

IRSTI: 68.41.05, 68.41.53, 68.41.55

R.S. SATTAROVA^{1*}, V.M. STROCHKOV¹, K.E. BORANBAEVA¹, N.A. ZAMANBEKOV²
F.A. BAKIEV¹, K.M. SHYNYBAEV¹, M.S. OSPANOVA³, K. SMAN⁴,
G.N. SPIRIDONOV⁵

¹Kazakh Scientific Research Veterinary Institute, Almaty, Kazakhstan

²Kazakh National Agrarian Research University, Almaty, Kazakhstan

³M. Auezov South Kazakhstan State University, Shymkent, Kazakhstan

⁴Abai Kazakh National Pedagogical University, Almaty, Kazakhstan

⁵Federal Centre for Toxicological, Radiation, and Biological Safety, Kazan, Russian Federation

*e-mail: ranosaitomarovna@gmail.ru

COMPARATIVE DIAGNOSTICS FOR INFECTIOUS AND INVASIVE KERATOCONJUNCTIVAS OF CATTLE

doi:10.53729/MV-AS.2023.04.09

Abstract

The article presents the results of comparative studies in infectious and invasive keratoconjunctivitis of cattle for 2023. 542 conjunctival samples of cattle from economic entities of Akmola, Zhetysu, Turkestan and Kostanay regions were studied. Real-time polymerase chain reaction was carried out with a set of «PCR-Moraxella-RV» reagents to identify three causative agents of Pink eye - *Moraxella bovis*, *Moraxella ovis*, *Moraxella bovoculi*. 15 positive samples from the Akmola region were identified as *Moraxella bovoculi* (100%), 33.3% were identified as *Moraxella ovis*, and 6.7% were identified as *Moraxella bovis*. During a microscopic examination of conjunctival swabs from the same animals, thelazias were detected in 224 samples, which amounted to 43.1%.

Keywords: keratoconjunctivitis, *Moraxella*, *Thelasia*, cattle.

Diseases of the visual organs of cattle are spreading rapidly in large livestock complexes with crowded housing of animals. Contagious eye diseases of animals cause significant economic damage to livestock farms [1-4] due to premature culling of animals, loss of their breeding value, reduction in milk yield, increase in live body weight, costs of veterinary-sanitary and special veterinary measures [5, 6]. The highest incidence rate is observed in calves aged 1–6 months. (50–70%). In the rearing and fattening groups, especially when livestock are located in areas with high population density, the disease is recorded in up to 30%. Keratoconjunctivitis among dairy herds ranges from 10-12% [7].

On livestock farms, animal eye diseases are recorded year-round, but most frequently in the summer months, when cattle are on pasture and are susceptible to attack by insects (*Musca domestica*, *Musca autumnalis*) that carry the pathogen [8,9]. The disease is characterized by lacrimation, hyperemia of conjunctival vessels, photophobia, serous-purulent discharge, clouding and ulceration of the cornea, deformation of the eyeball in the form of keratoglobus or keratoconus, partial or complete loss of vision in the affected eye of the animal [10,13]. Infectious keratoconjunctivitis of Pink eye of cattle is an infectious disease characterized by eye damage, manifested by lacrimation, hyperemia of conjunctival vessels, photophobia, clouding and ulceration of the cornea, deformation of the eyeball in the form of keratoglobus or keratoconus, partial or complete loss of vision [10,11].

Thelaziosis is a helminthic disease of cattle, manifested by conjunctival keratitis, caused by parasitism of nematodes of the suborder Spirurata, family Thelaziidae in the ducts of the lacrimal gland, the nasolacrimal canal, under the third eyelid and in the conjunctival sac [16]. The disease is acute in young animals and, as a rule, is complicated by a second infection, which is accompanied by keratoconjunctivitis of various forms, incl. Pink eye of cattle.

The purpose of the research was to conduct a comparative diagnosis of infectious keratoconjunctivitis in cattle microscopically for parasitic and real-time polymerase chain reaction for bacterial lesions.

Materials and methods of research

Biological material for the study was obtained by conjunctival irrigation and nostrils using sterile swabs. Sample collection was carried out according to the sampling protocol [12]. 542 samples from affected eyes of cattle were tested. Laboratory tests were carried out microscopy [13] of conjunctival swabs and using a set of «PCR-Moraxella-RV» reagents to identify the causative agent of Pink eye by multiplex polymerase chain reaction method in real-time mode, developed by scientists of the Kazakh Research Veterinary Institute (SO LPP 071240018450-002-2023).

The PCR was performed according to the developed protocol in accordance with table 1.

Table 1 – RT PCR amplification protocol

Cycle	Temperature, °C	Time	Fluorescence measurement	The number of cycles
1	95	5 minutes	-	1
2	95	10 sec	-	40
	56	20 sec	FAM/Green, JOE/Yellow, ROX/Orange	
	72	20 sec	-	

The obtained data—fluorescent signal accumulation curves—were analyzed using the software of the device used to carry out real-time PCR in accordance with the manufacturer's instructions for the device. The result of DNA amplification of *Moraxella bovoculi* is detected the FAM/Green channel, DNA of *Moraxella ovis* by the JOE/Yellow channel, DNA of *Moraxella bovis* the by ROX/Orange channel.

The results of PCR analysis were taken into account by the presence or absence of intersection of the fluorescence curve with the threshold line set at the appropriate level (which corresponds to the presence or absence of the threshold cycle “Ct” value for the test sample).

Results and discussion

During the study period, from May 2021 to October 2023, 2971 heads of cattle of different breeds age and sex groups were examined. Of these 214 cattle were identified with clinical signs of keratoconjunctivitis from which samples in the amount of 542 samples were taken. Animals from the Eskeldinsky (66 samples), Sarkandsky (78 samples), Alakolsky (43 samples) districts of the Zhetysu region, the Aryssky district of the Turkestan region (96 samples), cattle from peasant farms (249 samples) of the Astrakhan district of the Akmola region and “Obagan auyly” Kostanay region (10 samples).

Thelasia cause mechanical irritation of the conjunctiva of the eyes, damaging the cornea, mucous membrane, releasing metabolic products, reducing immunity, occurring with clinical manifestations similar to Pink eye. For this purpose, swabs were additionally examined for the presence of thelasia in samples (Figure 1). A total of 542 (swabs from the conjunctiva and nostrils) samples were studied and subjected to real-time polymerase chain reaction and microscopy testing for the presence of nematode larvae.

Table 1 - Information on biosampling

Name		Number of iss alive	Number of wedges and patients alive	Number of samples examined				
regions	districts			flushing	flushing conjunctiva		nasal cavity	
					left	right	left	right
Zhetysuskaya	Eskeldy	172	22	66	26	17	10	13
	Sarkand	144	26	78	19	19	24	16
	Alakol	409	24	43	15	7	14	7
Turkestan	Arys	127	24	96	24	24	24	24
Akmola	Astrakhan	2119	118	249	129	98	10	12
Kostanay	Altynsarin	-	-	10	4	6	-	-
Total		2971	214	542	217	171	82	72

We also tried to take biosamples from the mucous membranes of the nasal cavity from the side of the diseased eye and from the nostrils with serious discharges, because *Thelazia rhodesi*, affects the conjunctival sac, the area of the third eyelid, and *T. gulosa* and *T. skrjabini* live in the nasolacrimal canal and lacrimal gland. Depending on the clinical condition, 1 or 2, sometimes 3, maximum 4 samples were taken from one animal with signs of conjunctivitis, i.e. If an animal had clinical lesions in both eyes and nostril discharge was observed, samples were taken from each eye and nostril simultaneously. The results of the study are shown in Table 2.

Table 2 - Information on the distribution of infectious and invasive keratoconjunctivitis among cattle in some regions of the Republic of Kazakhstan

Name		Laboratory results								
regions	districts	microscopy					RT-PCR			
		flushing	flushing conjunctiva		nasal cavity		flushing conjunctiva		nasal cavity	
			reseeded	positive	reseeded	positive	reseeded	positive	reseeded	positive
Zhetysuskaya	Eskeldy	66	43	43	23	-	43	-	-	-
	Sarkand	78	38	38	40	-	38	-	-	-
	Alakol	43	22	22	21	-	22	-	-	-
Turkestan	Arys	96	48	0	48	-	48	-	-	-
Akmola	Astrakhan	249	227	112	22	-	227	15	-	-
Kostanay	Altynsarin	10	10	9	-	-	10	-	-	-
Total		542	388	224	154	0	388	15	154	0

According to Table 2, of the 187 samples studied from peasant farms in the Zhetysu region, nematodes were found in 103 conjunctival washings. A similar picture was observed in the study of 249 samples from the Akmola region (112 positive samples) and Kostanay (9 positive samples) regions, while in 154 swabs from the nasal cavity no thelasia were found.

Real-time polymerase chain reaction revealed DNA from *Moraxella* cultures only from the Akmola region, i.e. out of 227 conjunctival swabs, 15 reacted positively, in particular, in 15 samples that reacted positively to *Moraxella bovoculli*, 5 samples were identified as *Moraxella bovoculli* and *Moraxella ovis* and one sample to *Moraxella bovoculli*, *Moraxella ovis* and *Moraxella bovis* (Figures 2 - 4)

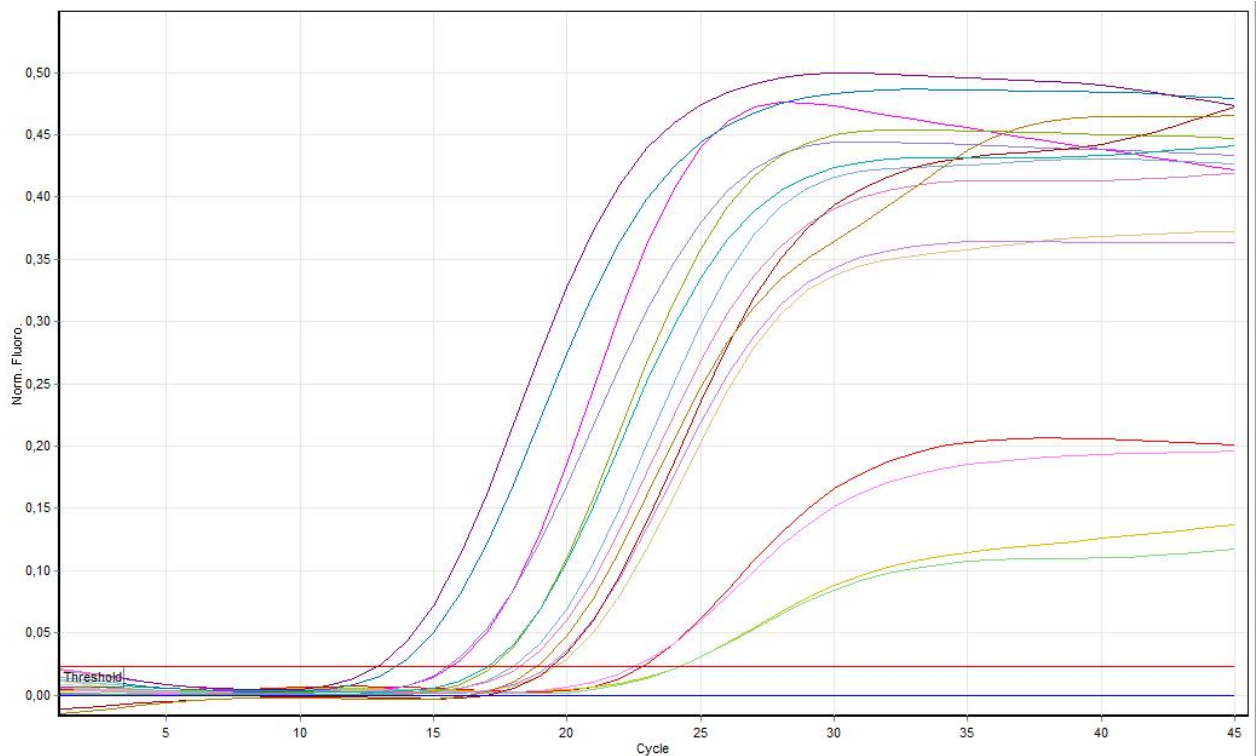


Figure 2 - Amplification curves for field samples Green channel (*M. bovoculi*)

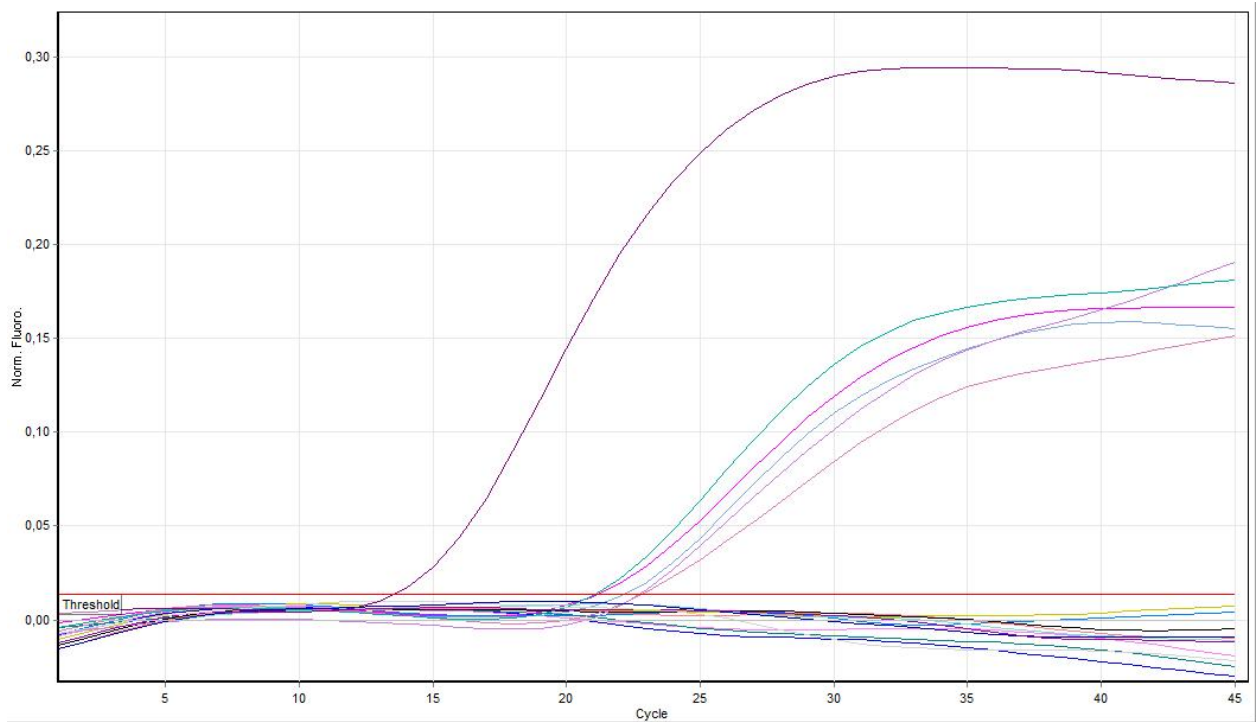


Figure 3 - Amplification curves for field samples Yellow channel (*M. ovis*)

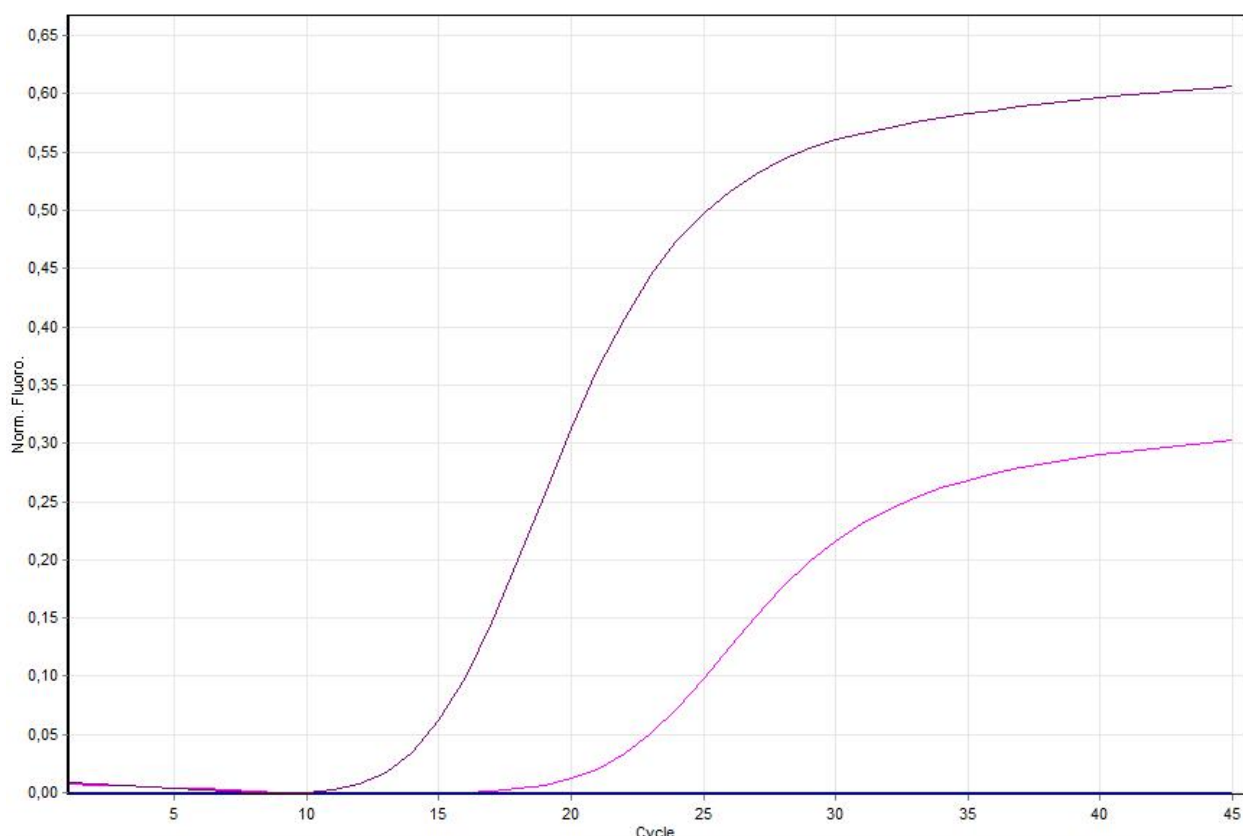


Figure 4 - Amplification curves for field samples Yellow channel Orange channel (*M. bovis*)

Thelyasia cause mechanical irritation of the conjunctiva of the eyes, damaging the cornea, mucous membrane, releasing metabolic products, reducing immunity, occurring with clinical manifestations similar to moraxellosis. In order to differentiate moraxellosis, swabs were examined for the presence of thelyas in bioassays (Figure 4,5).

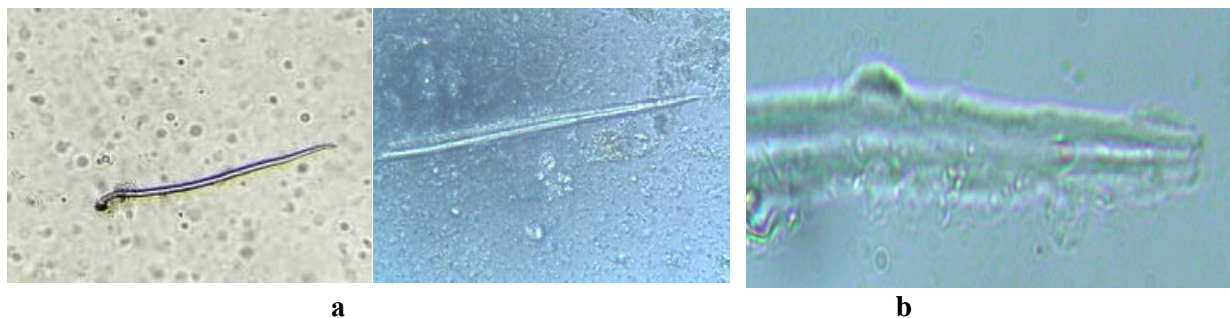


Figure 5 - *Thelazia* larvae under a light microscope x10 (a), x100 (b)

From Figure 5 it is clear that the larvae have a spherical cap and a beveled head end without thickening, which is characteristic of *Thelazia rhodesi*, which infects the conjunctival sac, the area of the third eyelid.

According to our research, it was revealed that the clinical picture of thelaziosis and Pink eye is identical (Figure 6), has a seasonal nature.

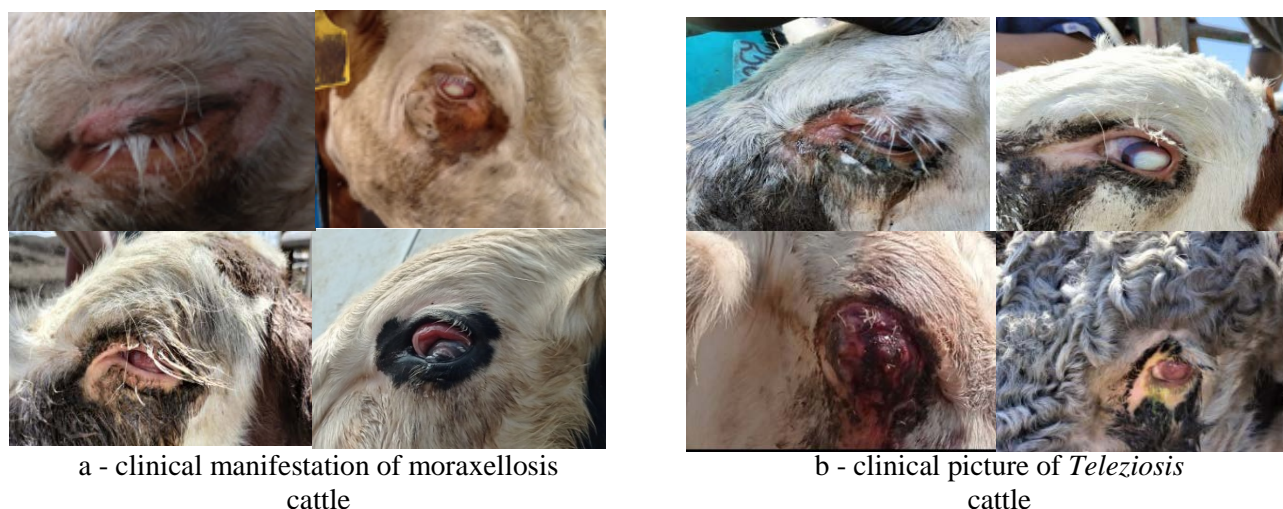


Figure 6 – Clinical picture of infectious and invasive keratoconjunctivitis in cattle

As can be seen from Figure 6, the clinical picture for infectious and invasive keratoconjunctivitis is similar. Clinical keratoconjunctivitis: a – cattle of an economic entity in Zhetysu, b – Akmola regions.

Conclusion

According to our research date, it was revealed that the clinical picture of thelaziosis and moraxellosis is identical and in both cases the vector-borne carriers are insects - *Musca domestica*, *Musca autumnalis*. Invasive and infectious keratoconjunctivitis can occur both simultaneously and separately from each other.

Pink eye and Thelaziosis of cattle were found in economic entities of the Akmola region, while in peasant farms of the Zhetysu and Kostanay regions only thelaziosis of cattle was detected.

When examined under a light microscope, nematode larvae were found in 224 samples, which amounted to 41.3%, in particular, 103 washouts from Zhetysu (55.1%), 112 samples from Akmola (44.9%) and 9 cases from Kostanay regions (90%).

Moraxella pathogen DNA was isolated in 15 cases out of 227 conjunctival swabs from the Akmola region, which amounted to 6.6%.

The use of a set of «PCR-Moraxella-RT» reagents showed that in 15 positive samples identified as *Moraxella bovoculli* (100%), *Moraxella ovis* was detected in 33.3%, and *Moraxella bovis* - 6.7%.

During a microscopic examination of conjunctival swabs from the same animals, thelasia were found in 224 samples, which amounted to 43.1%.

Laboratory studies of samples from the nasal cavities by RT PCR did not identify Moraxella DNA, just as thelesia leucinae were not detected by microscopy.

Funding

The work was carried out within the framework of the PTF of the Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan (2021-2023) under the project “Develop and offer for production a multiplex polymerase chain reaction (PCR) in real time for identifying pathogens of infectious bovine keratoconjunctivitis”.

References:

1 Brown M.H., Brightman A.H., Fenwick B.W., Rider M.A. Infectious bovine keratoconjunctivitis: a review. *J Vet Intern Med*, 1998, Jul-Aug.; 12(4): 259-66. (doi: 10.1111/j.1939-1676.1998.tb02120.x. PMID: 9686385)

2 Postma G.C., Carfagnini J.C., Minatel L. *Moraxella bovis* pathogenicity: an update. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 2008, Nov.: 31(6): 449-58. (doi: 10.1016/j.cimid.2008.04.001. Epub 2008 Jun 2. PMID: 18514312)

3 Kneipp M. Defining and Diagnosing Infectious Bovine Keratoconjunctivitis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2021, Jul.; 37(2): 237-252. (doi: 10.1016/j.cvfa.2021.03.001. PMID: 34049656)

4 Jill Franks, An Update On Bovine Pinkeye Infectious Bovine Keratoconjunctivitis (Pinkeye) in Beef Cattle. (www.addl.purdue.edu/newsletters.2003,summer/bovpinkeye.shtml)

5 Woods B.J., Millman S.T., da Silva N.A., Dewell R.D., Parsons R.L., Wang C., O'Connor A.M. Pain and sickness behavior associated with corneal lesions in dairy calves. *F1000Res.* 2015, Aug., 11; 4:546. (doi: 10.12688/f1000research.6649.1. PMID: 26949517; PMCID: PMC4758373)

6 Angelos J.A., Elizalde P., Griebel P. Bovine Immune Responses to *Moraxella bovis* and *Moraxella bovoculi* Following Vaccination and Natural or Experimental Infections. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2021, Jul.; 37(2): 253-266. (doi: 10.1016/j.cvfa.2021.03.002. PMID: 34049657)

7 Kozikov I.N. Sovremennyy podkhod k lecheniyu infektsionnogo keratokonyunktivita u krupnogo rogatogo skota. *Effektivnoye zhivotnovodstvo.* 2019. №5 (153). (<https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennyy-podhod-k-lecheniyu-infektsionnogkeratokonyunktivita-u-krupnogo-rogatogo-skota>)

8 Loy J.D., Hille M., Maier G., Clawson M.L. Component Causes of Infectious Bovine Keratoconjunctivitis - The Role of *Moraxella* Species in the Epidemiology of Infectious Bovine Keratoconjunctivitis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2021, Jul.; 37(2): 279-293. (doi: 10.1016/j.cvfa.2021.03.004. PMID: 34049659)

9 Trout Fryxell R. T., Moon R.D., Boxler D.J., Watson D.J., Face Fly (Diptera: *Muscidae*) - Biology, Pest Status, Current Management Prospects, and Research Needs. *Journal of Integrated Pest Management.* Vol. 12, Issue 1, 2021 (5). (<https://doi.org/10.1093/jipm/pmaa020>)

10 Ahmed Seid. Review on Infectious Bovine Keratoconjunctivitis and its Economic Impacts in Cattle. *Dairy and Vet Sci J.* 2019; 9(5): 555774. (DOI:10.19080/JDVS.2019.09.555774)

11 Holzhauser M., Visser I.J., van Maanen K. Infectieuze keratoconjunctivitis bij runderen, overzicht aan de hand van kliniek- en laboratoriumonderzoek op vier bedrijven [Infectious bovine keratoconjunctivitis (IBK) in cows, clinical and lab review at four farms]. *Tijdschr Diergeneeskd.* 2004, Aug. 15; 129(16): 526-9. (Dutch. PMID: 15347189)

12 Boranbayeva K.E., Zamanbekov N.A., Sattarova R.S., Spiridonov G.N., Zhylgeldiyeva A.A., Turzhigitova Sh. B. Comparative Pharmacotherapeutic effectiveness of Therapeutic Ointments in infectious Keratoconjunctivitis in cattle. *Research Journal of Pharmacy and Technology.* 2023; 16(1):46-4. (doi: 10.52711/0974-360X.2023.00009, <https://rjptonline.org/AbstractView.aspx?PID=2023-16-1-9>)

13 Ivanov N.P., Bakiyeva F.A., Namet A.M., Sattarova R.S., Issakulova B.Z., Akmyrzayev N.Z. The epizootic situation of cattle moraxellosis in several economic entities of the Republic of Kazakhstan. *Vet World.* 2021, May; 14(5): 1380-1388. (doi: 10.14202/vetworld.2021.1380-1388. Epub 2021 May 30. PMID: 34220144; PMCID: PMC8243689)

14 Byulleten normativnykh i metodicheskikh dokumentov gossanepidnadzora. 1.2. Gigiyena. toksikologiya. sanitariya. Poryadok otbora prob dlya vyyavleniya i identifikatsii nanomaterialov v laboratornykh zhivotnykh. Vypusk 1 (43). mart 2011. str. 115-143.

15 Tazayan A.N. Obshchaya parazitologiya i gelmintologiya: uchebnoye posobiye/Donskoy GAU. – Persianovskiy: Donskoy GAU. 2019, (<https://e.lanbook.com/book/134370>)

16 Glazunova L.A., Glazunov Yu.V. Rasprostraneniye telyazioza krupnogo rogatogo skota i vidovoy sostav telyaziy v lesostepnoy zone Severnogo Zauralia. *Vestnik KrasGAU.* 2018. №4 (139). (<https://cyberleninka.ru/article/n/rasprostranenie-telyazioza-krupnogo-rogatogo-skota-i-vidovoy-sostav-telyaziy-v-lesostepnoy-zone-severnogo-zauralya>)

17 (Pinkeye) in Beef Cattle. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/<https://transylvania.ces.ncsu.edu/wpcontent/uploads/2017/07/Livestock-News-Summer-2017-Transylvania-County.pdf? fwd=no> (дата обращения 29.11.2023г)

18 DeBower, Dane and Thompson, James R. (1997) "Infectious Bovine Keratoconjunctivitis," *Iowa State University Veterinarian: Vol. 59 : Iss. 1 , Article 11.* (chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/<https://core.ac.uk/download/pdf/38907996.pdf>)

Р.С. САТТАРОВА^{1*}, В.М. СТРОЧКОВ¹, К.Е. БОРАНБАЕВА¹, Н.А. ЗАМАНБЕКОВ²
Ф.А. БАКИЕВА¹, К.М. ШЫНЫБАЕВ¹, М.С. ОСПАНОВА³, К. СМАН⁴,
Г.Н. СПИРИДОНОВ⁴

¹Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты, Алматы, Қазақстан

²Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Алматы, Қазақстан

³М.Ауезова атындағы Оңтүстік Қазақстан университеті, Шымкент, Қазақстан

⁴Абая атындағы Қазақ Ұлттық педагогикалық университеті, Алматы, Қазақстан

⁵Токсикологиялық, радиациондық және биологиялық қауіпсіздік федеральдық орталығы,
Казань, Ресей Федерациясы

*e-mail: ranosaitomarovna@gmail.ru

ІРІ ҚАРА МАЛДЫҢ ІНДЕТТІ ЖӘНЕ ИНВАЗИВТІ КЕРАТОКОНЬЮНКТИВИТІН САЛЫСТЫРМАЛЫ БАЛАУ

Түйін

Мақалада ірі қара малдағы індетті және инвазивті кератоконъюнктивитінің салыстырмалы зерттеу нәтижелері берілген. Ақмола, Жетісу, Түркістан және Қостанай облыстарының шаруақожалықтарындағы ірі қара малдан 542 биосынама (көз жуындысы) зерттелді. Ірі қара мал моракселлезінің үш қоздырғышы – *Moraxella bovis*, *Moraxella ovis*, *Moraxella bovoculi* анықтау үшін «НУ-Мораксела- ПТР» реагенттерінің жинағымен нақты уақыттағы полимеразды тізбекті реакция жүргізілді. Ақмола облысынан алынған 15 *Moraxella bovoculi* (100%) оң биосынамаларының 33,3% *Moraxella ovis*, 6,7% *Moraxella bovis* құрады. Осы 542 көз жуындысын микроскопиялық зерттеу нәтижесінде 224 сынамадан телязия дернәсілдері анықталып, 43,1% құрады.

Кілтті сөздер: кератоконъюнктивит, *Moraxella*, *Thelasia*, ірі қара мал.

МРНТИ: 68.41.05, 68.41.53, 68.41.55

Р.С. САТТАРОВА^{1*}, В.М. СТРОЧКОВ¹, К.Е. БОРАНБАЕВА¹, Н.А. ЗАМАНБЕКОВ²,
Ф.А. БАКИЕВА¹, К.М. ШЫНЫБАЕВ¹, М.С. ОСПАНОВА³, К. СМАН⁴,
Г.Н. СПИРИДОНОВ⁵

¹Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт, Алматы, Казахстан

²Казахский национальный аграрный исследовательский университет, Алматы, Казахстан

³Южноказахстанский университет им.М.Ауезова, Шымкент, Казахстан

⁴Казахский Национальный педагогический университет им.Абая, Алматы, Казахстан

⁵Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической
безопасности, Казань, Российская Федерация

*e-mail: ranosaitomarovna@gmail.ru

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ И ИНВАЗИОННОМ КЕРАТОКОНЬЮНКТИВИТАХ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

doi:10.53729/MV-AS.2023.04.09

Аннотация

В статье приводятся результаты сравнительных исследований при инфекционном и инвазионном кератоконъюнктивитах крупного рогатого скота за 2023 год. Было исследовано 542 конъюнктивальных смывов крупного рогатого скота хозяйствующих субъектов Акмолинской, Жетысуской, Туркестанской и Костанайской областей. Полимеразно-цепная реакция в режиме реального времени проводилась набором реагентов «ПЦР-Моракселла-РВ» для выявления трех возбудителей моракселлеза - *Moraxella bovis*, *Moraxella ovis*, *Moraxella bovoculi*. В 15 положительных пробах из Акмолинской области, идентифицированных как *Moraxella bovoculi*

(100%), 33,3% опознаны как *Moraxella ovis*, а 6,7% – *Moraxella bovis*. При микроскопическом исследовании конъюнктивальных смывов от этих же животных, телятии были обнаружены в 224 пробах, что составило 41,3%.

Ключевые слова: кератоконъюнктивит, *Moraxella*, *Thelasia*, крупный рогатый скот.

Болезни органов зрения крупного рогатого скота быстро распространяются в крупных животноводческих комплексах со скученным содержанием животных. Заразные болезни глаз животных наносят животноводческим хозяйствам значительный экономический ущерб [1-4] за счет преждевременной выбраковки животных, потери их племенной ценности, снижения удоев и прироста живой массы тела, затрат на проведение ветеринарно-санитарных и специальных ветеринарных мероприятий [5,6]. Наиболее высокий процент заболеваемости наблюдается у телят в возрасте 1–6 мес. (50–70%). В группах дорастивания и откорма, особенно когда скот находится на площадках с большой плотностью поголовья, заболевание регистрируется до 30%. Кератоконъюнктивит среди дойного стада колеблется в пределах 10-12% [7].

На животноводческих комплексах болезни глаз животных регистрируются круглогодично, но наиболее массово – в летние месяцы, когда крупный рогатый скот находится на пастбище и подвержен нападению насекомых (*Musca domestica*, *Musca autumnalis*) – переносчиков возбудителя [8,9]. Заболевание характеризуется слезотечением, гиперемией сосудов конъюнктивы, светобоязнью, серозно-гнойным истечением, помутнением и изъязвлением роговицы, деформацией глазного яблока в виде кератоглобуса или кератоконуса, частичной или полной потерей зрения пораженного глаза животного [10-13].

Инфекционный кератоконъюнктивит моракселлезной этиологии или «pink eye» (розовый глаз) крупного рогатого скота – инфекционное заболевание, характеризующееся поражением глаз, проявляющимся слезотечением, гиперемией сосудов конъюнктивы, светобоязнью, помутнением и изъязвлением роговицы, деформацией глазного яблока в виде кератоглобуса или кератоконуса, частичной или полной потерей зрения [10,11].

Телязиоз – гельминтозное заболевание крупного рогатого скота, проявляющееся конъюнктиво-кератитами, вызванное паразитированием нематод подотряда *Spirurata*, семейства *Thelaziidae* в протоках слезной железы, слезно-носовом канале, под третьим веком и в конъюнктивальном мешке [16]. Заболевание остро протекает у молодняка и, как правило, осложняется секундарной инфекцией, которая сопровождается кератоконъюнктивитами различных форм, в т.ч. моракселлезом.

Цель исследования – сравнительная диагностика инфекционного кератоконъюнктивита крупного рогатого скота двумя методами: на паразитарную, путем микроскопии смывов и на бактериальную инфекцию – полимеразной цепной реакцией в реальном времени.

Материалы и методы исследования

Биологический материал для исследования получили путем ирригации конъюнктивы и ноздрей с использованием стерильных тампонов. Забор образцов проводился по протоколу отбора проб [14]. При этом проводили клинический осмотр как импортированного, так и местного крупного рогатого скота различных половозростных групп и разных пород (Абердино-Ангусы, Герефорды, Голштинофризы, Казахская белоголовая, Аулиекольская и местные беспородные животные). При клиническом исследовании крупного рогатого скота на инфекционный кератоконъюнктивит обращали внимание на общее состояние животного, наличие (отсутствие) слезотечения, светобоязни, гиперемии сосудов конъюнктивы, блефароспазма, иридооспазма, серозно-слизистых или серозно-гнойных истечений из глаз, помутнения и (или) изъязвления роговицы.

Испытанию подверглись 542 пробы от пораженных глаз крупного рогатого скота. Лабораторные исследования проводились микроскопированием [15] конъюнктивальных

смывов на микроскопе MEIJI TECHNO (пр-во Япония) с цифровой фотокамерой при увеличении x10 и x100. и с применением набора реагентов «ПЦР-Моракселла-РВ» для выявления возбудителя моракселлеза методом мультиплексной полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени, разработанным учеными Казахского научно-исследовательского ветеринарного института (СТ ТОО 071240018450-002-2023).

Постановка ПЦР выполнялась по разработанному протоколу в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1 – Протокол амплификации ПЦР РВ

Цикл	Температура, °С	Время	Измерение флуоресценции	Количество циклов
1	95	5 мин	-	1
2	95	10 сек	-	40
	56	20 сек	FAM/Green, JOE/Yellow, ROX/Orange	
	72	20 сек	-	

Полученные данные – кривые накопления флуоресцентного сигнала – анализировались с помощью программного обеспечения используемого прибора для проведения ПЦР в режиме «реального времени» в соответствии с инструкцией производителя к прибору. Результат амплификации ДНК *Moraxella bovoculi* – детектируется по каналу FAM/Green, ДНК *Moraxella ovis* – по каналу JOE/Yellow, ДНК *Moraxella bovis* – по каналу ROX/Orange.

Учет результатов ПЦР-анализа проводился по наличию или отсутствию пересечения кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линией (что соответствует наличию или отсутствию значения порогового цикла «Сt» для исследуемого образца).

Результаты и обсуждение

За период исследования, с мая 2021 года по октябрь 2023 года, было осмотрено 2971 голова крупного рогатого скота разных пород половозрастных групп. Из них выявлено больных с клиническими признаками кератоконъюнктивита 214 особей, от которых были отобраны 542 пробы. Отбору конъюнктивальных смывов и смывов из ноздрей подверглись животные Ескельдинского (66 пробы), Саркандского (78 проб), Алаколского (43 пробы) районов Жетысуской области, Арысского района Туркестанской области (96 проб), крупный рогатый скот крестьянских хозяйств (249 проб) Астраханского района Акмолинской области и «Обаған ауылы» Костанайской области (10 проб). Всего изучено 542 (смывы из конъюнктивы и из ноздрей) пробы (таблица1), которые были подвергнуты исследованию полимеразно-цепной реакцией в реальном времени и микроскопированием на наличие личинок нематод.

Таблица 1 – Сведения по отбору биопроб

Наименование		Кол-во исс-х жив-х	Кол-во клин- и больн ых жив-х	Количество исследованных проб				
областей	районов			смыв	конъюнктив		носовая полость	
					левая	правая	левая	правая
Жетысуская	Ескельды	172	22	66	26	17	10	13
	Сарканд	144	26	78	19	19	24	16
	Алакол	409	24	43	15	7	14	7
Туркестанская	Арыс	127	24	96	24	24	24	24
Акмолинская	Астрахан	2119	118	249	129	98	10	12
Костанайская	Алтынсарин	-	-	10	4	6	-	-
Итого		2971	214	542	217	171	82	72

Биопробы из слизистых носовой полости также старались брать со стороны большого глаза и из ноздрей с серозными истечениями, т.к. *Thelazia rhodesi* поражают конъюнктивальный мешок, область третьего века, а *T. gulosa* и *T. skrjabini* обитают в слезно-носовом канале и слезной железе. В зависимости от клинического состояния одного животного с признаками конъюнктивита брали по 1 или 2, иногда 3, максимум по 4 пробы, т.е., если у животного есть клинические поражения в обоих глазах и наблюдались истечения из ноздрей, брали пробы из каждого глаза и ноздри одновременно. Результаты исследования приведены в таблице 2.

Таблица 2 - Сведения по распространению инфекционного и инвазионного кератоконъюнктивита среди крупного рогатого скота в некоторых областях РК

Наименование		Результаты лабораторных исследований								
		микроскопия				ПЦР РВ				
области	районы	смыв	конъюнктив		носовая полость		конъюнктив а		носовая полость	
			иссл-о	полож	иссл-о	полож	иссл-о	ПОЛ ОЖ	иссл-о	ПОЛ ОЖ
Жетысу	Ескелді	66	43	43	23	-	43	-	-	-
	Сарканд	78	38	38	40	-	38	-	-	-
	Алакол	43	22	22	21	-	22	-	-	-
Туркестан	Арыс	96	48	0	48	-	48	-	-	-
Акмола	Астрахан	249	227	112	22	-	227	15	-	-
Костанай	Алтынсарин	10	10	9	-	-	10	-	-	-
Итого		542	388	224	154	0	388	15	154	0

По данным таблицы 2, из исследованно 187 проб из крестьянских хозяйств Жетысуской области нематоды были обнаружены в 103 конъюнктивальных смывах. Аналогичная картина наблюдалась при исследовании 249 проб из Акмолинской области (112 положительных проб) и Костанайской области (9 положительных проб), тогда как в 154 смывах из носовой полости телязии не обнаружены.

Полимеразно-цепной реакцией в реальном времени ДНК культур моракселл выявлены только из Акмолинской области, т.е. из 227 конъюнктивальных смывов 15 реагировали положительно, в частности, в 15 положительно реагировавших пробах на *Moraxella bovoculli*, 5 проб было идентифицировано как *Moraxella bovoculli* и *Moraxella ovis* и одна проба - на *Moraxella bovoculli*, *Moraxella ovis* и *Moraxella bovis* (рисунки 2 - 4).

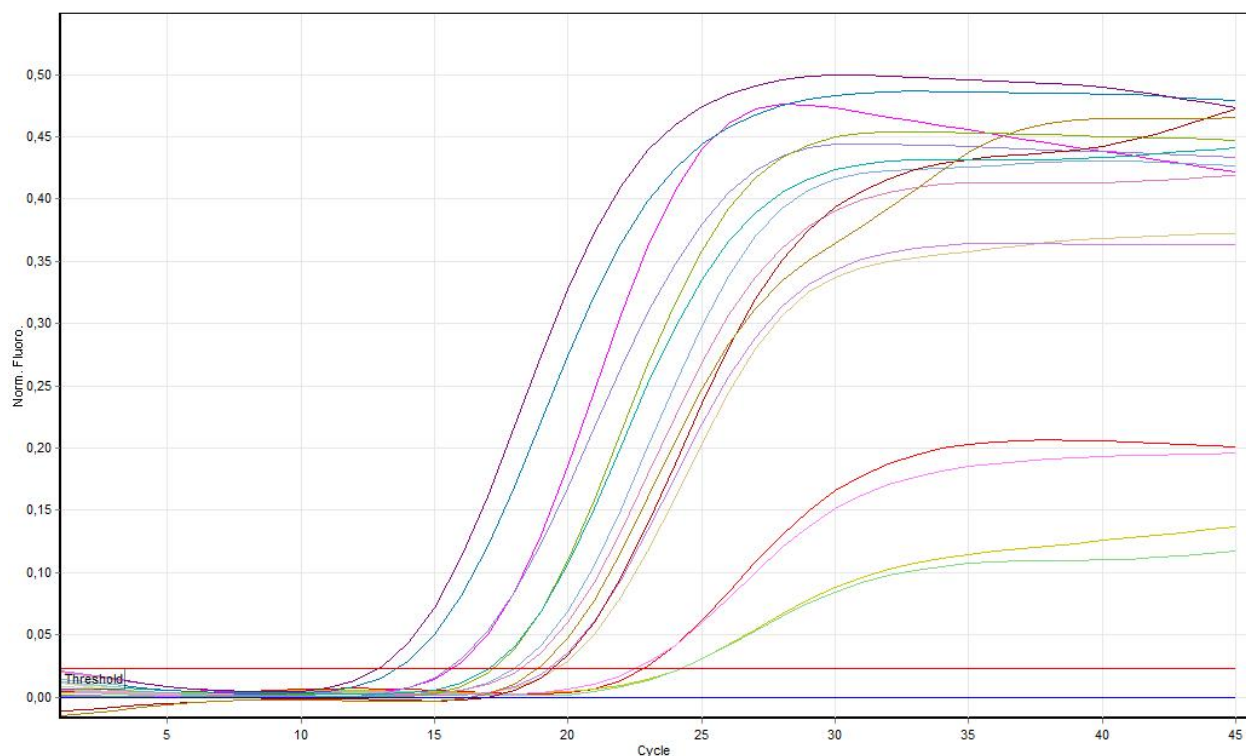


Рисунок 2 - Кривые амплификации для полевых образцов по каналу Green *M. Bovoculi*

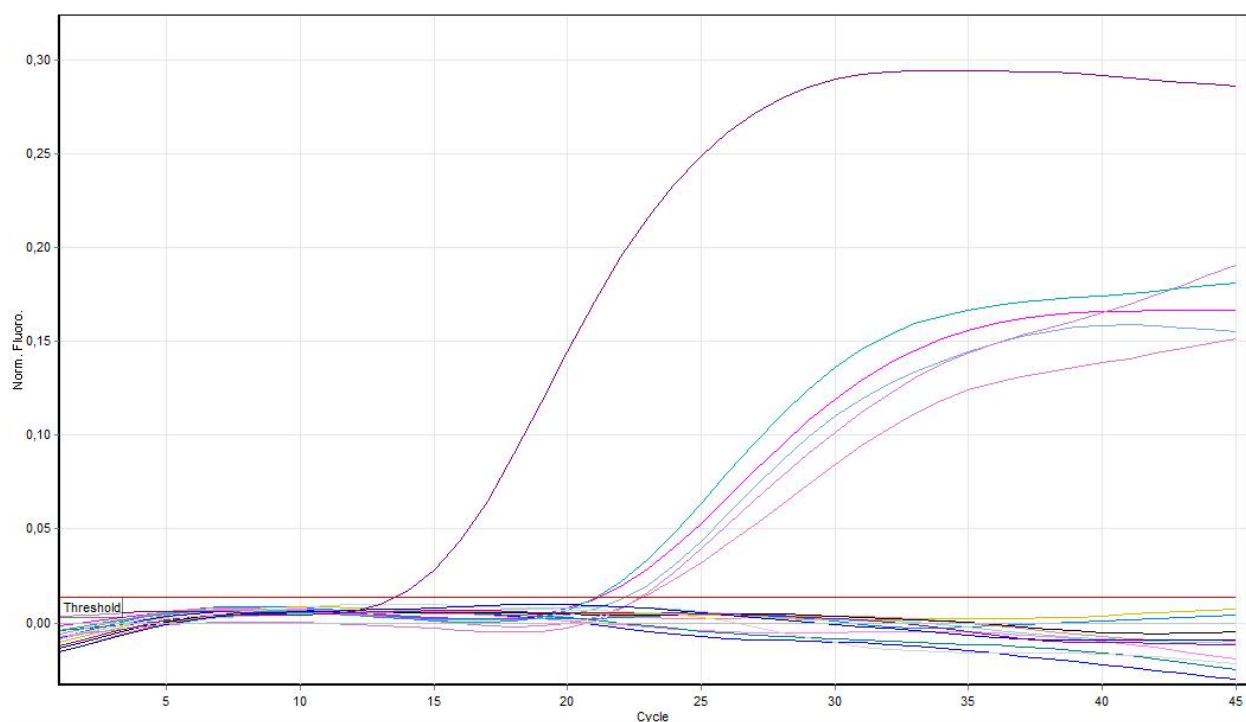


Рисунок 3 - Кривые амплификации для полевых образцов по каналу Yellow (*M. ovis*)

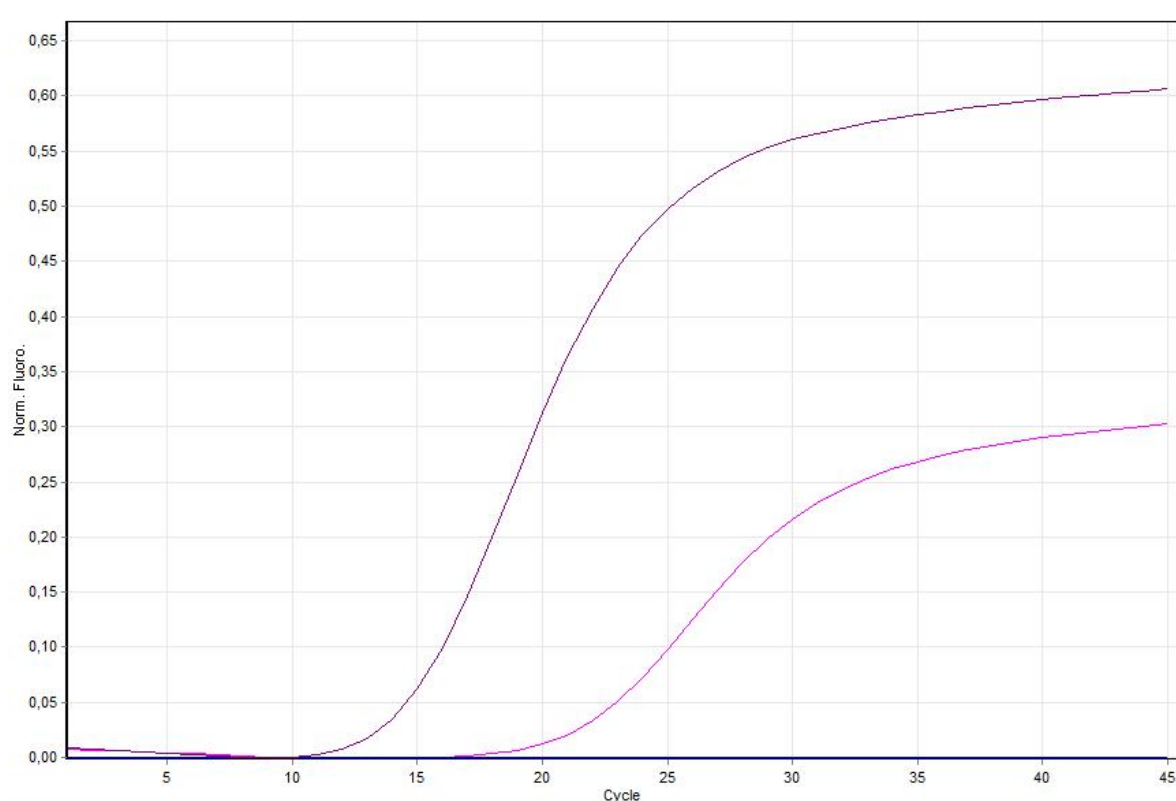


Рисунок 4 - Кривые амплификации для полевых образцов по каналу Orange (*M. bovis*)

Телязии вызывают механическое раздражение конъюнктивы глаз, повреждая роговицу, слизистую оболочку, выделяя продукты обмена веществ, снижая иммунитет, протекая с проявлениями клинической картины как при моракселлёзе. С целью дифференциации моракселлёза, исследовали смывы на наличие телязий в биопробах (рисунки 4,5).

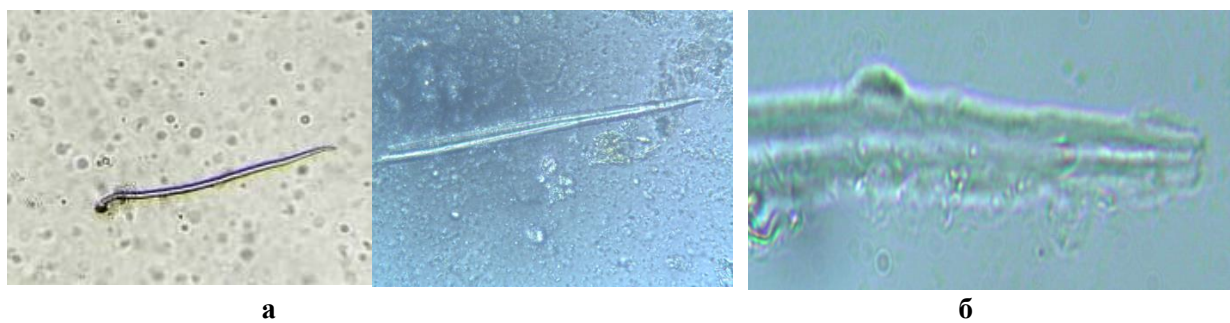


Рисунок 5 - Личинки телязии под световым микроскопом x10 (а), x100 (б)

Из рисунка 3 видно, что личинки имеют шаровидный чехлик и скошенный без утолщений головной конец, что характерно для *Thelazia rhodesi*, которые поражают конъюнктивальный мешок, область третьего века.

По данным наших исследований выявлено, что клинические картины телязиоза и моракселлёза очень схожи (рисунок 6), имеют сезонный характер.



а - клиническое проявление моракселлеза крупного рогатого скота

б - клиническая картина телязиоза крупного рогатого скота

Рисунок 6 – Клиническая картина при инфекционном и инвазионном кератоконъюнктивитах крупного рогатого скота. Клиническая картина кератоконъюнктивита а – крупный рогатый скот хозяйствующего субъекта Жетысуской, б – Акмолинской областей

Как видно из рисунка 6, клинические картины при инфекционном и инвазионном кератоконъюнктивите схожие.

Заключение

По данным наших исследований выявлено, что клинические картины телязиоза и моракселлеза идентичны. В обоих случаях трансмиссивными переносчиками являются инсекты – *Musca domestica*, *Musca autumnalis* [16,17]. Инвазионный и инфекционный кератоконъюнктивиты могут протекать как одновременно, так и обособленно друг от друга. Моракселлез и телязиоз крупного рогатого скота обнаружены в хозяйствующих субъектах Акмолинской области, тогда как в крестьянских хозяйствах Жетысуской и Костанайской областей был установлен только телязиоз КРС.

При исследовании под световым микроскопом личинки нематод были обнаружены в 224 пробах, что составило 41,3%, в частности, в 103 смывах от КРС Жетысуской (55,1%), 112 пробах Акмолинской (44,9%) и 9 случаях из Костанайской областей (90%).

ДНК патогенов моракселл был выделен в 15 случаях из 227 конъюнктивальных смывов из Акмолинской области, что составило 6,6%.

Использование набора реагентов «ПЦР-Моракселла-РВ» показало, что в 15 положительных пробах, идентифицированных как *Moraxella bovoculli* (100%), *Moraxella ovis* выявлено в пяти пробах (33,3%), а *Moraxella bovis* – в одной пробе (6,7%).

При исследовании проб из носовой полости методом ПЦР РВ ДНК моракселл не идентифицированы, личинки телязий из этих же проб также не были обнаружены.

Финансирование

Работа выполнена в рамках ПЦФ МСХ РК (2021-2023 гг.) по проекту «Разработать и предложить для производства мультиплексную полимеразно-цепную реакцию (ПЦР) в режиме реального времени для выявления возбудителей инфекционного кератоконъюнктивита КРС».

Литература:

1 Brown M.H., Brightman A.H., Fenwick B.W., Rider M.A. Infectious bovine keratoconjunctivitis: a review. *J Vet Intern Med*, 1998, Jul-Aug.; 12(4): 259-66. (doi: 10.1111/j.1939-1676.1998.tb02120.x. PMID: 9686385)

2 Postma G.C., Carfagnini J.C., Minatel L. *Moraxella bovis* pathogenicity: an update. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 2008, Nov.: 31(6): 449-58. (doi: 10.1016/j.cimid.2008.04.001. Epub 2008 Jun 2. PMID: 18514312)

3 Kneipp M. Defining and Diagnosing Infectious Bovine Keratoconjunctivitis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2021, Jul.; 37(2): 237-252. (doi: 10.1016/j.cvfa.2021.03.001. PMID: 34049656)

4 Jill Franks, An Update On Bovine Pinkeye Infectious Bovine Keratoconjunctivitis (Pinkeye) in Beef Cattle. (www.addl.purdue.edu/newsletters.2003,summer/bovpinkeye.shtml)

5 Woods B.J., Millman S.T., da Silva N.A., Dewell R.D., Parsons R.L., Wang C., O'Connor A.M. Pain and sickness behavior associated with corneal lesions in dairy calves. *F1000Res.* 2015, Aug., 11; 4:546. (doi: 10.12688/f1000research.6649.1. PMID: 26949517; PMCID: PMC4758373)

6 Angelos J.A., Elizalde P., Griebel P. Bovine Immune Responses to *Moraxella bovis* and *Moraxella bovoculi* Following Vaccination and Natural or Experimental Infections. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2021, Jul.; 37(2): 253-266. (doi: 10.1016/j.cvfa.2021.03.002. PMID: 34049657)

7 Козиков И.Н. Современный подход к лечению инфекционного кератоконъюнктивита у крупного рогатого скота. Эффективное животноводство. 2019, №5 (153). (<https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennyy-podhod-k-lecheniyu-infektsionnogkeratokonyunktivita-u-krupnogo-rogatogo-skota>)

8 Loy J.D., Hille M., Maier G., Clawson M.L. Component Causes of Infectious Bovine Keratoconjunctivitis - The Role of *Moraxella* Species in the Epidemiology of Infectious Bovine Keratoconjunctivitis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2021, Jul.; 37(2): 279-293. (doi: 10.1016/j.cvfa.2021.03.004. PMID: 34049659)

9 Trout Fryxell R. T., Moon R.D., Boxler D.J., Watson D.J., Face Fly (Diptera: *Muscidae*) - Biology, Pest Status, Current Management Prospects, and Research Needs. *Journal of Integrated Pest Management.* Vol. 12, Issue 1, 2021 (5). (<https://doi.org/10.1093/jipm/pmaa020>)

10 Ahmed Seid. Review on Infectious Bovine Keratoconjunctivitis and its Economic Impacts in Cattle. *Dairy and Vet Sci J.* 2019; 9(5): 555774. (DOI:10.19080/JDVS.2019.09.555774)

11 Holzhauser M., Visser I.J., van Maanen K. Infectieuze keratoconjunctivitis bij runderen, overzicht aan de hand van kliniek- en laboratoriumonderzoek op vier bedrijven [Infectious bovine keratoconjunctivitis (IBK) in cows, clinical and lab review at four farms]. *Tijdschr Diergeneeskd.* 2004, Aug. 15; 129(16): 526-9. (Dutch. PMID: 15347189)

12 Boranbayeva K.E., Zamanbekov N.A., Sattarova R.S., Spiridonov G.N., Zhylgeldiyeva A.A., Turzhigitova Sh. B. Comparative Pharmacotherapeutic effectiveness of Therapeutic Ointments in infectious Keratoconjunctivitis in cattle. *Research Journal of Pharmacy and Technology.* 2023; 16(1):46-4. (doi: 10.52711/0974-360X.2023.00009, <https://rjptonline.org/AbstractView.aspx?PID=2023-16-1-9>)

13 Ivanov N.P., Bakiyeva F.A., Namet A.M., Sattarova R.S., Issakulova B.Z., Akmyrzaev N.Z. The epizootic situation of cattle moraxellosis in several economic entities of the Republic of Kazakhstan. *Vet World.* 2021, May; 14(5): 1380-1388. (doi: 10.14202/vetworld.2021.1380-1388. Epub 2021 May 30. PMID: 34220144; PMCID: PMC8243689)

14 Бюллетень нормативных и методических документов госсанэпиднадзора. 1.2. Гигиена, токсикология, санитария, Порядок отбора проб для выявления и идентификации наноматериалов в лабораторных животных, Выпуск 1 (43), март 2011, стр. 115-143.

15 Тазаян А.Н. *Общая паразитология и гельминтология: учебное пособие/Донской ГАУ.* – Персиановский: Донской ГАУ, 2019, (<https://e.lanbook.com/book/134370>)

16 Глазунова Л.А., Глазунов Ю.В. Распространение телязиоза крупного рогатого скота и видовой состав телязий в лесостепной зоне Северного Зауралья. *Вестник КрасГАУ.* 2018. №4 (139). (<https://cyberleninka.ru/article/n/rasprostranenie-telyazioza-krupnogo-rogatogo-skota-i-vidovoy-sostav-telyaziy-v-lesostepnoy-zone-severnogo-zauralya>)

17 (Pinkeye) in Beef Cattle. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/<https://transylvania.ces.ncsu.edu/wp-content/uploads/2017/07/Livestock-News-Summer-2017-Transylvania-County.pdf?fwd=no> (дата обращения 29.11.2023г)

18 DeBower, Dane and Thompson, James R. (1997) "Infectious Bovine Keratoconjunctivitis," *Iowa State University Veterinarian*: Vol. 59 : Iss. 1 , Article 11. (chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/<https://core.ac.uk/download/pdf/38907996.pdf>)