



**Original Article: IDENTIFICARE L'AGENTE EZIOLOGICO DI ANTRACE NEL SUOLO
MEDIANTE REAZIONE A CATENA DELLA POLIMERASI**

Citation

Badmaeva O. B., Cydypov V. C., Nehurov L. B., Identificare l'agente eziologico di antrace nel suolo mediante reazione a catena della polimerasi. *Italian Science Review*. 2014; 3(12). PP. 302-304.
Available at URL: <http://www.ias-journal.org/archive/2014/march/Badmaeva-Cydypov.pdf>

Authors

Oktjabrina B. Badmaeva, Cand.Vet. Sci., Associate Professor, Buryat State Agricultural Academy, Russia.

Viktor C. Cydypov, Dr. Vet. Sci., Professor, Buryat State Agricultural Academy, Russia.

Leonid B. Nehurov, Dr. Vet. Sci., Associate Professor, Buryat State Agricultural Academy, Russia.

Submitted: February 21, 2014; Accepted: February 25, 2014; Published: March 31, 2014

Parole chiave: Buriazia, microflora del suolo, l'antrace, la reazione a catena della polimerasi.

Nello studio di campioni di terreno da bovini sepoltura in Buriazia utilizzando sistemi di test e le culture su agar Hottinger un risultato positivo per la presenza di plasmidi pX01 e pX02 *Bacillus anthracis*.

Introduzione. Anthrax evolutivamente adattato al terreno come un serbatoio e conservato per secoli, e forse millenni. Particolarmente elevata concentrazione di spore patogeni osservati nei luoghi di sepoltura degli animali, che si trovano di solito nei pressi degli insediamenti rurali. [2] Il problema del monitoraggio del suolo epizoozia del bestiame è di particolare importanza in connessione con l'insediamento di microrganismi fattore di trasmissione che è il terreno [3]. Attualmente, per creare la necessità più urgente per la valutazione dello stato ambientale e microbiologica dei suoli, animale cartelle cliniche focolaio terreno di infezione. Richiedono particolare attenzione nella Repubblica di Buriazia, che sono imbrifero del lago Baikal, un repository unico di valori d'acqua dolce del mondo [1]

PCR altamente sensibile (polymerase chain reaction) o RAPD (random DNA polymorphic amplified) - la tecnologia utilizzata nella costruzione di mappe genetiche, analisi della struttura genetica delle popolazioni, genotipizzazione, marcatura segni, e anche per la tipizzazione DNK eventuali agenti patogeni [5].

Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di condurre uno studio di monitoraggio del suolo necropoli e insediamenti aree Kyahinsky Dzhidinsky della Repubblica di Buriazia DNK la presenza di antrace mediante PCR.

Condizioni e modalità. Per identificare DNK *Bacillus anthracis* ha utilizzato un metodo PCR modificata utilizzando kit di test per rilevare *Bacillus anthracis* pX01 pX02 produzione e FSIS "Istituto di Epidemiologia", Mosca e FGUZ RosNIPChI "microbo", Saratov.

Un campione di suolo (100 g) è stata versata nel pallone del volume di 5 volte di soluzione isotonica sterile viene poi sottoposta shuttelirovaniyu per 20-30 min. Dopo 5-8 minuti di assestamento, liquido surnatante è stato raccolto e filtrato attraverso due strati di garza. La

sospensione è stata riscaldata per 30 minuti a 70°C per la distruzione concomitante di microrganismi.

Il volume del campione risultante di 0,1 ml è stato inoculato in 0,4 ml Hottinger brodo (pH 7,2), è stato incubato con aerazione intensivo a 37°C per 2,5 h, la soluzione è stata addizionata a 500 U di penicillina in un volume di 0,05 ml ulteriormente incubate per 15 minuti nelle stesse condizioni.

Campioni di suolo prelevati esaminati nel territorio di insediamenti rurali e delle aree Kyahinsky Dzhidinsky della Repubblica di Buriazia.

Interpretazione dei risultati è stata effettuata mediante PCR separazione elettroforetica su un gel di agarosio 1,5% seguita da colorazione con bromuro di etile. I campioni di suolo sono state scattate con il trapano originale proposta L.B. Nehurovym et al [4].

Risultati e discussione. Quando il rilevamento utilizzando un sistema di test per il rilevamento di *Bacillus anthracis* in estratto dal suolo del numero 11 con il bestiame sepolitura. Gegetuy un risultato positivo per la presenza del plasmide pX01 e pX02 I risultati di amplificazione sono mostrati in figura.

Nota: (1-30-numeri di modello, M-marcatore di peso molecolare GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder, Fermentas, K+ - controllo positivo (527 bp); K - controllo negativo)

Nei test su colonie fagolizabelnost sospette con due fagi antrace Fag - VVNIIEiM (made in Stato Research Institute of Veterinary Virologia e Microbiologia, Pokrov) e Gamma A-26 (made in FGUZ StavNIGRSh, Stavropol) dato risultati negativi.

Al rilevamento di risultati positivi di PCR in estratto di suolo è stato testa di serie numero 11 sulla Hottinger agar e brodo Hottinger (pH 7,2). Dopo 24 ore di incubazione a 3 °C su agar Hottinger, la crescita è stata osservata su colonie di microrganismi proprietà morfologiche simili a antrace, ma con una struttura

"grezza". In Hottinger brodo - qualche foschia e medie flocculante precipitato sul fondo del tubo, che è stata sollevata agitando "serpente".

In strisci colorati con Gram rilevato lunga catena e l'asta Gram-positivi a breve, la morfologia! simili al bacillo del carbonchio, ma più piccole e più arrotondate estremità. Con la microscopia a fluorescenza tramite la diagnostica di antrace luminescenti (produzione FGUZ Irkutsk NHRI) caratteristica emissioni specifiche di *B. anthracis*, sono stati identificati.

Dichiarazione di saggi biologici con la cultura, morfologia simile a antrace e ha dato risultati positivi PCR ha dato un risultato negativo, gli animali non è caduta. In coltivazioni di organi (linfonodi, fegato, milza, infiltrare il sito di iniezione) e strisci colorazione di Gram e Rebigeru, la cultura di *B. anthracis* non viene rilevato.

Quando si utilizza un sistema di test per il rilevamento di *Bacillus anthracis* campioni pX01 pX02 e sospensioni degli animali sezionati infettati con sospensioni di estratti di suolo e culture sospette, un risultato negativo.

I campioni di suolo dal territorio Kyahinsky Dzhidinsky e distretti della Repubblica di Buriazia sono caratterizzati da una totale mancanza di tossicità per antrace, 76,7 % dei campioni hanno media e 20,0 % - alti opportunità nutrizionali per salvarlo.

La presenza di *Bacillus anthracis* in campioni di suolo con altri metodi non è confermata. I campioni di suolo da bovini necropoli di s. Cultura Gegetuy di antrace non ha potuto allocare. Risposte positive di PCR possono essere spiegati dal fatto che *Bacillus anthracis* ' è presente nel campione, ma ha deboli proprietà antigeniche e patogeni, e la sua concentrazione è inferiore alla soglia per i metodi classici di diagnosi di laboratorio.

La presenza di plasmidi patogeno indica possibili problemi territorio di bovini cimiteri e richiede ulteriori misure per il controllo e la supervisione del bestiame.

Conclusioni. Studio del suolo mediante PCR offre ulteriori opportunità per identificare posizioni specifiche di sopravvivenza del patogeno nell'ambiente, migliora l'efficacia del lavoro di prevenzione preventiva contro l'antrace e duratura prosperità su questa entità clinica.

References:

1. Badmaeva O.B., Tsydypov V.Ts., 2012. Ecological and geographical aspects of the epizootiology and microbiology of infectious diseases across borders within the Russian Federation and Mongolia. Ulan-Ude. Publisher VPO "Buryat State Agricultural Academy named V.R.Filippova" 256 p.
2. Galiullin A.K., Yusupov A.D., Dautov R.A., Klimina S.A., 2004. Old anthrax burial - possible sources of infection.

Zh.Veterinarny doctor. Kazan, #3. pp.36 - 38.

3. Garmaev M.Ts., Nehurov L.B., 2011. Bacteriological monitoring of the soil. Actual problems of veterinary science and practice of Siberia. Proceedings of the scientific - practical conference devoted to the 85 - anniversary of the RSU BRNPVL. Ulan-Ude, pp. 35 - 38.
4. Nehurov L.B., Garmaev M.Ts., 2010. Microbiological monitoring of soil livestock sites. Agrarian bulletin Urals. Volume 75. #9. pp.84 - 85.
5. Hammad N.I., Faizov T.H., Usoltsev K.V., 2009. Application of arbitrary primers in DNA genotyping of infectious diseases. Zh.Veterinarny doctor. Kazan, #6. pp. 33 - 39.

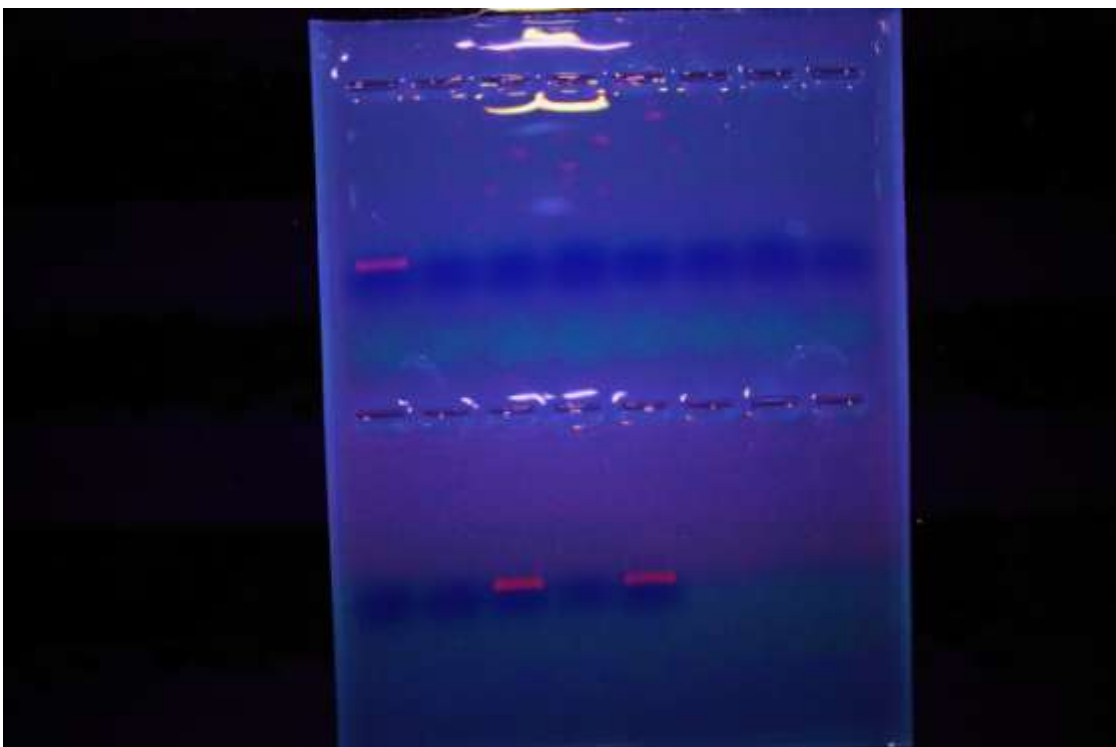


Fig. Amplificazione di prodotti di PCR nello studio dei campioni di terreno.