- P.259-261.
201. Ugalde J. E; Czibener C; Fedman M. F; Ugalde R.A. Identification and characterization of the *Brucella abortus* phosphoglucomutase gene: role of lipopolysaccharide in virulence and intracellular multiplication. Infect-Immun. 2000Oct; 68(10): 5716-5723.
202. Uzal F., Carrasco A., Echaide S. Evaluation of an indirect ELISA for the diagnosis of bovine brucellosis. J Vet Diagn Invest 1995; 7: 473-475.
203.Uzal F.., Carrasco A, Nielsen K. An indirect ELISA using a monoclonal IgG1 enzyme conjugate for the diagnosis of bovine brucellosis. Vet Microbiol 1996; 52: 175-180.
204. Uzal F., Carrasco A., Nielsen K. Evaluation of a competitive ELISA for the

diagnosis of bovine brucellosis. Vet Res Commun 1996; 20: 421-426.

205. Vanzini V.., Aguirre N, Lugaresi C. Evaluation of an indirect ELISA for the diagnosis of bovine brucellosis in milk and serum samples in Argentina. Prev Vet Med 1998; 36: 211-217.

206. Verger J. M, F. Grimont, P. A. D. Grimont, and M. Grayson.//Taxonomy of the Genus Brucella / Ann. Inst. Pasteur Microbiol.-1987.-V.138-P.235-238.(Letter.)

207. Vizcaino N., Cloeckaert A., Verger J.-M., Grayon M. /DNA polymorphism in the genus Brucella. // Microbes and infection. 2000. - V.2. -№9. - P.1089-1100.

208. Weynants V., Gilson D., Cloeckaert A. Characterization of a monoclonal antibody specific for *Brucellla* smooth lipopolysaccharide and development of a competitive enzyme linked immunosorbent assay to improve the serological diagnosis of brucellosis. Clin Diagn Lab Immunol 1996; 3: 309-314.

209. World Organisation for Animal Health (OIE). Bovine brucellosis.//In Manual of Standats for Diagnostoc Tests and Vaccives. OIE. Paris. 2004.-P. 409-439.

210. White P. G and Wilson J. B: Differentiation of smooth and non-smooth colonies of brucellae. J. Bacteriol 61: 1951, 239-240.

211. Yong W K, Edwards L D, Searson J E. Evaluation of three LPS specific monoclonal antibodies for the diagnosis of bovine brucellosis. Res Vet Sci 1989; 46: 413-415.

212. Yumiko Imada. Diagnosis Report of Human Brucellosis caused by Brucella melitensis in Japan // Bui. Natl. Anim. Health.-2004.-V.l 10.- P. 1-4.

213. Zheludkov M. M, ELISA - a universal method for Brucellosis diagnosis. /In Advances in Brucellosis research Texas A and V Univ., Press ColostationEgit by L.C.Adams.-1990.- P.494-495.