

**«ҚазАгроИнновация» акционерлік қоғамы
«ҚАЗАҚ ҒЫЛЫМИ-ЗЕРТТЕУ ВЕТЕРИНАРИЯ
ИНСТИТУТЫ»
ЖАУАПКЕРШІЛІГІ ШЕКТЕУЛІ СЕРІКТЕСТІГІ**

1905



КазНИВИ

**Акционерное общество «КазАгроИнновация»
ТОВАРИЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
«КАЗАХСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ВЕТЕРИНАРНЫЙ ИНСТИТУТ»**

**ВЕТЕРИНАРИЯ ҒЫЛЫМЫНЫҢ ЗАМАНАУИ
ТЕОРИЯЛЫҚ ЖӘНЕ ПРАКТИКАЛЫҚ
МӘСЕЛЕЛЕРІ**

**ПРОБЛЕМЫ ТЕОРИИ И ПРАКТИКИ
СОВРЕМЕННОЙ ВЕТЕРИНАРНОЙ НАУКИ**

Том LX

**«ҚазАгроИнновация» акционерлік қоғамы
«ҚАЗАҚ ҒЫЛЫМИ-ЗЕРТТЕУ ВЕТЕРИНАРИЯ
ИНСТИТУТЫ»
ЖАУАПКЕРШІЛІГІ ШЕКТЕУЛІ СЕРІКТЕСТІГІ**

1905



КазНИВИ

**Акционерное общество «КазАгроИнновация»
ТОВАРИЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
«КАЗАХСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ВЕТЕРИНАРНЫЙ ИНСТИТУТ»**

**ВЕТЕРИНАРИЯ ҒЫЛЫМЫНЫҢ ЗАМАНАУИ
ТЕОРИЯЛЫҚ ЖӘНЕ ПРАКТИКАЛЫҚ
МӘСЕЛЕЛЕРІ**

**ПРОБЛЕМЫ ТЕОРИИ И ПРАКТИКИ
СОВРЕМЕННОЙ ВЕТЕРИНАРНОЙ НАУКИ**

**Сборник научных трудов
Том LX**

Алматы 2014

УДК 619:001
ББК 48.1:72
В 38

Рекомендовано к изданию ученым советом ТОО «Казахский
научно-исследовательский ветеринарный институт»
АО «КазАгроИнновация» (протокол № 2 от 09.07.2014 г.)

Председатель ученого совета - доктор ветеринарных наук, профессор А.А.Султанов

Редакционная коллегия:

Султанов А.А., докт.вет.наук, профессор (главный редактор),
Абдыбекова А.М., докт. вет. наук, профессор (зам. главного редактора),
Тлегенова Ж.Ж., канд. биол. наук (ответственный за выпуск)

Члены редколлегии:

Барамова Ш.А., докт. биол. наук, профессор,
Тургенбаев К.А., докт. вет. наук, профессор,
Кутумбетов Л.Б., докт. вет. наук,
Сембина Ф.Е., канд. вет. наук,
Сулейменов М.Ж., канд. вет. наук, доцент

В 38 Ветеринария ғылымының заманауи теориялық және практикалық мәселелері: ғыл.
еңбектер жинағы
Проблемы теории и практики современной ветеринарной науки: Сб.науч.тр.–
Алматы, 2014. - 308 б. – қазақша, орысша.

ISBN 978-601-80394-0-9

В сборнике настоящих трудов опубликовано 55 научных статей ученых Казахстана, России и Китая в области ветеринарной медицины. Освещены результаты исследований по мониторингу, диагностике, профилактике, лечению бактериальных, вирусных, паразитарных болезней сельскохозяйственных животных, а также в области пищевой безопасности.

УДК 619:001
ББК 48.1:72

ISBN 978-601-80394-0-9

© ТОО «КазНИВИ», 2014

РОЛЬ ВЕТЕРИНАРИИ В СОХРАНЕНИИ И РАЗВИТИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ И ПТИЦЫ В КАЗАХСТАНЕ

**А.А. Султанов, генеральный директор «КазНИВИ», доктор
ветеринарных наук, профессор**

Болезни сельскохозяйственных животных представляют одну из наиболее серьезных общебиологических, социальных и экологических проблем для Республики Казахстан. Кроме прямого ущерба, наносимого животноводству, вследствие снижения продуктивности, долголетия, нарушения воспроизводительных функций, увеличения затрат на лечение и обслуживание, болезни существенно снижают темпы генетического улучшения популяций животных.

Интенсивная система выращивания и использования сельскохозяйственных животных, а также односторонняя селекция на продуктивность, сопровождается снижением естественной резистентности, ростом заболеваемости, в том числе внутренними незаразными болезнями и иммунодефицитами.

Особенно актуальна проблема инфекционных заболеваний, многие из которых относятся к антропоозоозам, в связи с появлением новых форм патогенов, возбудителей устойчивых к лекарственным препаратам, ухудшением экологической обстановки.

Как показывает практика, только одни зооветеринарные мероприятия по борьбе с болезнями недостаточны, необходимо использовать селекционно-генетические методы повышения наследственной устойчивости животных.

Проблема выявления и использования генетической устойчивости животных к наиболее распространенным заболеваниям с применением методов количественной генетики и теоретической селекции широко разрабатывалась многими учеными [1, 2, 3].

Селекционно-ветеринарная генетика является важным и перспективным направлением в совершенствовании сельскохозяйственных пород животных. В условиях широкого распространения искусственного осеменения и использования ограниченного числа производителей, а также в связи с сохранением генофонда локальных и исчезающих пород, обладающих уникальными адаптационными свойствами, селекция на повышение резистентности животных имеет особое значение. Кроме того, создание стад и пород, устойчивых к болезням и обладающих высокой жизнеспособностью - это путь к экологически безопасным технологиям, предотвращающим загрязнение окружающей среды лекарственными препаратами, санитарными средствами и уменьшающим заражение среды

болезнетворными вирусами, микробами и другими патогенами, которые могут повлиять на здоровье людей.

В современных условиях наряду, с высокой продуктивностью, требуется, чтобы животные обладали устойчивостью к болезням и, прежде всего, к таким распространенным как: лейкоз, туберкулез, бруцеллез, мастит и многие др., которые наносят огромный экономический ущерб хозяйствам.

Борьба с болезнями животных в настоящее время проводится главным образом профилактикой и лечением. Одним из способов профилактики инфекционных заболеваний является искусственная их иммунизация, выработка у животных специфического иммунитета путем усиления соответствующего.

Однако искусственные иммунизации, применение лекарственных препаратов, в т. ч. антибиотиков, а также отбор животных для дальнейшего воспроизводства только по продуктивным признакам, снижают природную и видовую устойчивость животных к болезням.

Другим, не менее важным способом предупреждения различных заболеваний является укрепление естественных защитных сил организма, повышение его резистентности. Давно известно, что восприимчивость животных к болезням и степень их проявления во многом обусловлены состоянием естественной резистентности. Однако повысить ее можно только используя в селекции какой-либо косвенный генетический метод (группу крови, гены главного комплекса гистосовместимости, показатели естественной резистентности, иммунного ответа и др.).

Для обеспечения селекции на устойчивость нужно выявлять резистентных и восприимчивых особей. Устойчивость к лейкозу, туберкулезу, бруцеллезу и другим болезням можно определить только в неблагополучных по заболеваемости стадах. Следует помнить, что по фенотипу отдельных животных трудно определить наследственную устойчивость или восприимчивость из-за сложной генетической обусловленности этих признаков и влияния факторов среды. Частота заболеваемости животных в родственной группе в сравнении со средней по стаду или по другим родственным группам может быть критерием резистентности или восприимчивости. Поэтому, кроме массового отбора используют оценку семейств и генотипа производителей по устойчивости и восприимчивости потомства к болезням.

Для выявления устойчивости и восприимчивости проводят искусственное заражение животных патогенными микроорганизмами, клещами, гельминтами и т. д.

Убедительные результаты при селекции на устойчивость к болезням получены в птицеводстве. Большой экономический ущерб здесь приносит пуллороз (тиф). Эта инфекционная болезнь куриных, вызываемая бактериями рода *Salmonella*, характеризуется поражением кишечника, паренхиматозных органов и яичников. Робертс и Кард в течение четырех лет проводили селекцию на резистентность к пуллорозу путем искусственного заражения

кур породы белый леггорн. В результате этой работы выживаемость кур после заражения стандартной дозой возбудителя была 70% против 28% в контроле. Хатт с сотрудниками показал эффективность непрямой селекции кур на устойчивость к пуллорозу. В качестве признака устойчивости он использовал быстрое повышение температуры тела, что, по-видимому, связано со скоростью образования антител [1].

Примером успешной селекции крупного рогатого скота на устойчивость к клещам является выведение в течение 25-летней работы породы «австралийский молочный зебу». Новая порода получена путем скрещивания зебу с европейскими породами и несет около 20-40% крови зебу. Этот вид зебу с успехом разводится в зоне тропического климата, имеет достаточно высокую продуктивность и не поражается клещами.

К примеру, в Австралии устойчивость скота к клещам оценивают путем надевания ошейника с 20 тыс. личинок и подсчета числа клещей после определенного промежутка времени на определенной площади (один или несколько участков) поверхности тела животных. В качестве дополнительной оценки можно привлекать уровень антител в сыворотке крови.

Резистентность к туберкулезу, например, семейства кроликов, можно оценивать после введения стандартной дозы возбудителя по продолжительности жизни и среднему числу возбудителей, необходимых для образования одного бугорка.

Резистентность свиней к бруцеллезу можно определить после искусственного заражения с помощью реакции агглютинации. Отсутствие реакции агглютинации указывает на резистентность, а наличие - на чувствительность к бруцеллезу.

Косвенные признаки могут быть показателями отбора на резистентность. Титр антител может быть одним из признаков, селекция по которому позволяет повысить устойчивость к некоторым заболеваниям.

К сожалению, для большинства болезней пока неизвестны надежные показатели, по которым возможна успешная селекция на резистентность, не требующая больших затрат.

Также для определения устойчивости и восприимчивости можно применять непрямую селекцию на резистентность.

На сегодняшний день заражение животных возбудителями болезней для выявления устойчивых и восприимчивых особей в большинстве случаев неприемлемо. Поэтому изучается возможность использования непрямой селекции по генетическим или биохимическим маркерам (индикаторам) для повышения резистентности к болезням. Маркерные признаки должны характеризоваться:

- 1) достаточно высокой (для практического применения) генетической корреляцией с резистентностью к болезни;
- 2) высокой наследуемостью;
- 3) высокой повторяемостью;

4) ранним проявлением - для оценки устойчивости животных в раннем возрасте;

5) независимым от условий среды наследованием (кодоминирование и т. д.).

Пример генетических маркеров - антигены В²¹ и В¹⁹ В-системы групп крови у кур, коррелирующие с устойчивостью и восприимчивостью к болезни Марека, галотановый тест, с помощью которого можно выявить свиней, чувствительных к злокачественной гипертермии.

Один из индикаторов устойчивости к раку глаз и глазных век у скота герефордской породы - пигментация вокруг глаз. В условиях интенсивной солнечной радиации животные с пигментацией на веках и вокруг глаз меньше заболевают раком глаз, чем белоголовые особи с непигментированными веками. Генетическую устойчивость или восприимчивость по пигментации можно определить в 3-месячном возрасте. Предлагают вести селекцию у герефордского скота на тип животных, имеющих пигментированное кольцо вокруг глаз. Если оба родителя не поражены раком после 4 лет, то заболеваемость их потомства в 3 раза ниже по сравнению с потомками больных родителей.

Показана наследственная обусловленность реакции гиперчувствительности замедленного типа на ФГА и показателя иммуноцитоприлипания у крупного рогатого скота. Предложено учитывать эти показатели в селекционных программах [5].

Маркерами резистентности к бактериальным болезням могут быть интенсивность продукции антител, титр иммуноглобулинов (общий или определенных классов), пик сывороточных антител после стимуляции бактериальными антигенами, количественные и качественные параметры иммунологических данных: Т- и В- лимфоцитов и их субпопуляций (Т-хелперов и Т-супрессоров), а также лейкоцитарной формулы, белковых фракций и других биохимических показателей крови [6].

Мероприятия по повышению устойчивости к болезням

Знание роли наследственности в этиологии болезней необходимо для разработки селекционных программ повышения устойчивости животных. В связи с невозможностью выведения абсолютно резистентных животных необходим комплексный подход к борьбе с болезнями, включающий методы ветеринарии, селекции и обеспечения оптимального уровня кормления и содержания. Относительная наследственная устойчивость животных создает благоприятные условия и для получения большего эффекта от вакцинации.

Выдвинута концепция (В. Л. Петухов), что после достижения биологического плато продуктивности, а скорее эколого-экономического уровня, основными селекционируемыми признаками у животных будут резистентность к болезням, стрессам, экологически неблагоприятным факторам [7]. Но уже сейчас все острее становится проблема повышения устойчивости животных к болезням. Многие помнят сообщения в прессе (1996 г.) о высоком уровне заболеваемости коров губчатым энцефалитом в

Англии (в прессе больных животных называли «бешеными коровами»), когда был поставлен вопрос об убое нескольких миллионов голов скота. Некоторые последствия этой трагедии сравнивали с последствиями чернобыльской катастрофы.

Все вместе взятое свидетельствует о необходимости расширения исследований в области селекционно-ветеринарной генетики.

Для повышения устойчивости животных к болезням ветеринарные врачи и селекционеры должны выполнять следующие мероприятия:

1) организовать диагностику болезней. Все данные о болезнях и причинах выбытия животных должны учитываться в племенных карточках, а также в закодированном виде в каталогах производителей и государственных племенных книгах. При этом учитываются и описываются все аномалии;

2) проводить комплексную оценку иммунной системы организма, включающую показатели гуморального и клеточного иммунитета и неспецифической резистентности;

3) выявлять показатели отбора, в том числе генетические и биохимические маркеры устойчивости, позволяющие вести селекцию без заражения животных;

4) проводить генеалогический анализ стада и давать комплексную оценку генофонда семейств. Выявлять семейства, устойчивые и восприимчивые к болезням. Необходимо размножать резистентные и высокопродуктивные семейства (особенно с комплексной устойчивостью).

5) Запретить разведение лейкозных семейств крупного рогатого скота;

6) отбирать молодняк на племя, по возможности, от матерей, отличающихся устойчивостью к болезням и длительностью продуктивного использования;

7) постоянно оценивать производителей по устойчивости и восприимчивости потомства к болезням и признакам продуктивности и т. д. Для точной оценки быков-производителей по устойчивости нужно иметь 100-150 потомков. Широко использовать производителей с комплексной резистентностью к болезням. Результаты оценки производителей вносятся в каталоги и госплемкниги;

8) применять в комплексе прямой и непрямой отбор, включающий массовый отбор, отбор семейств и в пределах семейств, оценку производителей по устойчивости потомства к болезням, использовать маркеры;

9) получать производителей следующего поколения от высокопродуктивных матерей из семейств, обладающих комплексной устойчивостью, и отцов, оцененных по резистентности потомства;

10) включать в планы племенной работы разделы, освещающие вопросы повышения устойчивости животных к болезням и меры профилактики распространения наследственных аномалий;

11) применять трансплантацию эмбрионов, как один из методов повышения эффективности селекции на устойчивость к болезням. Матки-

доноры должны происходить из семейств с комплексной резистентностью. Наряду с продуктивностью крепкое здоровье должно быть одним из показателей при отборе доноров для трансплантации;

12) обрабатывать информацию о заболеваниях и причинах выбраковки животных с помощью IT- технологий;

13) включать в селекционные индексы информацию о резистентности животных к болезням;

14) использовать в будущем методы биотехнологии, в том числе генетической и клеточной инженерии, что позволит успешно проводить селекцию на устойчивость к болезням, стрессоустойчивость и длительность продуктивного использования животных.

Заключение

Следует ожидать, что ограничение распространения некоторых инфекционных и паразитарных заболеваний через использование генетической устойчивости, найдет широкое применение в практике, если удастся идентифицировать устойчивых животных не только в случае заболевания или контрольного заражения. Большие надежды возлагаются на использование маркеров, которые сигнализируют бы о существовании такой устойчивости без контакта животного с болезнетворным агентом. В связи с недостаточной изученностью и отсутствием комплексного подхода к её решению исследования в этом направлении остаются актуальными.

Для проведения совместных исследований по данной проблеме ТОО «КазНИВИ» на 2015-2017 годы подготовлен научно-технический проект на тему: «Разработка критериев оценки устойчивых к инфекционным заболеваниям животных отечественных типов молочного скота Казахстана». Проект был рассмотрен и одобрен АО «КазАгроИнновация», однако не включен в темы НИИ животноводства и кормопроизводства.

Выполнение проекта предусматривает изучение иммунобиологических показателей (гематологических, биохимических, белковых фракций, Т- и В-лимфоцитов и их субпопуляций и т.д.) и факторов неспецифической защиты для определения типа крупного рогатого скота с высоким индексом иммунного ответа к инфекционным заболеваниям.

Литература

1. Хатт Ф.Б. Наследственная устойчивость домашних животных к заболеваниям. М.: Колос, 1963. – 240 с.
2. Петухов В.Л. Способ оценки степени влияния радиационного загрязнения территорий на популяцию крупного рогатого скота // В.Л. Петухов, Л.К. Эрнст, Н.Н. Кочнев и др./ Патент на изобретение РФ № 2202809 от 20.04.2003.- Бюл. №1.- 10 с.
3. Кирпичников В.С. Проблемы селекции животных на повышение устойчивости к заболеваниям/ В.С. Кирпичников, Ю.И. Илясов, Л.Н. Шарт// Сельскохозяйственная биология.- 1988.- №4.- С. 22 27.

4. Маренков В.Г. Продуктивность, резистентность и стрессоустойчивость черно-пестрого скота Западной Сибири: автореф. ... канд. биол. наук. – Новосибирск, 1994. - 22с.
5. Латыпова З.А. Иммунологические показатели молочных пород крупного рогатого скота в норме и при бруцеллезе: автореф. ... канд. биол. наук. – Алматы, 2010. – 32 с.
6. Петухов В.Л. Ветеринарная генетика / В.Л. Петухов, А.И. Жигачев, Г.А. Назарова. 2-е изд. перераб. и доп. - М.: Колос, 1996. - 384с.

Түйін

ҚАЗАҚСТАНДАҒЫ АУЫЛШАРУАШЫЛЫҚ ЖАНУАРЛАРДЫҢ ЖӘНЕ ҚҰСТАРДЫҢ ГЕНЕТИКАЛЫҚ РЕСУРСТАРЫНЫҢ САҚТАЛУЫ ЖӘНЕ ДАМУЫНДАҒЫ ВЕТЕРИНАРИЯДАҒЫ РӨЛІ

А.А. Султанов

«Қазақ ғылым-зерттеу ветеринарлық институты»ЖШС

Мақалада жануарлардың инфекциялық ауруларға төзімділігіне бағытталған селекциялық – ветеринариялық генетиканың мәселелері мен жетістіктері көрсетілген. Жануарлардың ауруларға төзімділік селекциясын жоғарылату бойынша мысалдар және негізгі шаралар келтірілген.

Кілттік сөздер: ветеринария, селекция, инфекциялық аурулар, төзімділік

Summary

THE ROLE OF VETERINARY IN PRESERVING AND DEVELOPING GENETIC RESOURCES OF FARM ANIMALS AND BIRDS IN KAZAKHSTAN

A.A. Sultanov

LLP “Kazakh scientific research veterinary institute”

The article shows problems and achievements in breeding and veterinary genetics directed to durability of animals towards infectious diseases. Given examples and main measurements to improve disease resistance breeding.

Key words: veterinary, breeding, infectious diseases, durability

ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО ЯЩУРУ В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН И МЕРЫ БОРЬБЫ С БОЛЕЗНЬЮ

**А.А. Султанов, генеральный директор ТОО «КазНИВИ», доктор
ветеринарных наук, профессор**

**М.К. Тайтубаев, зам. председателя Комитета ветеринарного контроля и
надзора МСХ РК**

**И.И. Сытник, директор РГП «Национальный референтный центр по
ветеринарии»**

**П.Ш. Ибрагимов, директор РГП на ПХВ «Республиканская
ветеринарная лаборатория», доктор ветеринарных наук, профессор**

Б.Ш. Мырзахметова, кандидат ветеринарных наук

**Л.Б. Кутумбетов, доктор ветеринарных наук, зав. лаб. вирусологии ТОО
«КазНИВИ»**

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

ГУ «Комитет ветеринарного контроля и надзора»

РГП «Национальный референтный центр по ветеринарии»

РГП на ПХВ «Республиканская ветеринарная лаборатория»

Эпизоотическая ситуация, приведенная в данной статье, основана на статистических данных о вспышках ящура в Республике Казахстан за период с 2007 г. по 2013 г. [ГУ «КВКН» МСХ РК], результатах мониторинга антител на НСП вируса ящура в сыворотке крови животных [РГП «НРЦВ» МСХ РК], данных о поствакцинальном иммунном статусе животных [РГП «РВЛ» МСХ РК] и результатах индикации, выделения, идентификации и генетического анализа возбудителя болезни [РГП «НИИББП» МОН РК, ФГУП «ВНИИЗЖ» МСХ РФ].

Согласно этим данным ящур, за указанный период, регистрировался [рисунок 1] в 2007 году в Западно-Казахстанской, Атырауской, Карагандинской областях, в 2010 году - Акмолинской и Жамбылской областях, в 2011 году - Западно-Казахстанской, Кызыл-Ординской, Восточно-Казахстанской областях, в 2012 году – Жамбылской, Алматинской, Восточно-Казахстанской областях, а в 2013 году – Восточно-Казахстанской области. За первые 4 месяца текущего 2014 года клиническое проявление ящура в стране зарегистрировано не было.

Результаты индикации и выделения, а также серотипирования [таблица 1, рисунки 1, 2 и 3] показали, что этиологией вспышек ящура за указанный период являлся вирус типов О и А, относящиеся к подтиповым вариантам «О/PanAsia-2», «О/PanAsia», «А/Asia Iran-05», «А/SEA-97».

Исходя из того, что вспышки ящура на территории Республики Казахстан появляются вследствие проникновения его возбудителя из

территории сопредельных государств, таких как: Китайская Народная Республика, Республика Кыргызстан, Республика Узбекистан, с 2012 года территория Республики Казахстан была условно разделена на две категории. В первую из них были отнесены 9 административных областей (Акмолинская, Актюбинская, Атырауская, Западно-Казахстанская, Карагандинская, Костанайская, Мангыстауская, Павлодарская, Северо-Казахстанская), которые расположены отдаленно от вышеперечисленных сопредельных государств, во вторую – 5 административных областей (Восточно-Казахстанская, Алматинская, Жамбылская, Южно-Казахстанская и Кызыл-Ординская), граничащих со странами, на территории которых часто регистрируется ящур. Административные территории областей второй категории были приняты буферными, которые являются защитным барьером для других благополучных по болезни областей.

Отличительной особенностью территории буферной зоны от других областных регионов является сопредельность их границ с зарубежными странами, как: Китайская Народная Республика, Республика Кыргызстан, Республика Узбекистан, пределы которых часто неблагополучны по ящуру. Наша страна имеет тесные экономические, социальные, культурные и политические связи с приведенными государствами. Поэтому риск взаимного проникновения и распространения возбудителей инфекционных болезней, в том числе ящура, из территории одной страны в пределы другой сравнительно велик.

Исходя из такой ситуации, в целях снижения риска проникновения ящура из сопредельных стран, на территории буферной зоны проводится поголовная иммунизация скота (крупный и мелкий рогатый скот, а также свиньи) против ящура. Учитывая типовые варианты вируса ящура, циркулирующего в собственной стране и за его пределами, иммунный фон в организме животных поддерживается против типов О, А, Азия-1 с помощью трехвалентной вакцины. Для иммунизации животных до 2012 года применялась вакцина против ящура, производства ТОО «Вита-СТ», Республика Казахстан, с 2013 года вакцина производства ФГУП «Щелковский биокомбинат» и ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты животных», обе Российская Федерация.

В целях контроля качества вакцинации выборочно проверяется напряженность иммунитета по гуморальным антителам, сформировавшимся после вакцинации. Усредненные данные о напряженности поствакцинального иммунитета против типов О, А, Азия-1 вируса ящура среди животных буферной зоны, полученные исследованиями областных ветеринарных лабораторий за 2013 год, показывают, что она в Восточно-Казахстанской области составляет 76-77%, Алматинской – 40-43%, Жамбылской – 98%, Южно-Казахстанской – 88,2-89,1% и Кызыл-Ординской области – 100%.

Перечисленные данные свидетельствуют о том, что поствакцинальный иммунный фон против ящура типов О, А, Азия-1 среди основного поголовья

животных буферной зоны, кроме поголовья животных Алматинской области, на уровне, достаточном для предотвращения появления и распространения болезни.

Данные мониторинга антител на НСП вируса ящура [таблица 2], полученные в результате исследований за период 2011-2014 годы, показали, что в 2011 году в зоне благополучия, в которую отнесены территории 9 областей, являющихся свободными от вакцинации против ящура, в двух административных областях в сыворотке крови животных выявляются антитела на НСП вируса ящура выше 5% (6,9% среди КРС и 6,1% среди МРС в Акмолинской области, 7,1% среди МРС в Западно-Казахстанской области) от числа исследованных. В 2012 году антитела на НСП вируса ящура в количестве, превышающем допустимые пределы МЭБ, отмечены в Западно-Казахстанской области, где этот показатель составил 6,5%. В других областях выявляемость антител на НСП вируса ящура не превышала допустимого порогового уровня. В 2013 году территория зоны благополучия была свободной от клинического проявления ящура, а антитела на НСП вируса ящура отмечены только в Акмолинской области в количестве 3,6% от числа исследованных. В текущем году серомониторинг на наличие антител на НСП вируса ящура планируется во второй половине года. В противовес благополучной зоне в организме животных территории буфера с 2011 года, несмотря на наличие активной вакцинопрофилактики против ящура, непрерывно выявляются антитела на НСП вируса этой болезни. Цифровые показатели этих антител составили:

- в Алматинской области - 5,8% среди КРС и 4,2% среди МРС в 2011 году, 84,6% среди КРС в 2012 году, 23,5% среди КРС в 2013 году и 3,4% среди КРС в 2014 году;

- в Восточно-Казахстанской области – 5,9% среди КРС и 8,9% среди МРС в 2011 году, 6,7% среди КРС и 15,3% среди МРС в 2012 году, 17,9% среди КРС и 2,8% среди МРС в 2013 году, 31,5% среди КРС и 6,8% среди МРС в 2014 году;

- в Жамбылской области – 4,2% среди КРС и 30,8% среди МРС в 2011 году, 60% среди КРС и 8,7% среди МРС в 2012 году, 16,3% среди КРС в 2013 году и 47,3% среди КРС в 2014 году;

- в Кызыл-Ординской области – по 21% среди КРС и МРС в 2011 году и по 20% среди КРС в 2013 и 2014 годах;

- в Южно-Казахстанской области – 47,4% среди КРС и 50,8% среди МРС в 2011 году, 29,3 и 21,8% среди КРС в 2013 и 2014 годах, соответственно.

Приведенные данные свидетельствует о том, что на территории буферной зоны, несмотря на ежегодную противоящурную вакцинацию, эпизоотическая ситуация по ящуру остается напряженной. Такая обстановка требует активного поиска эффективного комплекса противоэпизоотических мероприятий и скорейшего претворения его в практику ветеринарии страны.

Таблица 1 - Генетические характеристики типовых вариантов О и А вируса ящура, выделенных на территории Республики Казахстан в 2010-2013 г.г.
(по данным РГП «НИИПБ» и ФГУП «ВНИИЗЖ»)

Территория выделения вируса, область	Сроки выделения вируса, годы	Тип вируса	Типовой вариант (топотип) вируса
Жамбылская (Кордай)	2010	O	PanAsia-2
	2012	O	PanAsia-2
Алматинская (Актерек)	2012	O	PanAsia-2
Западно-Казахстанская (Тинали)	2011	O	PanAsia-2
Восточно-Казахстанская (Курчум, Уржар)	2011	O	PanAsia
Жамбылская (Кордай/Киргизия)	2011	A	Asia Iran-05 SEA 97
Жамбылская (Мойынкүм)	2012	A	Asia Iran-05
Восточно-Казахстанская (Акшоқы, Манырақ)	2013	A	SEA 97

Рисунок 2

Дендрограмма, отражающая положение эпизоотических изолятов О из Республики Казахстан на филогенетическом древе вируса ящура типа О.



Рисунок 3

Дендрограмма, отражающая положение эпизоотических изолятов А из Республики Казахстан на филогенетическом древе вируса ящура типа А.

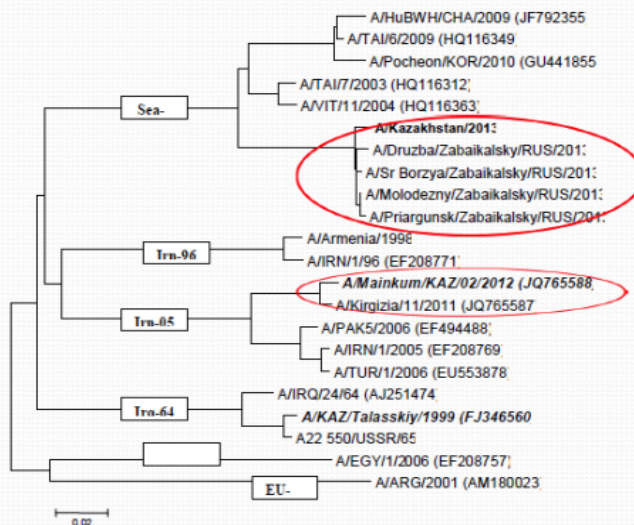


Таблица 2 - Показатели выявляемости (%) антител на НСП вируса ящура (данные НРЦВ и РВЛМСХ РК)

№№ п/п	Наименование административных областей	Вид иссл-ных животных	Годы исследования			
			2011	2012	2013	2014
1	Акмолинская	КРС	6,9	1,9	3,59	
		МРС	6,1	1,3	н/и	
2	Актюбинская	КРС	2,9	0,0	н/и	Исследования
		МРС	1,7	1,4	н/и	
3	Атырауская	КРС	0,3	3,9	н/и	будут
		МРС	0,8	2,2	н/и	
4	Западно-Казахстанская	КРС	1,8	0,7	0,00	проведены
		МРС	7,1	6,5	н/и	
5	Карагандинская	КРС	0,2	2,9	0,00	во
		МРС	1,2	4,4	н/и	
6	Костанайская	КРС	0,6	0,2	0,00	второй
		МРС	3,7	0,8	н/и	
7	Мангыстауская	КРС	2,9	1,5	н/и	половине
		МРС	2,0	3,1	н/и	
8	Павлодарская	КРС	0,1	1,2	н/и	года
		МРС	0,5	0,0	н/и	
9	Северо-Казахстанская	КРС	0,7	0,3	0,00	
		МРС	0,9	0,0	н/и	
Зона буфера:						
10	Алматинская	КРС	5,79	84,6	23,5	3,4
		МРС	4,16	н/и	н/и	н/и
11	Вост.-Казахстанская	КРС	5,92	6,47	17,9	31,5
		МРС	8,97	15,3	2,84	6,8
12	Жамбылская	КРС	4,17	60,0	16,3	47,3
		МРС	30,76	8,7	н/и	н/и
13	Кызыл-Ординская	КРС	21,34	н/и	20,0	20,0
		МРС	21,08	н/и	н/и	н/и
14	Южно-Казахстанская	КРС	47,38	н/и	29,3	21,8
		МРС	50,81	н/и	н/и	н/и

ЭПИЗОТИЧЕСКАЯ И ЭПИДЕМИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО СИБИРСКОЙ ЯЗВЕ НА УЧАСТКАХ СТРОЯЩИХСЯ ГАЗОПРОВОДНЫХ МАГИСТРАЛЕЙ АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ

**Б.Д. Айтжанов, Н.П. Иванов, А. Кожаев, Б.Н. Шакенов, Б. Отарбаев,
Б.А. Сыдыков, Н. Курманалиулы, Г.Э. Мамацашвили**

Казахский Национальный Аграрный Университет

Резюме В Казахстане, в котором значительные территории являются зонами с высоким риском проявления вспышек сибирской язвы, при строительстве транспортных магистралей, газо-нефтепроводов, других объектов, при которых проводятся земляные работы, необходимо осуществлять мониторинг эпидемической и эпизоотической ситуации по данной инфекции. Исследования показали, что эпизоотическую и эпидемическую ситуацию по сибирской язве в зоне строительства газопроводов «Алматы-Байсерке-Талгар» и «Алматы-Талдыкорган» можно считать умеренно опасной.

Ключевые слова: Алматинская область, сибирская язва, вспышка, эпизоотическая ситуация, эпидемическая ситуация, газопровод

Введение В Государственной программе развития здравоохранения Республики Казахстан «Саламатты Қазақстан», нацеленной на улучшение здоровья населения, одной из ключевых задач является усиление межсекторального и межведомственного взаимодействия по вопросам охраны здоровья граждан и обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия [1]. Выполнение вышеозначенных задач невозможно без усиления борьбы с особо опасными антропозоонозными заболеваниями, которые могут причинить ущерб как здоровью людей, так и поголовью сельскохозяйственных животных.

Одним из таких заболеваний является сибирская язва, вызываемая возбудителем *Bac. anthracis*. Ввиду своей исключительной опасности данное заболевание даже рассматривается в некоторых странах в качестве биологического оружия, которое может быть использовано не только в военных целях, но и террористами. Опасность сибирской язвы заключается в молниеносном протекании болезни (от нескольких часов до нескольких дней). При несвоевременно оказанной медицинской или ветеринарной помощи, зараженный человек или животное с высокой долей вероятности погибнут в вышеприведенные сроки [2].

Сибирская язва до настоящего времени остается серьезной проблемой в области ветеринарии и здравоохранения практически во всем мире. По данным ВОЗ заболевания сибирской язвой людей и сельскохозяйственных животных отмечаются в 158 странах [3, 4]. В Казахстане также имеется значительное количество эпидемических, эпизоотических, почвенных

очагов, и стационарно неблагополучных по данной инфекции населенных пунктов (СНП) [5].

Экономика Казахстана является быстрорастущей, сама территория республики является связующим мостом между Европой и Азией, недра РК богаты полезными ископаемыми, все это обуславливает невиданный до этого бум строительства транспортных магистралей и газонефтепроводов. Проведение вышеозначенных работ требует выемки и перемещения значительного количества грунта, в котором, как известно, споры сибирской язвы могут сохраняться многими десятилетиями. При несоблюдении санитарных правил, нарушении целостности скотомогильников при производстве земляных работ происходит расконсервация возбудителя сибирской язвы, что в конечном итоге приводит к вспышке данной опасной инфекции [6].

В связи с вышесказанным, в Казахстане, в котором значительные территории являются зонами с высоким риском проявления вспышек сибирской язвы, при строительстве транспортных магистралей, газонефтепроводов, других объектов, при которых проводятся земляные работы, необходимо изучение эпидемической и эпизоотической ситуации по данной инфекции. Необходимо провести учет скотомогильников, составить кадастр для каждого района, где строятся автомобильные и железные дороги, нефте- и газопроводы, перенести на карту неблагополучные по сибирской язве пункты, близ которых запланировано проведение строительных работ, осуществить ветеринарно-санитарные мероприятия и другие меры превенции.

Материалы и методы исследований Работа выполнена в КазНАУ и Алматинской области на территориях, прилегающих к строящимся газопроводным магистральям Алматинской области в период с января 2013 года по май 2014 года. При проведении анализа вспышек сибирской язвы среди животных и людей использовали данные Кадастра стационарно-неблагополучных по сибирской язве пунктов Республики Казахстан, статистической ветеринарной отчетности районных ветеринарных станций и лабораторий, отчетные и архивные данные краевой (ныне межобластной) ветеринарной лаборатории за 1971-2013 годы, а так же данные собственных обследований эпизоотических очагов заболевания и непосредственного личного участия в проведении диагностических исследований, общих и специфических профилактических мероприятий по предупреждению вспышек сибирской язвы и борьбе с ней.

Результаты и обсуждение К числу объектов, при которых необходимо проведение вышеозначенных мероприятий относятся строящиеся газопроводные магистрали Алматинской области.

План газификации Алматинской области, окончательная реализация которого предполагается на 2015 год, стал одним из самых грандиозных проектов в регионе. Газовая труба пройдет по территориям Илийского, Карасайского, Жамбылского, Кербулакского, Балхашского, Ескельдинского и Кок-

суского районов. В отдельных местах она будет пролегать через водоемы, в том числе через реку Или, а также пересекать автомобильные и железнодорожные трассы областного и республиканского значений. Общая протяженность газовой магистрали до АГРС «Талдыкорган» составит 264,8 километра.

Сам проект газификации Алматинской области включает в себя два подпроекта, первый – это «Алматы - Байсерке - Талгар» и второй – «Алматы - Талдыкорган». Рассмотрим каждое направление по отдельности.

Проектом «Алматы-Байсерке-Талгар» предусмотрено газифицировать населенные пункты Илийского района (с. Байсерке - 100%, с. Ынтымак, с. Жана Талап, с. Кок-Кайнар, с. Коян Кус - 100%, с. Жана Дауир - 100%) и Талгарского района (г. Талгар - 100%, п. Рыскулова, Казстрой – 100%) Алматинской области. В таблице 1 отображены характеристики стационарно неблагополучных пунктов и очагов в зоне строительства газопровода «Алматы - Байсерке -Талгар».

Таблица 1 - Эпизоотическая и эпидемическая характеристика СНП в зоне строительства газопровода «Алматы – Байсерке -Талгар»

№ п/п	Населенный пункт	координаты		Очаги, ориентиры очага, площадь	Координаты		Сведения о заболевших					
		Северная широта	Восточная долгота		Северная широта	Восточная долгота	Люди			Животные		
							Дата забол.	Количество заболевших	Исход забол.	Дата забол.	Количество	Исход забол.
1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	Село Байсерке (колхоз 40 лет Казахстана)	43° 29'	77° 02'	Село Байсерке S = 20 га 1 скотомогильник	43° 29'	77° 02'	-	-	-	1958 1968	КРС -1 Лош .- 2	Пало-1 Пало-2
2	Город Талгар	43° 30'	77° 30'	а) учхоз сельхозтехникум, молочно-товарная ферма S = 40 га	43° 30'	77° 30'	-	-	-	10. 1947	КРС -6	Пало-6
				б) частный дом г. Талгар S = 15 га 2-скотомо	43° 20'	77° 30'	09. 08. 65 24. 10. 75	1 1	В В	11. 1955	Свин-1	Пало-1

				гиль-ника								
	Итого 2 СНП			3 очага, S = 75 га, 3 скотомогильника			1	1 В		КРС-7 Лош-2 Свин-1	КРС-7 Пало-2 Пало-1	

Примечания: S – площадь; В – выздоровело; Лош. – лошади; КРС – крупный рогатый скот; Свин. – свиньи. СНП – стационарно неблагополучные пункты.

Как видно из данных таблицы 1 в зоне строительства газопровода «Алматы-Байсерке-Талгар» всего 2 СНП, 3 очага с общей площадью 75 га, 2 скотомогильника. Последний случай заболевания людей сибирской язвой отмечен в 1975 году, который кончился выздоровлением. Последний случай заболевания животных отмечен в 1968 году, когда заболело и пало от СЯ две головы лошадей. Всего за все время наблюдения в данных пунктах зарегистрировано 6 случаев заболевания сибирской язвой (2-люди, 4-животные). Таким образом, эпизоотическую и эпидемическую ситуацию по сибирской язве в зоне строительства вышеназванного объекта можно считать умеренно опасной. В таблице 2 дана характеристика стационарно неблагополучных пунктов и очагов в зоне строительства газопровода «Алматы - Талдыкорган».

Таблица 2 - Эпизоотическая и эпидемическая характеристика СНП в зоне строительства газопровода «Алматы - Талдыкорган»

№ п / п	Населенный пункт	координаты		Очаги, ориентиры очага, площадь	Координаты		Сведения о заболевших					
		Северная широта	Восточная долгота		Северная широта	Восточная долгота	Люди			Животные		
1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	Ескельдинский район, село Крупское (Жолбарысулы)	50° 10'	22° 50'	Пастбища 2 км от села Крупское S = 20 га 1 скотомогильник	50° 10'	22° 50'	-	-	-	19 41	КРС -1	Пало-1
1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

2	Коксуйский район, поселок Балпык би	44° 03′	78° 02′	а) пастбища 5 км от поселка Балпык би S = 20 га 1 скотомог ильник	44° 03′	78° 02′	09. 09. 70	1	В	09. 09. 70	КРС -1	Пал о-1
				б) 2 отделение Талдыкор ган. МСХР, 100 м от дороги S = 30 га 1 скотомог ильник	44° 03′	78° 02′	-	-	-	19 65 19 82	КРС -1 КРС -1	Пал о-1 Пал о-1
				в) 3 км юго-запад от центр. усадыбы. 1 скотомог ильник S = 40 га	45° 01′	79° 01′	-	-	-	19 69 19 66	КРС -7 КРС -5	Пал о-7 Пал о-5
	Итого 2 СНП			4 очага, S = 110 га, 3 скотомогил ьника				1	1 В		КРС- 16	КРС- 16

Примечания: S – площадь; В – выздоровело; Лош. – лошади; КРС – крупный рогатый скот; Свин. – свиньи. СНП – стационарно неблагополучные пункты.

Из данных таблицы 2 следует, что в зоне строительства основной магистральной линии газопровода «Алматы-Талдыкорган» имеются 2 СНП по СЯ, 4 очага с общей площадью 110 га, 2 скотомогильника. Последний случай заболевания людей сибирской язвой отмечен в 1970 году, исход - выздоровление. Последний случай заболевания животных отмечен в 1982 году, когда заболела и пала от СЯ одна голова КРС. Всего за все время наблюдения в данных пунктах зарегистрировано 7 случаев заболевания сибирской язвой (1-люди, 6-животные). Наиболее близко к строящемуся объекту расположен один очаг СЯ во 2-ом отделении «Талдыкорган». МСХР, в 100 м от дороги с площадью в 30 га и одним скотомогильником. В целом, эпизоотическую и эпидемическую ситуацию по сибирской язве в зоне строительства газопроводной магистрали «Алматы-Талдыкорган» можно считать умеренно опасной.

Заключение В Казахстане вследствие наличия значительного количества стационарно неблагополучных пунктов и очагов по сибирской язве при строительстве транспортных магистралей и газонефтепроводов следует тщательно изучать эпидемическую и эпизоотическую ситуацию. Необходимо проводить учет скотомогильников, составлять кадастр для каждого района, где прокладываются автомобильные и железные дороги, нефте- и газопроводы, переносить на карту неблагополучные по сибирской язве пункты, рядом с которыми запланировано проведение строительных работ, осуществлять ветеринарно-санитарные мероприятия и другие меры превенции. Исследования показали, что эпизоотическую и эпидемическую ситуацию по сибирской язве в зоне строительства газопроводов «Алматы-Байсерке-Талгар» и «Алматы-Талдыкорган» можно отнести к умеренно опасной. Строительство означенных газопроводов можно осуществлять с соблюдением всех ветеринарно-санитарных и санитарно-эпидемиологических норм и проведением необходимых мероприятий по предупреждению возникновения вспышек сибирской язвы

Литература

1 Государственная программа развития здравоохранения Республики Казахстан «Саламатты Қазақстан» на 2011–2015 годы. <http://ru.government.kz/resources/docs/doc19>.

2 Онищенко Г. Г., Васильев Н. Т., Литусов Н. В. и др. Сибирская язва: актуальные аспекты микробиологии, эпидемиологии, клиники, диагностики, лечения и профилактики. – М.: ВУНМЦ МЗ РФ, 1999. – 448 с.

3 Покровский В. И., Пак С. Г. Инфекционные болезни и эпидемиология (учебник для вузов). – М., 2000. – 265 с.

4 Черкасский Б. Л. Эпидемиология и профилактика сибирской язвы. – М., 2002. – 383 с.

5 Амиреев С. А. Эпидемиология. Частная эпидемиология. – Алматы, 2002. – Т. II. – 693 с.

6 Кухалашвили Т. Очаги сибирской язвы в Грузии. – Тбилиси, 2007.

Сведения об авторах:

Айтжанов Б.Д. – доктор ветеринарных наук, профессор КазНАУ

Иванов Н.П. – доктор ветеринарных наук, профессор КазНАУ

Кожаяев А. – кандидат ветеринарных наук, доцент

Шакенов Б.Н. – кандидат ветеринарных наук

Отарбаев Б. – старший преподаватель КазНАУ

Сыдыков Б.А. – магистрант КазНАУ

Курманалиулы Н. – старший научный сотрудник сельскохозяйственного института ветеринарии и животноводства, г. Урумчи

Мамацашвили Г.Э. – доктор ветеринарных наук, профессор

Түйін

АЛМАТЫ ОБЛЫСЫНДА САЛЫНЫП ЖАТҚАН ГАЗӨТКІЗГІШТІҢ ЖЕР – АЙМАҒЫНДА СІБІР ЖАРАСЫНАН ЭПИЗООТИЯЛЫҚ ЖӘНЕ ЭПИДЕМИЯЛЫҚ ЖАҒДАЙ

Б.Д. Айтжанов, Н.П. Иванов, А. Кожаев, Б.Н. Шакенов, Б. Отарбаев,
Б.А. Сыдыков, Н. Курманалиулы, Г.Э. Мамацашвили

Қазақ Ұлттық Аграрлық Университеті

Жер аумағының көптеген көлемі сібір жарасы бойынша жоғары қауіпті аймақтарға жататын Қазақстанда көлік магистральдарын, газ құбырларын, жер қазу жұмыстарымен байланысты басқа объектілерді салу барысында осы індет бойынша эпидемиялық және эпизоотиялық мониторинг жасау қажет. Зерттеулердің нәтижесінде «Алматы-Байсерке-Талгар» және «Алматы-Талдықорған» газ құбырларын салу аймағында сібір жарасы бойынша эпизоотиялық және эпидемиялық жағдайды қалыпта деуге болады.

Кілттік сөздер: Алматы облысы, сібір жарасы, тұтану, эпизоотиялық жағдай, эпидемиялық жағдай, газөткізгіш

Summary

EPIZOOTIC AND EPIDEMIC ANTHRAX SITUATION AT CONSTRUCTION SITE OF GAS MAINS ALMATY REGION

B.D. Aitzhanov, N.P. Ivanov, A. Kozhaev, B. N. Shakenov, B. Otarbaev, B.A. Sydykov, N. Kurmanaliuly, G.E. Mamatsashvily

Kazakh National Agrarian University

In Kazakhstan, where large areas are areas with a high risk of manifestation of anthrax outbreaks in the construction of highways, gas pipelines and other facilities, which are held at earthworks necessary to monitor the epidemic and epizootic this infection. Studies have shown that the epizootic and epidemic situation on anthrax in the area of gas pipelines "Almaty - Baysyerke - Talgar" and "Almaty - Taldykorgan" can be considered moderately dangerous.

Keywords: Almaty region, anthrax outbreak, epizootic situation, the epidemic situation, the pipeline

ЭПИЗОТИЧЕСКАЯ И ЭПИДЕМИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО СИБИРСКОЙ ЯЗВЕ НА УЧАСТКАХ АВТОДОРОГИ «ЗАПАДНАЯ ЕВРОПА – ЗАПАДНЫЙ КИТАЙ» В ЖАМБЫЛСКОЙ ОБЛАСТИ

**Б.Д. Айтжанов, Н.П. Иванов, А. Кожаев, Б.Н. Шакенов, Б. Отарбаев,
Б.А. Сыдыков, Н. Курманалиулы, Г.Э. Мамацашвили**

Казахский Национальный Аграрный Университет

Резюме Жамбылская область является территорией с высоким риском заражения людей и восприимчивых животных сибирской язвой. Поэтому, при проектировании и строительстве промышленных и гражданских объектов, транспортных магистралей, нефте-газопроводов необходимо тщательно изучать эпидемическую и эпизоотическую ситуацию в местах проведения земляных работ, осуществлять соответствующие противоэпидемические и ветеринарно-санитарные мероприятия для предупреждения вспышек этой опасной для людей и животных инфекции. В данной статье приведены результаты исследования эпидемической и эпизоотической ситуации по сибирской язве на участках автодороги «Западная Европа - Западный Китай» в Жамбылской области. Исследования показали, что эпизоотическую и эпидемическую ситуацию по сибирской язве вдоль автотрассы «Западная Европа - Западный Китай» в Жамбылской области следует считать высоко опасной. Самый неблагоприятный по сибирской язве отрезок трассы находится в Кордайском районе. К числу наименее опасных по риску возникновения вспышек сибирской язвы относятся участки дороги в Байзакском и в Жамбылском районах.

Ключевые слова: Жамбылская область, сибирская язва, эпизоотическая ситуация, эпидемическая ситуация, автодорога, Западная Европа - Западный Китай

Введение Сибирская язва до сих пор является серьезной проблемой в области здравоохранения и ветеринарии во многих странах мира. Согласно данным ВОЗ сибирская язва поражает людей и сельскохозяйственных животных более чем в 150 странах [1].

Болезнь имеет широкое распространение в большинстве стран Африки, Азии, Южной и Центральной Америки, государствах Среднего Востока и Карибском бассейне [2, 3, 4, 5].

На территории Казахстана также имеется значительное количество эпидемических, эпизоотических, почвенных очагов, и стационарно неблагоприятных по сибирской язве населенных пунктов (СНП) [6,7].

В настоящее время в Казахстане идет интенсивное строительство транспортных магистралей и нефтегазопроводов. Подобные работы сопровождаются выемкой и перемещением значительного количества грунта, в котором, споры сибирской язвы сохраняются десятилетиями. При нарушении целостности скотомогильников при производстве земляных работ

происходит расконсервация возбудителя сибирской язвы, что приводит к вспышке данной опасной инфекции [8].

Исходя из вышесказанного, в Казахстане, в котором обширные территории являются зонами с высоким риском проявления вспышек сибирской язвы, при строительстве газонефтепроводов, транспортных магистралей, прочих объектов, при которых проводятся земляные работы, необходимо изучение эпидемической и эпизоотической ситуации по данной инфекции. Необходимо провести картографирование скотомогильников, составить кадастр для каждого района, где строятся автомобильные и железные дороги, нефте- и газопроводы, перенести на карту неблагополучные по сибирской язве пункты, близ которых запланировано проведение строительных работ, осуществить ветеринарно-сани-тарные и санитарно-эпидемиологические мероприятия.

Материалы и методы исследований Работа выполнялась в КазНАУ и в Жамбылской области на территориях, прилегающих к строящейся автомагистрали «Западная Европа - Западный Китай» в период с января 2013 года по май 2014 года. Были использованы данные Кадастра стационарно-неблагопо-лучных по сибирской язве пунктов Республики Казахстан, статистической отчетности районных ветеринарных станций и лабораторий, отчетные и архивные материалы межобластной ветеринарной лаборатории за 1971-2013 годы. Собственные исследования включали обследования эпизоотических очагов заболевания, личное участие в проведении диагностических исследований, а также общих и специфических профилактических мероприятий по предупреждению вспышек сибирской язвы и борьбе с ней. При изучении территорий, прилегающих к строящейся автодороге, определяли конкретные причины возникновения эпизоотических и эпидемических очагов, резервуары и источники возбудителя инфекции, способы его передачи, пути распространения сибирской язвы. На основании результатов исследований разрабатывали общие и специфические профилактические противоэпизоотические и противоэпидемические мероприятия.

При изучении эпизоотического и эпидемического процесса сибирской язвы были использованы методы историко-географического описания, эпизоотологического обследования. Картографирование очагов заболевания проводили с учетом анализа сложившейся ситуации в каждом конкретном случае. Были применены факторный и кластерный анализы многомерных статистических данных. Вышеприведенные исследования, а так же очаговость, структуру сибирской язвы, цикличность, сезонность, интенсивность эпизоотического процесса изучали по методикам И.А. Бакулова (1979, 1982), С.И. Джупиной и В.А.Ведерникова (1981), Я.В. Нуйкина (1974), В.Л. Ведерникова (1988) и других.

Результаты и обсуждение Жамбылская область относится к зонам, с высоким риском заражения людей и восприимчивых животных сибирской язвой (СЯ). В данной области имеются 83 стационарно неблагополучных по

сибирской язве пункта (СНП), 92 очага с общей площадью 17100 км². Анализируя данные заболеваемости нужно отметить, что во всех районах Жамбылской области имеются стационарно-неблагополучные пункты и очаги по СЯ. Самыми неблагополучными по СЯ являются в порядке убывания: Кордайский (13 СНП, 46 очагов), Жуалинский (11 СНП, 36 очагов), Меркенский (11 СНП, 19 очагов), им. Т. Рыскулова (10 СНП, 28 очагов) и Шуйский районы (10 СНП, 11 очагов).

Менее опасными по риску возникновения вспышек СЯ являются Мойынкумский (4 СНП, 10 очагов) и Таласский (4 СНП, 7 очагов) районы. Из 32 заболевших СЯ людей выздоровели все.

Наибольшее количество заболевших сибирской язвой животных отмечено среди мелкого рогатого скота – 2225 голов (все пали). Крупного рогатого скота заболело – 190 голов (все пали).

Как и в целом по всему Казахстану, в Жамбылской области в последние годы идет активное строительство промышленных и гражданских объектов. Из них к числу наиболее приоритетных относится строительство автодороги «Западная Европа - Западный Китай». При строительстве автодорог, как известно, происходит выемка и перемещение значительного количества грунта, в котором споры сибирской язвы могут выживать длительное время.

Если при этом, не соблюдать санитарные нормы, проводить работы без разрешения санитарно-эпидемиологических и ветеринарных служб, не учитывать эпизоотическую карту местности, с нанесенными на ней СНП, очагами СЯ и скотомогильниками, то очень высока вероятность возникновения вспышек сибирской язвы среди людей и животных.

В связи с вышесказанным изучение эпидемической и эпизоотической ситуации по сибирской язве по маршруту строительства дорог является важным и необходимым для предотвращения вспышек этой опасной инфекции. В таблице 1 отражена эпизоотическая и эпидемическая ситуация по сибирской язве вдоль автотрассы «Западная Европа - Западный Китай» в Жамбылской области.

Таблица 1 - Неблагополучные пункты и очаги по сибирской язве Жамбылской области вдоль автотрассы «Западная Европа - Западный Китай»»

Количество стационарно неблагополучных пунктов (СНП)	Количество и общая площадь очагов, скотомогильников	Данные о заболеваемости людей		Данные о заболеваемости животных	
		Кол-во заболевших	Исход	Количество заболевших животных	Исход заболевания
9	Очагов – 19 S= 1640 га Скмг - 9	19	В-17 Лет- 2	Заб КРС -14 Заб МРС - 112 Свин заб-2	Пало КРС-14 Пало МРС - 112 Свин пало-2

Примечания: СНП – стационарно неблагополучный пункт; СКМГ- скотомогильник; S – площадь очага СЯ; КРС – крупный рогатый скот; МРС – мелкий рогатый скот; СВИН – свиньи; В – выздоровело, Лет. – летальный исход.

Всего на рассматриваемом участке трассы автодороги «Западная Европа - Западный Китай» в Жамбылской области имеются 9 СНП, 19 очагов сибирской язвы и 9 скотомогильников. Самый неблагополучный отрезок трассы находится в Кордайском районе – 5 СНП и 11 очагов СЯ с общей площадью в 1640 га. Наименее опасными по риску возникновения вспышек СЯ являются участки дороги в Байзакском районе (1 СНП, 1 очаг, S=200 га) и в Жамбылском районе (1 СНП, 1 очаг, S=60 га). Из животных больше всего заболело МРС – 112 голов, КРС – 14 голов. Всего за период с 1948 по 2012 годы в исследованных местах вышеозначенной дороги произошло 15 вспышек среди людей и 34 вспышки среди животных.

Последний случай вспышки сибирской язвы на рассматриваемом участке трассы в Жамбылской области отмечен в 1998 году в Улкен-Солуторском сельском округе, селе Солутор Кордайского района. Тогда там заболело СЯ 2 человека в результате убоя больной сибирской язвой коровы.

Заключение Проведенные исследования показали, что эпизоотическую и эпидемическую ситуацию по сибирской язве вдоль автотрассы «Западная Европа - Западный Китай» в Жамбылской области следует считать высоко опасной. Значительная протяженность изучаемой дороги, проходящей вдоль всей южной границы области, обуславливает неоднозначность эпизоотической и эпидемической ситуации по сибирской язве на различных участках автотрассы. Так, самым неблагополучным по данной инфекции является отрезок трассы, проходящий по Кордайскому району, в котором имеются 5 СНП, 11 очагов СЯ общей площадью 1030 га, 5 скотомогильников. В этом же районе отмечено наибольшее количество вспышек СЯ среди людей и животных, а также отмечено два летальных случая из 14 заболевших. К числу наименее опасных по риску возникновения вспышек сибирской язвы относятся участки дороги в Байзакском районе и в Жамбылском районе. Анализ причин заболевания людей сибирской язвой показал, что во всех случаях причиной было забой больного сибирской язвой скота, последний в свою очередь заражался при выпасе на территориях, граничащих со скотомогильниками. Следовательно, были нарушены ветеринарно-санитарные правила охраны скотомогильников. В ряде случаев забой больных сибирской язвой животных производился без разрешения ветеринарных специалистов. В отдельных эпизодах ветеринарные специалисты давали разрешение на убой без должного осмотра. Таким образом, причиной вспышек сибирской язвы являлось нарушение ветеринарно-санитарных и санитарно-эпидемиологических норм охраны скотомогильников и при убое животных. Одним из факторов, способствующих появлению вспышек, явилась слабая работа среди населения по повышению уровня знаний относительно опасности данной болезни, причин ее возникновения, распространения и способов

предотвращения вспышек инфекции, как среди людей, так и среди животных.

Учитывая высокую степень риска возникновения вспышки сибирской язвы в зоне строительства автодороги «Западная Европа - Западный Китай» в Жамбылской области все строительные работы должны проводиться в тесном контакте с районными ветеринарными и противоэпидемическими службами, которые должны давать разрешение на проведение работ в каждом конкретном случае.

Литература

1 Бакулов И.А., Гаврилов В.А., Селиверстов В.В. Сибирская язва (антракс): новые страницы в изучении «старой» болезни.- Владимир: Посад, 2001. - 285 с.

2 Bbalo G. Anthrax in Zamibia, Western Province //Intern. Workshop on anthrax. - 1995. - P. 19.

3. De Vos V., Bruden H.B. The epidemiology of a major anthrax outbreak in the kruger National Park // Intern. Workshop on anthrax. - 1995. - P. 25-26.

4 Doganay M. Human anthrax in Turkey //11 Intern. Workshop on anthrax. - 1995. - P. 24.

5 Fenggin M., Alfang L. Anthrax surveillance and control in China // Intern. Workshop on anthrax. - 1995. - P. 18.

6 Шушаев Б. Х. Сибирская язва животных в Республике Казахстан: автореф. ... докт. вет. наук. -Алматы, 1993. – 46 с.

7 Кадастр стационарно-неблагополучных по сибирской язве пунктов Республики Казахстан. – Алматы, 2003.

8 Лухнова Л.Ю., Пазылов Е.К., Утебаева С.М., Мейерханов Т.М., Бердыкулы А. Проблемы профилактики сибирской язвы в Казахстане // Вестник сельскохозяйственной науки Казахстана «Бастау». – Алматы, 2004. – №2. – С. 57-60.

Сведения об авторах:

Айтжанов Б.Д. – доктор ветеринарных наук, профессор КазНАУ
Иванов Н.П.- доктор ветеринарных наук, профессор КазНАУ
Кожаев А.– кандидат ветеринарных наук, доцент
Шакенов Б.Н. – кандидат ветеринарных наук
Отарбаев Б. – старший преподаватель КазНАУ
Сыдыков Б.А. – магистрант КазНАУ
Курманалиулы Н. – старший научный сотрудник
сельскохозяйственного института ветеринарии и животноводства, г. Урумчи
Мамацшвили Г.Э. – доктор ветеринарных наук, профессор

Түйін

ЖАМБЫЛ ОБЛЫСЫНДАҒЫ «БАТЫС ЕВРОПА - БАТЫС ҚЫТАЙ» АВТОЖОЛЫНЫҢ ЖЕР - АЙМАҒЫНДА СІБІР ЖАРАСЫНАН ЭПИЗООТИЯЛЫҚ ЖӘНЕ ЭПИДЕМИЯЛЫҚ ЖАҒДАЙ

Б.Д. Айтжанов, Н.П. Иванов, А. Кожаев, Б.Н. Шакенов, Б. Отарбаев,
Б.А. Сыдыков, Н. Курманалиулы, Г.Э. Мамацашвили

Қазақ Ұлттық Аграрлық Университеті

Жамбыл облысы адам мен малдың сібір жарасымен жұқтырылудан жоғары қауіпті жер-аймаққа жатады. Сол себептен өндірістік және азаматтық объектілерді, көлік магистральдарын, газ құбырларын жобалау және салу барысында, жер қазу жұмыстарын жүргізгенде эпидемиялық және эпизоотия-лық жағдайды мұқият зерттеп, адам мен малға қауіпті осы індеттің өршуін алдын алу үшін эпидемияға қарсы қажетті шараларды және ветеринариялық – санитарлық шараларды жүргізу керек. Мақалада Жамбыл облысындағы «Батыс Европа - Батыс Қытай» автожолының жер – аймағында сібір жарасынан эпидемиялық және эпизоотиялық жағдайын зерттеудің нәтижелері келтіріледі. Зерттеулердің нәтижесінде Жамбыл облысындағы «Батыс Европа - Батыс Қытай» автожолының жер – аймағында сібір жарасы бойынша эпизоотиялық және эпидемиялық жағдайды аса қауіпті деуге болады. Сібір жарасы бойынша жоғары, аса қауіпті аймақ Қордай ауданында орналасады. Осы індеттің өршу қауіпі төмен аймақтарға Байзақ және Жамбыл аудандарының жолдағы жер-аумақтары жатады.

Кілттік сөздер: Жамбыл облысы, сібір жарасы, эпизоотиялық жағдай, эпидемиялық жағдай, автожол, Батыс Европа - Батыс Қытай

Summary

EPIZOOTIC AND EPIDEMIC SITUATION OF ANTHRAX IN AREAS HIGHWAY "WESTERN EUROPE-WESTERN CHINA" IN ZHAMBYL REGION

B.D. Aitzhanov, N.P.Ivanov, A. Kozhaev, B. N. Shakenov, B. Otarbaev, B.A.
Sydykov, N. Kurmanaliuly, G.E. Mamatsashvily

Kazakh National Agrarian University

Jambyl region is an area with a high risk of human infection of susceptible animals and anthrax. Therefore, the design and construction of industrial and civil projects, highways, oil and gas pipelines must be carefully examined epidemic and epizootic situation in places excavation, implement appropriate infection control

and animal health measures to prevent outbreaks of this dangerous for human and animal infections. This article presents the results of a study of epidemic and epizootic anthrax on sections of the road "Western Europe - Western China" in Zhambyl region. Studies have shown that the epizootic and epidemic situation on anthrax along the highway " Western Europe - Western China" in Zhambyl region should be considered highly dangerous. The most dysfunctional anthrax route segment is Kordai area. Among the least dangerous risk of outbreaks of anthrax include stretches of road in Baizak and Zhambyl districts.

Keywords: Zhambyl region, anthrax, epidemiological situation, the epidemic situation, the road, «Western Europe - Western China»

УДК 619:005.521:616.98:579.852.11(574)

ВИЗУАЛИЗАЦИЯ И КАРТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЭПИЗОТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО СИБИРСКОЙ ЯЗВЕ В ЗАПАДНОМ И ЮГО-ЗАПАДНОМ РЕГИОНАХ КАЗАХСТАНА

С.К. Абдрахманов, Е.Е. Муханбеткалиев, Д.Б. Кушубаев

АО «Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина»

Резюме В статье приведены данные по изучению эпизоотической ситуации по сибирской язве в Западном и Юго-Западном регионах Республики Казахстан с применением информационно-коммуникационных технологий. На основе визуализации и кластеризации неблагополучных по сибирской язве пунктов проведена оценка сложившейся эпизоотической ситуации в регионе.

Ключевые слова: сибирская язва, эпизоотическая ситуация, географическая информационная система, визуализация, кластеризация

Как известно сибирской язве свойственна стационарность – неоднократное повторение болезни в ранее неблагополучных местностях (пунктах) [1,2]. Исходя из того, что на территории республики сосредоточено около 1800 СНП, территория нашей страны является одной из самых неблагополучных по сибирской язве, где периодически регистрируются спорадические вспышки данной инфекции [3]. Поэтому ведение постоянного мониторинга и контроль эпизоотической ситуации по сибирской язве на территории Республики Казахстане с применением современных географических информационных систем имеет огромное значение [4,5].

В связи с этим целью наших исследований явилось изучение эпизоотической ситуации по сибирской язве в западном и юго-западном регионах Казахстана, а также проведение картографического анализа и

кластеризации изучаемых территорий с использованием ГИС-технологии.

Материалы и методы исследования Материалами для исследования явились архивные и статистические данные о заболеваемости сибирской язвой сельскохозяйственных животных с 1933 по 2013 гг.; данные об административно-территориальном делении РК и о природно-сельскохозяйственном районировании с описанием зон, районов и округов. Современная эпизоотическая ситуация по сибирской язве в Западном и Юго-Западном регионах Казахстана изучалась путем анализа данных ветеринарной отчетности Комитета ветеринарного контроля и надзора МСХ РК, а также по результатам собственных исследований при выездах в животноводческие хозяйства, согласно календарному плану. Эпизоотологический мониторинг сибирской язвы проводился согласно методу эпизоотологического исследования с определением экстенсивных и интенсивных показателей [6].

Визуализация эпизоотической ситуации по сибирской язве и кластеризация очагов инфекции на изучаемых территориях РК проводилась с использованием коммерческого программного обеспечения компании ESRI – ArcGIS 10.1.

Результаты и обсуждение Согласно плану выполнения НИР, исследования проводились в Актюбинской, Западно-Казахстанской, Атырауской, Мангыстауской и Кызылординской областях. В данном регионе, по данным Агентства статистики Республики Казахстан на 01.01.2013 г. в хозяйствах различных форм собственности содержится следующее количество сельскохозяйственных животных и птиц: КРС – 1 349 474 голов, МРС – 4 477 783 голов, свиней -121 821 голов, лошадей – 366 710 голов, верблюдов – 148 907 голов, птиц – 2 849 192 голов.

На начальном этапе нами была изучена эпизоотическая ситуация по сибирской язве в Западных и Юго-Западных областях РК. Данные о регистрации болезни в указанных регионах представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Сводные данные по сибирской язве в западных и юго-западных областях РК за 1933-2013 гг.

Область	Кол-во СНП	Количество больных сибирской язвой					
		Люди	Животные, в том числе:				
			КРС	МРС	Лошади	Свиньи	Всего
Актюбинская	115	215	162	2616	45	14	2837
Атырауская	25	28	11	193	1	1	206
Западно-Казахстанская	157	176	218	718	49	12	997
Кызылординская	55	20	839	368	788	0	1995
Мангыстауская	3	0	0	4	1	1	6
ВСЕГО	355	439	1230	3899	884	28	6041

Как видно из таблицы всего в регионе в период с 1933 по 2013 годы зарегистрировано 355 стационарно-неблагополучных пунктов, где заболели 439 человек и 6041 сельскохозяйственных животных. Наибольшее количество СНП сосредоточено в Актюбинской и Западно-Казахстанской областях, где выявлено 115 и 157 очагов инфекции соответственно и в этих же областях зафиксировано наибольшее количество заболевших сибирской язвой людей – 215 и 176 соответственно. Самое малое количество очагов сибирской язвой зарегистрировано в Мангыстауской области – 3 СНП. При этом последняя вспышка сибирской язвы на территории области наблюдалась 44 года назад. Стоит сказать, что в Кызылординской области при относительно среднем показателе количества неблагополучных пунктов – 55, количество заболевших животных составило 1995 голов, данный показатель является одним из самых высоких по республике. Что касается видового состава заболевших животных, в 3899 (64,54%) случаях, сибирская язва регистрировалась среди МРС, остальные 2142 случаев приходятся на КРС (1230), лошадей (884) и свиней (28). На сегодняшний день, эпизоотическая ситуация по сибирской язве в целом по региону остается условно благополучной. Последние случаи вспышки сибирской язвы регистрировались в 2007 г. в Сырымском районе ЗКО и в 2008 г. в Шиелинском районе Кызылординской области, в обоих случаях от сибирской язвы пали по 1 корове.

Анализ эпизоотической ситуации в исследуемых регионах показал, что наличие большого количества стационарно-неблагополучных по сибирской язве пунктов, за исключением Мангыстауской области, представляют большую потенциальную опасность в регионе. Поэтому изучение эпизоотического процесса в регионе, проведение мониторинга эпизоотической ситуации на местности, прогнозирование дальнейшего развития событий, а также анализ риска возникновения эпизоотии той или иной социально-значимой инфекции, всегда будут оставаться актуальными задачами в области ветеринарной науки и практики.

На следующем этапе были визуализированы неблагополучные по сибирской язве пункты, зарегистрированные на изучаемой территории в период с 1933 по 2012 годы. Точечное нанесение слоя данных для визуализации на карте в разрезе районов представлены на рисунке 1.

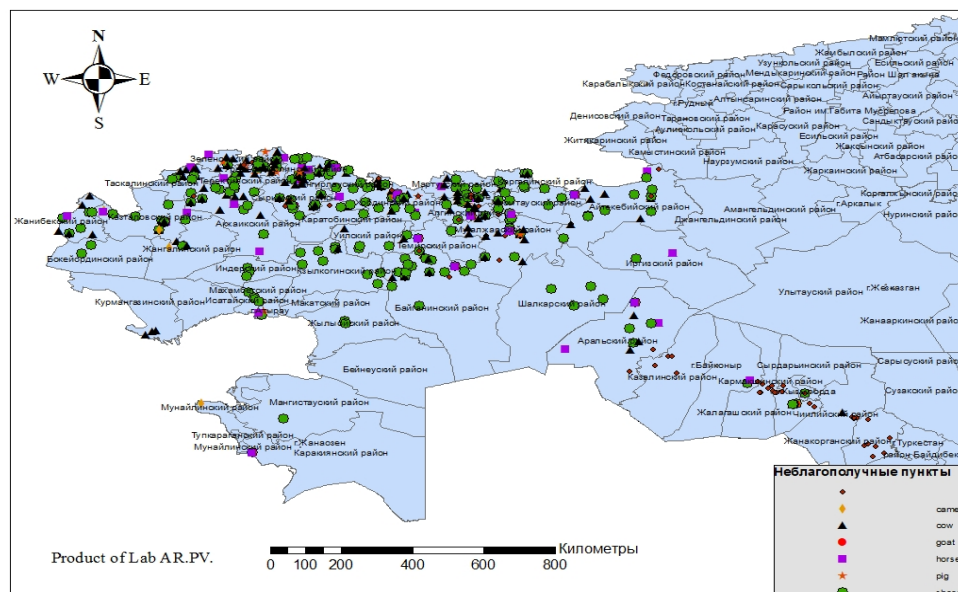


Рисунок 1 – Визуализация неблагополучных пунктов по сибирской язве за период 1933-2012 гг. в западных и юго-западных областях РК

Полученные данные позволяют визуально оценить сложившуюся эпизоотическую ситуацию по сибирской язве в регионе.

Из рисунка видно, что преимущественно СНП по сибирской язве сосредоточены в основном на территории Западно - Казахстанской и Актюбинской областей. Также на данной карте явно просматривается прямая зависимость наличия очагов инфекции от характера почвы. К примеру, можно отметить практическое отсутствие, кроме нескольких случаев, очагов инфекций на территориях прилегающих к Каспийскому морю, которые отличаются повышенной соленостью и загипсованностью, а также сравнительно небольшое количество очагов в зонах пустынь и полупустынь, где отсутствие влаги также препятствует выживанию возбудителя во внешней среде [7].

Исходя из собранной базы данных, проведена кластеризация стационарно-неблагополучных пунктов по сибирской язве в западных и юго - западных регионах Казахстана (рисунок 2).

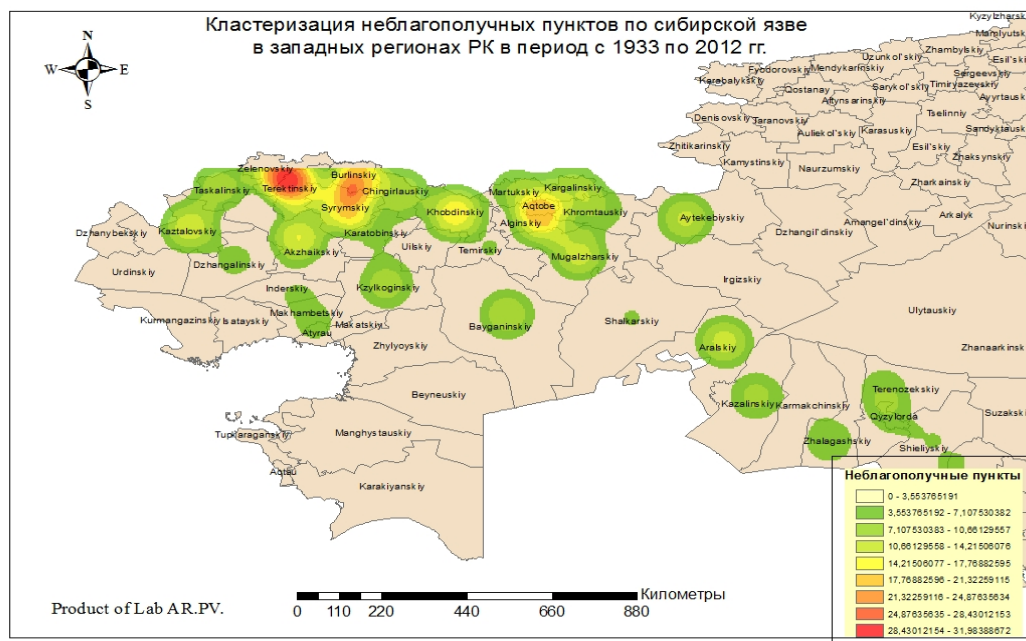


Рисунок 2 – Кластеризация стационарно-неблагополучных по сибирской язве пунктов в западных регионах РК в период 1933-2012 гг.

Анализ полученных данных показывает, что в исследуемой территории выявляются три крупных кластера. Два из них расположены на территории Западно - Казахстанской области. Центральные ядра этих кластеров приходятся на территорию Теректинского, а также на приграничные территории Сырымского и Бурлинского районов. Третий крупный кластер расположен в Актюбинской области, центральное ядро которого расположено на территории Алгинского района, данный кластер имеет вытянутый эллипс на территорию Мугалжарского района, что подтверждается наличием большого количества очагов в данном районе. Данный факт объясняется, как уже говорилось выше почвенным характером инфекции, а также густонаселенностью данных районов вкупе со сравнительно высокой плотностью восприимчивых животных.

В целом полученные данные по кластеризации неблагоприятных пунктов подтверждают существующую эпизоотическую ситуацию по сибирской язве в регионе. Сейчас вспышки сибирской язвы имеют спорадический характер и в зону риска входят области с большой концентрацией СНП по сибирской язве, то есть территории Западно-Казахстанской, Актюбинской и Кызылординской областей. Так за последние 13 лет в регионе были зафиксированы 6 вспышек сибирской язвы, из них 4 на территории Западно-Казахстанской области и по 1 в Актюбинской и Кызылординской областях.

Заключение Таким образом, анализ эпизоотической ситуации по сибирской язве в регионе показал, что в период с 1933 по 2013 гг. на изучаемых территориях было зафиксировано 355 неблагоприятных пунктов,

где заболели 439 человек и 6041 сельскохозяйственных животных.

Визуализация и картографический анализ расположения неблагополучных по сибирской язве пунктов, дают основания предполагать о существовании прямой зависимости наличия очагов инфекции от характера почвы.

Литература

1 Лухнова Л.Ю., Айкимбаев А.М., Пазылов Е.К., Дубянский В.М., Бекенов Ж.Е. **Дифференциация** территории Республики Казахстан по степени опасности заражения сибирской язвой // Вестник сельскохозяйственной науки Казахстана. – Алматы, 2004. - № 9. – С. 56-59.

2 Черкасский Б.Л. Закономерности территориального распространения и проявление активности стационарных неблагополучных по сибирской язве пунктов // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 1999. - № 2. – С. 48-52.

3 Кадастр стационарно-неблагополучных по сибирской язве пунктов Республики Казахстан 1948-2002 годы. – Алматы, 2003. – С. 19.

4 Кирьякова Л.С., Хайтова А.Б., Коваленко И.С. Использование географических информационных технологий в эпидемиологической диагностики особо-опасных инфекций // Проблемы особо опасных инфекций. – 2004. - № 87. – С. 24-27.

5 Хайтович А.Б., Кирьякова Л.С., Дулицкий А.И. и др. Перспективы использования ГИС-технологий в изучении карантинных и других особо опасных инфекций // Проблемы особо опасных инфекций. - 2002. - №84. - С. 174-178.

6 Дудников С.А. Количественная эпизоотология: основы прикладной эпидемиологии и биостатистики. – Владимир: Демиург, 2004. – 460 с.

7 Bekenov Zh. E. The epidemiological supervision in the Aktyubinsk oblast of Kazakhstan on spread reduction of especially dangerous zoonotic diseases // The international conference and Zoonotic infectious diseases and tourism. - Ulan-Bator, Mongolia, 2009, 17, 19-25.

Түйін

ҚАЗАҚСТАННЫҢ БАТЫС ЖӘНЕ ОҢТҮСТІК-БАТЫС АЙМАҚТАРЫНДА
ТОПАЛАҢ БОЙЫНША ИНДЕТТІК ЖАҒДАЙДЫ ВИЗУАЛДАУ ЖӘНЕ
КАРТОГРАФИЯЛЫҚ ТАЛДАУ

С.Қ. Әбдірахманов, Е.Е. Муханбеткалиев, Д.Б. Кушубаев

«С. Сейфуллин ат. Қазақ агротехникалық университеті»

Мақалада ақпараттық - коммуникациялық технологияларды қолдана отыра, Қазақстан Республикасының Батыс және Оңтүстік-Батыс аймақтарында топалаң бойынша індеттік жағдайды зерттеу туралы мәліметтер келтірілген. Топалаң бойынша қолайсыз пункттерді визуалдау және кластерлеу негізінде аймақта туындаған індеттік жағдайды бағалау жүргізілді.

Кілттік сөздер: топалаң, індеттік жағдай, географиялық ақпараттық жүйе, кластерлеу

Summary

VISUALIZATION AND CARTOGRAPHIC ANALYSIS OF EPIZOOTIC ANTHRAX WESTERN AND SOUTH-WESTERN REGIONS OF KAZAKHSTAN

S.K. Abdrakhmanov, Ye.Ye. Muhanbetkaliev, D.B. Kushubayev

JSC «S.Seifullin Kazakh Agro Technical University»

This article presents data analysis epizootic anthrax in West and South-West regions of Kazakhstan, with the use of information and communication technology. Based visualization and clustering disadvantaged anthrax items assessed the current epizootic situation in the region.

Keywords: anthrax, epizootic situation, geographical information system, clustering

УДК: 619:576.807.7

ПОЛУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ ПРОТИВ ИВЕРМЕКТИНА

А.К. Булашев, О.С. Акибеков

АО «Казакский агротехнический университет им.С.Сейфуллина»
Научно - исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии

Резюме В статье приводятся результаты исследований по получению поли- и моноклональных антител, специфичных к ивермектину. Методы и подходы, использованные в данной работе, позволили авторам получить высокоспецифичные антитела, которые могут быть использованы в иммунологических тестах для экспресс-обнаружения антгельминтика в продуктах питания.

Ключевые слова: иммунизация, поликлональные антитела,

моноклональные антитела, ивермектин

Введение Бесконтрольное применение препаратов ивермектинового ряда в животноводстве представляет определенную угрозу для здоровья людей, так как препараты из этой группы могут выделяться с молоком, аккумулироваться в органах и тканях животных, и в случае не соблюдения времени выдержки скота после обработки антгельминтиками могут попадать с продуктами животного происхождения в организм человека и вызывать различные патологии [1].

В настоящее время для контроля остаточных количеств ивермектина в продуктах питания используется в основном дорогой и рутинный метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с флуоресцентным детектором и его различные модификации [2]. В качестве замены ВЭЖХ находит применение ИФА. Последний имеет ряд существенных преимуществ перед ВЭЖХ, такие как высокая специфичность, скорость и простота постановки реакции, а также сравнительно невысокая стоимость процедуры анализа. Однако, тесты на основе ИФА могут найти свое применение только лабораториях, оснащенных специальными приборами и реактивами для постановки иммуноферментного анализа. В этой связи определенный интерес представляет иммунохроматографический анализ (ИХА) – один из простых экспресс-тестов, который может быть адаптирован для выявления остаточных количеств антгельминтика. **Чувствительность и специфичность ИХА во многом определяются природой используемых антител.** Однако, получение антител против ивермектина – дело не из легких. По своей химической структуре он относится к классу макроциклических лактонов и, как гаптен, не способен стимулировать иммунную систему на синтез антител. В качестве носителя, придающего иммуногенность ивермектину, были испытаны различные вещества, среди которых наиболее подходящим оказалось коллоидное золото [3]. Коллоидное золото не вызывает аллергии, не токсично и обладает иммуномодулирующими свойствами. Кроме того, оно само не выступает в роли антигена, чего нельзя сказать о других носителях, используемых для этой цели. Золото сохраняет состав прикрепленных к нему молекул антигена, а значит способно в неизменном виде "презентовать" их клеткам, ответственным за иммунитет [4].

Целью наших исследований явилось получение моноклональных и поликлональных антител против ивермектина, которые могут быть использованы в разработке высокочувствительного и специфичного варианта ИХА-теста для скрининга продуктов питания на наличие антгельминтика, содержание которого превышает предельно допустимую норму.

Материалы и методы исследований Приготовление конъюгата ивермектина с коллоидным золотом (И+КЗ) проводили по методу [Dykman L.A. \(2012\)](#) [3]. При конъюгировании бычьего сывороточного альбумина с антгельминтиком (И+БСА) был использован метод, описанный [Mitsui Y. et](#)

al. (1996) [5].

Пул лимфоцитов, необходимый для гибридной техники, был получен путем иммунизации мышей линии *Balb/c* по двум схемам.

По первой (короткой) схеме в первый день иммунизации мышам внутрибрюшинно вводили по 0,1 мл конъюгата И+КЗ (концентрация 1 мг/мл) в объеме 0,1 мл полного адьюванта Фрейнда (ПАФ). На 7 день иммунизации иммуноген в указанной дозе инъецировали в растворе неполного адьюванта Фрейнда (НАФ), далее на 11, 12, 13 дни иммунизацию продолжили с использованием только конъюгата-иммуногена в забуференном физиологическом растворе.

Вторая (длительная) схема иммунизации предусматривала пятикратную иммунизацию. Между первой, второй и третьей иммунизациями интервал составлял две недели. Четвертую иммунизацию проводили через три, а пятую – через четыре недели после предыдущего введения иммуногена. Конъюгат И+КЗ вводили внутрибрюшинно в концентрации 0,2 мг/мл в смеси с ПАФ при первой иммунизации, а при последующих - с НАФ. Бустерная доза в объеме по 0,2 мг/мл на голову вводилась без адьюванта мышам обеих групп за 3 дня до выделения иммунных лимфоцитов.

Слияние лимфоцитов с миеломной линией клеток $X_{63} - Ag 8.653$, проводили по общепринятой методике. Антительную активность гибридных клеток определяли с помощью непрямого ИФА, в котором в качестве антигена выступал конъюгат И+БСА. Источниками МКА служили супернатант и асцитная жидкость, полученные в результате культивирования гибридом в условиях *in vitro* и *in vivo*, соответственно.

Для получения кроличьей антисыворотки против ивермектина в первый день животному вводили подкожно в трех точках вдоль позвоночника конъюгат И+КЗ в ПАФ в общем объеме 1,0 мл (0,5 мл конъюгата + 0,5 мл ПАФ). Через 20, 30 и 40 дней по этой же схеме инъецировали такое же количество иммуногена, но в НАФ. На 60-ый день взяли кровь в объеме 15-20 мл, и вводили последнюю дозу иммуногена в НАФ. На 75 день производили обескровливание животного и получали антисыворотку. Активность антител определяли в непрямом варианте с использованием конъюгата И+БСА. Очищенные антитела были конъюгированы с коллоидным золотом по методу Е.А.Яковлевой с соавт. (2012) [6].

Результаты и обсуждение Антительная активность сыворотки крови кролика, иммунизированного И+КЗ, проверялась в ИФА с использованием твердой фазы, сенсibilизированной И+БСА. Результаты серологических исследований показали наличие в антисыворотке довольно высокой концентрации поликлональных антител (ПКА), специфичных к детерминантам ивермектина. Так, например, положительная реакция на антгельминтик регистрировалась до титра сыворотки 1:12 800.

Использованные методы иммунизации мышей *BALB/c* показали достаточную эффективность в стимулировании гуморального ответа иммунной системы на использованный антгельминтик, о чем свидетельствуют высокие титры сывороточных антител против ивермектина (1:6 400-1:12 800). При этом из каждой селезенки были изолированы в среднем $6,83 \times 10^6 \pm 1,20 \times 10^6$ лимфоцитов.

При первом слиянии количество миеломных клеток составляло 1×10^6 , а число спленоцитов находилось в пределах 5×10^6 , т.е. соотношение клеток было равно 1:5. В качестве сливающего агента использовали 50% раствор полиэтиленгликоля с молекулярной массой 4000. При первой гибридизации суспензия лимфоцитов и миеломных клеток была засеяна в 384 лунки планшета для культивирования гибридом. Образование гибридных клеток наблюдалось в 63 лунках, т.е. процент выхода гибридом был низким и равнялся 16,4%. Кроме того, ни один из клонов гибридных клеток не проявлял активность в отношении ивермектина, т.е. не синтезировали антитела, специфичные к данному антгельминтику.

Для второй гибридизации, учитывая низкий выход гибридом в предыдущем слиянии, мы взяли миеломные клетки и лимфоциты в соотношении 1:8,5. Увеличение доли лимфоцитов в смеси клеток-партнеров положительно повлияло на выход гибридом. Так, рост гибридных клеток был обнаружен в 155 лунках из 384 засеянных, или в 40,4% случаях. Результаты исследований гибридных клонов на антительную активность в ИФА показали наличие моноклональных антител (МКА) в культуральной жидкости 4-х штаммов гибридом: *1H1*, *1H9*, *2A3*, *4B1*. Эти гибридомы были подвергнуты клонированию методом лимитирующих разведений для получения генетически гомогенных линий. При первом клонировании активность субклонов, т.е. способность вырабатывать антитела, была низкой. Так, у клона *4B1* активными оказались 53,8% субклонов, а у остальных трех гибридом *1H1*; *1H9* и *2A3* доля активных субклонов была намного ниже: 36,6%; 39,1% и 27,7% соответственно. Учитывая генетическую неоднородность клонов гибридом, сразу же после наработки достаточного количества клеток проводилась работа по реклонированию субклонов. При повторном клонировании клетки двух гибридом (*1H1* и *2A3*) потеряли способность к синтезу МКА. Антительную активность сохранили субклоны гибридом *1H9* и *4B1*. Так, если у первой гибридомы доля активных субклонов была выше (54,5%), чем при первом клонировании (39,1%), то у второй этот показатель оставался почти неизменным (53,8% и 55,6%). МКА клонов *1H9* и *4B1* принадлежали к классу IgG1 и имели аффинность по отношению к ивермектину равную $2,0 \times 10^{-9}$ М и $2,6 \times 10^{-9}$ М, соответственно.

Заключение Использованные методы конъюгирования ивермектина с высокомолекулярными носителями и иммунизации ими лабораторных животных позволили получить высокоспецифичные поли- и моноклональные антитела против антгельминтика, которые могут быть использованы в

иммунологических тестах для экспресс-обнаружения антгельминтика в продуктах питания.

Литература

1. Chicioine A.L., Durden D., MacNaughton G., and Dowlin P. Ivermectin use and resulting milk residues on 4 Canadian dairy herds //Can.Vet.J.-2007.-V.48.-P.836-838.
2. Danaher M., Howells L.C., Crooks S.R., Cerkvenik-Fläjs V., O'Keeffe M. Review of methodology for the determination of macrocyclic lactone residues in biological matrices // J. Chromatogr., Analyt. Technol. Biomed. Life Sei.-2006.-P. 175-203.
3. Dykman L.A., Khlebtsov N. Gold nanoparticles in biomedical applications: recent advances and perspectives //Chem.Soc.Rev.-2012.-V.41.-P.2256-2282.
4. Pristensky D.V., Analysis of effectiveness of intracellular penetration of ivermectin immobilized onto corpuscular carriers //Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomed.Chemistry.- September 2007.- V.1.-P.249-253.
5. Mitsui Y., Tanimori H., Kitagawa T., Fujimaki Y. Aoki Simple and sensitive enzyme liked immunosorbent assay for ivermectin // Am. J. Trop. Med. Hyd.- 1996.-V.54.-№3.- P.243-248.
6. Яковлева Е.А., Андреева И.П., Григоренко В.Г., Егоров А.М. Осипов А.П. Латеральный проточный иммуноанализ тропонина-I //Вестник МГУ, Сер.2:Химия, 2012.-Т.53.-№6.- С.15-19.

Сведения об авторах:

Булашев А.К. – доктор ветеринарных наук, профессор кафедры микробиологии и биотехнологии Казахского агротехнического университета им. С.Сейфуллина. aytbay57@mail.ru

Акибеков О.С. – кандидат ветеринарных наук, старший преподаватель кафедры микробиологии и биотехнологии Казахского агротехнического университета им. С.Сейфуллина. Orken.A.S@mail.ru

Түйін

ИВЕРМЕКТИНГЕ ҚАРСЫ ТЕЛІМДІ АНТИДЕНЕЛЕРДІ АЛУ
А.Қ.Бұлашев, Ө.С.Әкібеков

«С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті» АҚ
Ауылшаруашылық биотехнология ғылыми-зерттеу институты

Мақалада ивермектинге телімді поли- және моноклоналды антиденелерді алуды көздеген зерттеулердің нәтижелері келтірілген.

Қолданылған әдістер тағам өнімдерінде антгельминттік анықтау арналған иммунологиялық тестерде қолданыс таба алатын телімділігі жоғары антиденелерді алуға мүмкіндік берген.

Кілттік сөздер: иммунизация, поликлоналды антиденелер, моноклоналды антиденелер, ивермектин

Summary

OBTAINING SPECIFIC ANTIBODIES AGAINST IVERMECTIN

A.K.Bulashev, O.S.Akibekov

S.Seifullin Kazakh Agrotechnical University
Agricultural Biotechnology Research Institute

The article presents the results of research on obtaining polyclonal and monoclonal antibodies specific for Ivermectin. Methods and approaches used in this paper allowed the authors to obtain highly specific antibodies that can be used in immunoassays for the rapid detection of anthelmintic in food.

Keywords: immunization, polyclonal antibody, monoclonal antibody, ivermectin

ӘОЖ 619:616.981.42

Ш.А. Барамова, Е.К. Оспанов, А.А. Адамбаева, Н. Мәтіхан

ӨНДІРІСТІК ЖАҒДАЙДА S-R-АНТИГЕННІҢ СЕЗІМТАЛДЫҒЫН ЖӘНЕ ӨЗІНЕ ТӘНДІЛІГІН ЗЕРТТЕУ

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Түйін Мақалада гетерологиялық және теріс сарысу АР және КҰБР тәжірибедегі боялған антигендермен теріс нәтиже берді, тәжірибедегі диагностикумның өзіне тәнділігі туралы айтылған. Серологиялық реакциялардың сезімталдығын және өзіне тәнділігін анықтау үшін тәжірибедегі серия боялған антигенмен иммундалған малдардың сарысуын зерттеу арқылы жүргізгендігі келтірілген.

Кілттік сөздер: штамм, бруцеллез, антиген, *B.melitensis*, *B.abortus*, *B.ovis*

Кіріспе Көптеген микроорганизмдер сыртқы ортаның қолайсыз әсерлеріне байланысты өзінің өміршеңдігін сақтап қалу мақсатында морфологиялық, биологиялық қасиеттерін өзгерте отырып, сол ортаға

бейімделеді. Мұндай қасиетке қазіргі кезде еліміздің мал шаруашылығында кеңінен таралған жұқпалы аурудың қоздырғышы болып табылатын – *Brucella* жатады. Көптеген зерттеушілер табиғи жағдайда бруцеллез қоздырғышы антигендік құрылымы өзгерген R, RS, SR және L-формаларында айналымында болатындығын анықтаған. Бұл өз кезегінде бруцеллезге қарсы жүргізілетін сауықтыру шараларының қажетті деңгейде нәтиже алуға үлкен кедергі жасайды. Себебі сауықтыру шаралары жүргізіліп жатқан шаруашылықтардағы мал қан сарысуларын бруцеллезге тексеру барысында бруцелланың S – формасынан дайындалған антигенмен серологиялық реакциялар бруцелланың R-формасымен зарарланған малды анықтауға мүмкіндік бермейді. Ал, R-формамен зарарланған мұндай малдар инфекция тарату көзі болып қала береді, ол бруцеллезді диагностикалауда маңызды қиындықтар туғызады.

Бруцеллдің өзгерген формасы, олардың уыттылығының төмендегеніне қарамастан, малдардың ағзасында бастапқы формасына реверсияға ұшырауға қаблетті, бруцеллез ауруын шақырады және табындағы сәтсіздікті ұстап тұрады. Бруцелланың өзгерген формасымен зарарланған малдар инфекция көздерін таратушы болып табылады, сонымен қатар S формасын жұқтырған жеке ағзада. Бірақ-та мұндай малдар дегенмен қазіргі уақытта зертханалық тәжірибеде жалпы қабылданған антигендер болып саналмайды, тек қана қарсы денелер-мен әрекеттеседі, S-формадан жасалған антиген. Сайып келгенде, ресми қолданатын диагностикалық дәрімектер бруцелланың S –форма түрі негізінде құрастырылғандықтан, антигендік құрылымы өзгерген бруцелл серологиялық және бактериологиялық диагностикалауда және бруцелла қоздырғыштарын жіктегенде қиындықтар туғызады.

Осыған байланысты, зерттеу жаңа тиімді диагностикалық препараттардың ізденістері бойынша бруцелла қоздырғышының өзгергіштігін есепке алу өзекті мәселелердің бірі болып саналады.

Қазіргі кездегі бар диагностикалық зерттеулердің мәселелерін еске ала отырып, біздің зерттеуіміздегі келесі мәселелер қошқарлардың жұқпалы эпидидимитін және малдардың бруцеллезін балауға КҰБР және АР реакцияларына арналған бруцеллдің S және R-формасынан антиген дайын-даудың тәсілін жасау және оны жетілдіру болып табылады.

Серологиялық реакцияларды қойылғанда қолданылатын антигеннің сапасына, оның сезімталдығына және өзіне тәнділігіне ерекше мән беру керек, бағалы және сенімді нәтиже алу үшін. Тәжірибеде белгілі болғандай көп жағдайларда біле тұра сау малдардың және ауру малдың қан сарысуын зерттегенде әр түрлі антигендермен өзіне тән емес реакция бергені іс жүзінде атап өтілген. Белгілі жай, бірыңғай бруцеллезді антиген жасау үшін, АР, және КБР (КҰБР) қойғанда қолданатын S-формадағы бруцелла штаммдарын қолда-нады, малдардың қан сарысуынан тексергенде тиісті қарсы денелерді ұстайды.

Зерттеу материалдары Тәжірибедегі SR антигеннің өзіне тәнділігі, сондай-ақ бөлек S антиген және бөлек R антигенді АР және КҰБР

реакцияларында Алматы облысының Еңбекшіқазақ ауданының а/о «Қаражота» жеке секторына қарасты малдардан 53 сынама қан сарысуын зерттеу жолымен анықтадық. Зерттеу нәтижелерін салыстыру үшін сондай-ақ биофабрикалық бірыңғай антигенмен реакция қойдық (АР, КБР және КҰБР үшін). Сыналып отырған антигендердің реакцияларының нәтижелері 1 кестеде келтірілген.

Кесте 1 – Малдардың қан сарысуын АР және КҰБР зерттелетін антигендермен серологиялық зерттеулер нәтижесі

Мал басының саны	Биофабрикалық бірыңғай антиген		Зерттелетін антигендер					
			S антиген		R антиген		SR антиген	
	АР	КҰБР	АР	КҰБР	АР	КҰБР	АР	КҰБР
53	$\frac{15}{39}$	$\frac{12}{42}$	$\frac{15}{39}$	$\frac{12}{42}$	$\frac{9}{45}$	$\frac{13}{41}$	$\frac{16}{38}$	$\frac{15}{39}$
Барлығы	$\frac{18}{36}$		$\frac{18}{36}$		$\frac{14}{40}$		$\frac{21}{33}$	

Ескерту: алым – оң нәтиже; бөлім – теріс нәтиже

Кестеден көрінгендей, 53 сынама қойдың қан сарысуын АР және КҰБР зерттегенде биофабрикалық бірыңғай антигенмен оң нәтиже берді және сыналып отырған S антигенмен 18 сынама, R антигенмен 14 сынама, ал SR антигенмен 21 сынама.

Сонымен бірге, 14 сынама қошқарлардың оң қан сарысуы және жұқпалы эпидидимитке КҰБР овистік антигенмен теріс нәтижелерге зерттеулер жүргізілді. Алынған нәтижелер тиімділігін анықтау бойынша және тәжірибедегі антигендердің өзіне тәнділігі 2 кестеде келтірілген.

Кесте 2 – Қошқарлардың қан сарысуын АР және КҰБР зерттелетін антигендермен серологиялық зерттеулер нәтижесі

Мал басының саны	Биофабрикалық овистік антиген	Зерттелетін антиген					
		S антиген		R антиген		SR антиген	
	КҰБР	АР	КҰБР	АР	КҰБР	АР	КҰБР
14	$\frac{4}{10}$	$\frac{-}{14}$	$\frac{-}{14}$	$\frac{4}{10}$	$\frac{4}{10}$	$\frac{4}{10}$	$\frac{4}{10}$

Ескерту: алым – оң нәтиже; бөлім – теріс нәтиже.

2 кестеден көрінгендей, R және SR антигендермен, сонымен бірге биофабрикалық овистік антигенмен АР және КҰБР бірдей 4 сынама қошқарлардың қан сарысуы оң нәтиже көрсетті. Сонымен атап өту керек, нәтижелерін санағанда АР R антигенмен реакцияның көрнектілігі жақсы болды, SR формадағы антигенді қолданғанға қарағанда. Сондықтан қошқарлардың жұқпалы эпидидимитінің қан сарысуларын зерттегенде серологиялық реакцияларда тек қана R антигенді қолданған орынды болды.

Біздің зерттеулердің келесі кезеңі серологиялық реакцияларда гетерологиялық және гомологиялық сарысуларды зерттегенде тәжірибедегі антиген-дердің өзіне тәнділігін анықтау (кесте 3).

Кесте 3 - Серологиялық реакциялардың өзіне тәнділігі тәжірибедегі антиген-дермен

Зерттелетін сарысулар	Биофабрикалық овистік антиген	Биофабрикалық бірыңғай антиген		Зерттелетін антигендер			
				R антиген		SR антиген	
				КҰБР	АР	КҰБР	АР
Сальмонеллез	-	-	-	-	-	-	-
Лептоспироз	-	-	-	-	-	-	-
Пастереллез	-	-	-	-	-	-	-
Хламидиоз	-	-	-	-	-	-	-
Иерсиниоз	-	-	-	-	-	-	-
Бруцеллез	-	+	+	-	-	+	+
Овис	+	-	-	+	+	+	+

Ескерту : + оң, - теріс нәтиже.

Кесте 3 көрінгендей, гетерологиялық және теріс сарысу АР және КҰБР тәжірибедегі боялған антигендермен теріс нәтиже берді, тәжірибедегі диагностикумның өзіне тәнділігін куәландырады.

Зерттеу нәтижелері Серологиялық реакциялардың сезімталдығын анықтау үшін тәжірибедегі серия боялған антигенмен иммундалған малдардың сарысуын зерттеу арқылы жүргіздік.

Зерттегенде АР және КҰБР нәтижелері бойынша боялған SR-формадағы антиген биофабрикалық бірыңғай бруцеллезді антигеннен кем түспейтіндігі анықталды. АР және КҰБР реакциялары сезімталдығы бойынша бруцелланың R-формадағы боялған антигенмен салыстырғанда КҰБР-да биофабрикалық овистік антигеннен асып түсті.

Дайындалған R және SR диагностикумдардың тиімділігін зерттеп үйрендік зерханалық жағдайда 873 бас МІК және 542 бас МҰМ (барлығы 1415 бас) Алматы және Жамбыл облыстарының әр түрлі шаруашылықтарынан әкелген қан сарысуын тексеріп, АР, КҰБР бірыңғай бруцеллезді антигенмен бір уақытта зерттедік. Бруцеллез диагнозын растау үшін барлық малдардан тұтас қан сынамалары алынып зерттелді, стерильді вакутейнерлерде бактериологиялық жолмен алынды, арнайы қатты және сұйық көректік ортаға егілді, бруцелла гемокультурасын алу мақсатында.

Қорытынды Жүргізілген зерттеулердің нәтижесінде R және SR антигеннің серологиялық реакциялардың сезімталдығы және өзіне тәнділігі анықталды. Мал инфекциясының жасырын формасын анықтауға және осы ауруда диагностикалық зерттеуді жоғары деңгейде жүргізуге мүмкіндік береді. Сонымен, бруцеллез инфекциясы қауіп тудыратын және ағзада ұзақ

уақыт бру-целла болатын малдарға жүргізілетін шараларға міндетті түрде диагностикум-дарды енгізу қажет.

Әдебиеттер

1. Kumar S., Tamura K., Nei M. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment // Briefings in bioinformatics. – 2004. – Vol. 5, №2. – P. 150–163.

2. Тен В.Б. Методологические основы приготовления и совершенствования профилактических противобруцеллезных препаратов и диагностических средств: дис. ... д-ра вет. наук. - Алма-Ата, 1996. - 398 с.

3. Белобаб В.И. Пути совершенствования диагностики и профилактики бруцеллеза у животных: дис. ... д-ра вет. наук. - Алматы, 1998. - 426 с.

Иегерлер туралы мағлұмат:

Барамова Ш.А. – биология ғылымдарының докторы, профессор, «Қазақ ҒЗВИ» ЖШС бруцеллез зертханасының меңгерушісі

Оспанов Е.К. – ветеринария ғылымдарының кандидаты, «Қазақ ҒЗВИ» ЖШС жетекші ғылыми қызметкері

Адамбаева А.А. - «Қазақ ҒЗВИ» ЖШС ғылыми қызметкері

Мәтіхан Н.- «Қазақ ҒЗВИ» ЖШС аға лаборанты

Резюме

ИЗУЧЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И СПЕЦИФИЧНОСТИ S-R-АНТИГЕНА В ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Ш.А. Барамова, Е.К. Оспанов, А.А. Адамбаева, Н. Мәтіхан

ТОО «Казахский научно – исследовательский ветеринарный институт»

В статье показано, что при исследовании гетерологичных и негативных сывороток в РА и РДСК с опытными окрашенными антигенами были получены отрицательные результаты, что свидетельствует о специфичности опытных диагностикумов. Изучение чувствительности и специфичности серологических реакций с опытными сериями окрашенных антигенов проводили путем исследования сывороток иммунизированных животных.

Ключевые слова: штамм, бруцеллез, антиген, *B.melitensis*, *B.abortus*, *B.ovis*

Summary

STUDY OF SENSIBILITY AND SPECIFICITY S-R- ANTIGENS IN PRODUCTION CONDITIONS

Sh.A. Baramova, E. K. Ospanov, A. A. Adambaeva, N. Matihan

LLP «Kazakh Scientific research Veterinary Institute»

It is shown in the article, that at research of heterologus and negative serums in SAT and LCFT with experience painted antigens negative results were got, that testifies to specificity of experience diagnosing fools. The study of sensitiveness and specificity of serum reactions with experience series of the painted antigens was conducted by research of serums of the immunized animals.

Keywords: are a stamp, brucellosis, antigen, B. melitensis, B. abortus, B. ovis

УДК: 619:616.982.211.:636.2

КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКОБАКТЕРИЙ НА ЖИДКИХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

А.М. Борсынбаева

Казахский национальный аграрный университет

Резюме В данной статье приведены исследования и установлена возможность посева микобактерий туберкулеза суспензионной взвесью на жидкую питательную среду. Культивирование микобактерий, высеянных таким способом улучшает выработку туберкулопротеинов и способствует интенсивному росту микобактериальной массы в сравнении с контролем.

Ключевые слова: туберкулез, культивирование, микобактерии туберкулеза

Введение Туберкулез сельскохозяйственных животных имеет широкое распространение на территории Республики Казахстан. Его ликвидация является одной из актуальных проблем ветеринарной науки и практики. Эта болезнь наносит огромный экономический ущерб и представляет большую опасность для здоровья людей.

Успешная борьба с этим заболеванием животных может быть достигнута на основе рационального использования средств диагностики.

Основным методом прижизненного распознавания болезни у животных является алергопроба, основанная на внутрикожном введении ППД-туберкулина для млекопитающих.

В основе промышленной технологии изготовления ППД-туберкулина положен способ, разработанный в Украинском НИИЭВ А.М.Говоровым и

Ф.И.Осташко в 1956 г. [1]. Отличием от ранее разработанных методов было переосаждение протеина в изоэлектрической точке сульфатом аммония и обессоливание препарата диализом с использованием целлофана. Однако из-за недостаточной специфичности, получаемого при этом препарата, ППД-туберкулин вызывал определенные нарекания со стороны практической ветеринарной службы.

В настоящее время проведено множество работ по усовершенствованию способов приготовления туберкулинов и в этом достигнуты большие успехи. Но, несмотря на это, в производственном цикле изготовления туберкулинов есть некоторые существенные недостатки. Так через каждые 10 пассажей необходимо обновлять культуру микобактерий путем рассева эталонного штамма через среду Павловского с последующим рассевом на среду Сотона. Данный факт создает определенные неудобства, такие как значительные временные затраты. Кроме того, при посеве микобактерий традиционным способом, при внесении платиновой петлей микобактериальной пленки в бутылки с питательной средой увеличивается вероятность заноса в них посторонней микрофлоры.

В.И. Голышевская, Н.И. Фадеева, 1987 [2] высказали гипотезу, что скорость роста микобактерий туберкулеза на питательных средах определена генотипом данного возбудителя и ускорение накопления биомассы может быть достигнуто только при искусственном его изменении, что является мало осуществимым. Перспективным направлением, в данном случае, может быть конструирование питательных сред, направленных на сокращение сроков роста микобактерий туберкулеза

Общепринятый способ культивирования микобактерий на жидких питательных средах предусматривает промежуточный процесс пересева культуры из колоний с плотной питательной среды, например Левенштейна-Йенсена, на жидкую, например Сотона, путем адаптации их на промежуточной картофельной среде Павловского. В противном случае, при внесении колоний культуры на поверхность жидкой среды они падают на дно бутылки и не растут. Для этого фрагменты колонии культур микобактерий наносят на картофель, выступающий над жидкой частью среды Павловского. Обычно, через 45 сут после термостатирования при 38⁰С, образовавшаяся пленка сползает с поверхности картофеля на жидкую часть среды и покрывает поверхность среды. В дальнейшем плавающую бактериальную пленку со среды Павловского пересевуют на жидкую среду Сотона [3].

Однако этот способ требует приготовления промежуточной среды Павловского и дополнительного времени, необходимого для получения на жидкой части среды микобактериальной пленки.

Известны другие способы культивирования микобактерий на жидких питательных средах путем нанесения кусочков бактериальной массы на поплавок, кружки корковой пробки толщиной до 1 мм, плавающих на поверхности жидкой питательной среды таким образом, чтобы край бактериальной массы касался жидкости или нанесения исходного материала

на бумагу из высокоочищенной целлюлозы, способной плавать на поверхности жидкой питательной среды [4]. Однако эти способы не всегда приемлемы, так как отсеянные колбы требуют полного покоя и не транспортабельны для переноса например, из бокса в термостат, а на целлюлозной бумаге из-за образования на поверхности слоя жидкости происходит утопление клеток микобактерий, которые затем не растут и отмечается непригодность их для посева S-R-вариантов культур.

Целью исследования является совершенствование способа посева и сокращение сроков культивирования микобактерий туберкулеза путем непосредственного посева R- и S-R-форм микобактерий из колоний на жидкую питательную среду Сотона.

Материалы и методы исследований Материалом исследований служили микобактерии бычьего вида (№8, ВИЭВ), питательная среда Сотона, Павловского, Левенштейна-Йенсена.

Для проведения экспериментов было приготовлено 10 литров жидкой питательной среды Сотона, которую разлили по 1 литру в 2-х литровые бутылки и автоклавировали. На жидкой питательной среде Сотона выращивали культуру микобактерий бычьего вида. В стерильных условиях собирали пленку микобактерий, выращенную на жидкой питательной среде Сотона, отжимали в четырехслойной фильтровальной бумаге и взвешивали на аналитических весах, бактериальную массу растирали в ступке.

Измельченную бактериальную массу гомогенизировали в 50 см³ стерильного физиологического раствора до концентрации 1 млрд. КОЕ в 1 см³ (по оптическому стандарту мутности). Затем стерильным шприцом набирали суспензию микобактерий и вносили по 1,0 -5,0 см³ в 5 бутылей. Другие бутылки служили контролем, посев в которые проводили общепринятым способом, т.е. путем внесения пленки микобактерий по одной петле диаметром 20 мм.

Необходимо отметить, что при посеве суспензии взвесь микобактерий опускалась на дно бутылей и среда мутнела. Но затем, в процессе термостатирования при температуре 37-38°C, среда становилась прозрачной.

Ежедневно проводили контроль температуры и отсутствия роста посторонней микрофлоры. При этом рост в бутылках со взвесью отмечался на 15-20 сутки. В контроле рост микобактерий был замедленным.

По истечении срока культивирования (60 суток) бутылки с выросшей культурой микобактерий стерилизовали в автоклаве при 1,5 атм. 30 минут.

Содержимое каждого бутылки отдельно фильтровали через фильтровальную бумагу. Собранные образцы бактериальной массы отжимали 4-мя слоями фильтровальной бумаги и высушивали до постоянного веса при температуре 80-90° С. Из полученных образцов культуральной жидкости осаждали туберкулопротеин путем добавления к ней 50%-го раствора трихлоруксусной кислоты до конечной концентрации 4%. После чего белок собирали центрифугированием и также высушивали до постоянного веса.

Результаты и обсуждение В таблице 1 представлены полученные результаты опытов.

Таблица 1 - Культивирование на жидких питательных средах микобактерий бычьего вида, штамм №8 (ВИЭВ)

Способ культивирования	Номера биобутылей	Выход бактериальной массы (г)	Количество белка (г)
Биобутыли со взвесью	1	7,1	0,44
	2	6,5	0,42
	3	7,3	0,45
	4	6,3	0,39
	5	6,3	0,40
M±m		6,69±0,12	0,43±0,01
Биобутыли контроль	1	67,5	0,96
	2	65,3	0,92
	3	64,0	0,87
	4	75,4	0,98
	5	62,4	0,87
M±m		68,06±1,36	0,96±0,03

Таким образом, исходя из данных представленных в таблице, можно сделать вывод, что посев со взвесью в биобутылях способствует более интенсивному росту бактериальной массы микобактерий на 91,7% по сравнению с контролем и большей выработке туберкулопротеинов на 12,3%. И такой способ посева является стерильным. При проведении опыта не было пророста.

В результате проведенных исследований установлена возможность засева микобактерий туберкулеза суспензионной взвесью на жидкую питательную среду. Культивирование микобактерий, высеянных этим способом, способствует более интенсивному росту микобактериальной массы по сравнению с контролем и большей выработке туберкулопротеинов.

Такой способ посева является более технологичным и производительным, а также безопасным для персонала.

Исходя из вышесказанного следует, что посев микобактерий путем внесения суспензии культуры непосредственно в бутылки со средой Сотона, позволяет получить значительное увеличение выхода микобактериальной массы и туберкулопротеина, что в свою очередь позволяет более полно использовать потенциал питательной среды.

Оригинальность данной разработки «Способ культивирования микобактерий на жидких питательных средах» подтверждена *Авторским свидетельством № 27489 от 24.12.2012 г. Национального Патентного Ведомства Республики Казахстан.*

Закключение Засев микобактерий туберкулеза на жидкую питательную среду можно осуществлять с помощью шприца в который набирают предварительно растертую в фарфоровой ступке микробную суспензию в

объеме 1,0- 5,0 см³ и вносят в емкость с последующим термостатированием в течении 60 суток. Культивирование микобактерий, высеянных предложенным нами методом, способствует более интенсивному накоплению биомассы, является технологичным и более безопасным для персонала.

Литература

1. Говоров А.М., Осташко Ф.И. Новые туберкулины // Науч.-тех. бюллетень УНИИЭВ. – 1956.– С.12-15.
2. Голышевская В.И., Фадеева Н.И. Совершенствование методов микробиологической диагностики туберкулеза // Сб. науч. тр. ЦНИИ туберкулеза. - М., 1987. - Т. 45. - С. 77 - 82.
3. Васильев В.Н. Микобактериозы и микозы легких // Медицина и физкультура. - София, 1971. - 383 с.
4. Экономический патент ГДР № 266810,1989.

Сведения об авторе:

Борсынбаева А.М. – магистр ветеринарии, PhD докторант Казахского национального аграрного университета

Түйін

СҰЙЫҚ ҚОРЕКТІК ОРТАЛАРҒА МИКОБАКТЕРИЯЛАРДЫ ЕГУ

А.М. Борсынбаева

Қазақ ұлттық аграрлық университеті

Мақалада микобактерия туберкулезін сұйық қоректік ортаға суспензия түрінде егу және зерттеу жұмыстары көрсетілген. Микобактерияларды егудің мұндай түрі туберкулопротеиндердің шығуын жақсартады және бақылауға қарағанда микобактериялар массасының үдемелі өсуіне ықпалын тигізеді.

Кілттік сөздер: туберкулез, егу, туберкулез микобактериясы

Summary

CULTIVATION OF MYCOBACTERIYA ON LIQUID NUTRIENT MEDIUMS

A.M. Borsynbayeva

Kazakh National agrarian university

In the articles present the result of researches possibility of grows of mycobacterium tuberculosis seeding by suspension methods in a liquid nutrient medium. Seeding of mycobacterium by suspension methods cultivation of mycobacterium, improves production tuberculoprotein and promotes intensive growth of mycobacterial mass in comparison with the control.

Keywords: tuberculosis, cultivation, mycobacterium of tuberculosis

УДК 546.027:539.16(574.42)

ВИТАМИННЫЙ СОСТАВ КОЗЛЯТИНЫ И СУБПРОДУКТОВ ИЗ ЗОН РАДИАЦИОННОГО РИСКА БЫВШЕГО СЕМИПАЛАТИНСКОГО ИСПЫТАТЕЛЬНОГО ЯДЕРНОГО ПОЛИГОНА (СИЯП)

**П.Б. Габдуллина, А.Т. Серикова, С.Т. Дюсембаев,
Д.Е. Иминова, Н.К. Омаргалиева**

Испытательная региональная лаборатория инженерного профиля
«Научный центр радиоэкологических исследований», г. Семей

Резюме В данной статье приведены исследования на содержание витаминов козлятины и их субпродуктов из разных зон радиационного риска бывшего СИЯП.

Ключевые слова: витамины, Семипалатинский испытательный ядерный полигон, радионуклиды, чрезвычайная зона радиационного риска, повышенная зона радиационного риска

Введение В условиях рыночной экономики козоводство является перспективной отраслью и предопределяется проявлением на мировом рынке устойчивого спроса и высокой стоимости продукции.

Для дальнейшего развития этой отрасли в Казахстане, наряду с ростом численности коз и повышением уровня кормления, необходимо значительно улучшить племенную работу. Важным критерием по оценке пород и отдельных стад коз должны служить уровень продуктивности, качество продукции и приспособленности их к экологическим условиям зоны разведения, продолжительность использования и устойчивость к заболеваниям. Одновременно селекция должна быть направлена на получение крепких животных [1].

Во всём мире с древних времён и до наших дней известно о полезных свойствах козьего мяса. Козье мясо – ценный продукт питания, который во все времена употребляют в пищу все народы мира. Мясо козлят и молодых козочек светлее баранины, а козий жир имеет чисто белый цвет и не имеет постороннего вкуса и запаха. Легко усваиваемое, богатое самыми

необходимыми веществами и микроэлементами, оно подходит для питания как взрослых, так и детей. Мясо коз богато необходимыми для организма аминокислотами. По содержанию витамина А, В1, и В2 козье мясо значительно превосходит мясо сельскохозяйственных животных других видов.

Бывший Семипалатинский испытательный ядерный полигон являлся одним из крупнейших полигонов для испытаний ядерного оружия в мире. Большинство районов Семипалатинской области подверглось локальному загрязнению радиоактивными продуктами, а население, проживающее в них, различным дозам воздействия ионизирующих излучений. В связи с этим СИЯП делят на четыре зоны радиационного риска: первая зона – чрезвычайного радиационного риска; вторая зона – максимального радиационного риска; третья зона - повышенного радиационного риска; четвертая зона - минимального радиационного риска [2].

По информации Министерства сельского хозяйства на сегодняшний день вблизи, и на территории бывшего ядерного полигона, входящего в состав Восточно-Казахстанской области, расположены 57 крестьянских хозяйств, с общей площадью землепользования 51,7 тыс. га (г.Семей, Абайский и Бескарагайский районы). В данных хозяйствах содержится 45,0 тыс. голов овец и коз, 10,6 тыс. голов лошадей и 4,5 тыс. голов крупного рогатого скота [3].

Радиоэкологическая ситуация СИЯП не является стабильной, ученые «Научного центра радиоэкологических исследований» проводят мониторинг радиационной ситуации на территориях СИЯП. Исследования показывают, что у животных, выпас которых осуществлялся в условиях бывшего Семипалатинского испытательного ядерного полигона, радиоактивные вещества отрицательно влияют на органолептические показатели и химический состав мяса.

Все это приводит к снижению биологических и пищевых качеств мяса коз. Продукты питания - источники поступления радионуклидов в организм человека, а употребление в пищу таких продуктов приводит соответственно к заболеванию людей.

Цель научной работы - исследование витаминного состава козлятины и субпродуктов (печень, сердце, почки) из двух зон радиационного риска:

- зона повышенного радиационного риска города Семей;
- зона чрезвычайного радиационного риска села Саржал.

Методы исследования Для достижения поставленных нами цели в убойном пункте кафедры "Ветеринарной санитарии" СГУ им. Шакарима проведён убой коз выращенных в г.Семей и с.Саржал, которые находились под наблюдением ветеринарных врачей.

Радиационный фон местностей составил в г.Семей 0,09 мкЗв/час и с. Саржал 0,32 мкЗв/час. Замер радиоактивных веществ в почве г. Семей показал содержание радионуклидов Am-241 $1,7 \pm 0,2$; Cs-137 - $2,3 \pm 0,4$; Pu-239/240 - $1,7 \pm 0,1$ Бк/кг, в с. Саржал Am-241 - 37 ± 1 , Cs-137 - 35 ± 1 , Pu-239/240

- 9 ± 2 Бк/кг. В растениях г.Семей содержание Am-241 – менее 0,5; Cs-137 - менее 1; Pu-239/240 менее 1 Бк/кг, в с. Саржал содержание радионуклидов, то есть Am-241 - $1,5 \pm 0,8$; Cs-137 - $2,2 \pm 0,1$; Pu-239/240 не более 0,9 Бк/кг. В пробах воды г. Семей содержание радионуклидов Am-241 $< 0,01$; Cs-137 $< 0,02$; Pu-239/240 $< 0,0003$ Бк/л, соответственно в селе Саржал $< 0,5$; $< 0,05$ и $< 0,06$ Бк/л. Были проведены испытания на радионуклидный состав и питательную ценность мяса коз в испытательной региональной лаборатории инженерного профиля "Научный центр радиэкологических исследований" (ИРЛИП НЦРЭИ) СГУ им. Шакарима г.Семей с 2013 по 2014 гг. Определение содержания витаминов в пробах проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе SHIMADZU LC-20 Prominence (Япония). Для разделения витаминов использовали хроматографическую колонку $25\text{см} \times 4,6\text{мм} \times 5\text{мкм}$. При работе колонка оснащалась предколонкой, чтобы защитить основную колонку от загрязнений. Пробы для измерения вводили автосамплером. Перед вводом пробу обязательно пропускали через мембранный фильтр размером пор 0,45 мкм, для полного очищения элюента от микропримесей. Объем вводимой пробы составил 10 мкл. Концентрацию витаминов в пробах вычисляли на 100 гр. продукта.

Результаты исследований Данные исследований представлены в таблицах 1,2.

Таблица 1- Витаминный состав козлятины

Исследуемые пункты	Содержание витаминов, мг			
	В1 (тиамин)	В2 (рибофлавин)	В6 (пиридоксин)	Е (токоферол)
г.Семей	0,003	0,1	0,2	0,2
с.Саржал	0,002	0,08	0,1	0,12
ФАО ВОЗ*	0,05	0,2	0,4	0,5

Содержание витамина В₁ в козлятине г.Семей составило 0,003 мг; В₂ - 0,1 мг; В₆ - 0,2 мг; витамина Е - 0,2 мг, соответственно в с.Саржал В₁ - 0,002 мг; В₂ - 0,08 мг, В₆ - 0,2 мг и витамина Е - 0,12 мг.

Таблица 2 – Витаминный состав субпродуктов

Исследуемые пункты	Содержание витаминов, мг			
	В1 (тиамин)	В2 (рибофлавин)	В6 (пиридоксин)	Е (токоферол)
Печень козы				
г.Семей	0,19	0,02	0,09	0,2
с.Саржал	0,084	0,009	0,07	0,05
Сердце козы				
г.Семей	0,09	0,01	0,09	-

с.Саржал	0.06	0.008	0.04	-
Почки козы				
г.Семей	0,25	0,01	0,1	-
с.Саржал	0,1	0,01	0,06	-

Содержание витамина В₁ в печени козы, привезенной из зоны повышенного радиационного риска составило - 0,19 мг, В₂ - 0,02 мг, витамина В₆ - 0,09 мг и витамина Е - 0,2 мг, соответственно в печени козы, привезенной из зоны чрезвычайного радиационного риска составило В₁ - 0,084 мг, витамина В₂ - 0,009 мг, витамина В₆ - 0,07 мг, витамина Е - 0,05 мг.

Содержание витамина В₁ в сердечной мышце козы, привезенной из зоны повышенного радиационного риска составило - 0,09 мг, В₂ - 0,01 мг, витамина В₆ - 0,09 мг и витамина Е - не обнаружено, соответственно в сердечной мышце козы, привезенной из зоны чрезвычайного радиационного риска составило В₁ - 0,06 мг, витамина В₂ - 0,008 мг, витамина В₆ - 0,04 мг, витамина Е не обнаружено.

Содержание витамина В₁ в почках козы, привезенной из зоны повышенного радиационного риска составило - 0,25 мг, В₂ - 0,01 мг, витамина В₆ - 0,1 мг и витамина Е - не обнаружено, соответственно в почках козы, привезенной из зоны чрезвычайного радиационного риска составило В₁ - 0,1 мг, витамина В₂ - 0,01 мг, витамина В₆ - 0,06 мг, витамина Е не обнаружено.

Заключение

1. Исследования витаминного состава мяса коз из зон повышенного и чрезвычайного радиационного риска показали, что в пробах витаминный состав ниже на: В₁ - 40-60%, В₂ - 40-50%, В₆ - 25-50%, Е - 24-40% .

2. В печени козы, привезенной из зоны чрезвычайного радиационного риска витамина меньше на: В₁ - 0,106 мг, витамина В₂ - 0,011 мг, витамина В₆ - 0,02 мг, витамин Е - 0,15 мг, чем в печени козы, привезенной из зоны повышенного радиационного риска. В сердечной мышце, соответственно, витамина В₁ меньше на 0,03 мг, витамина В₂ на 0,002 мг, витамина В₆ на 0,05 мг. Витамин Е не обнаружено. В почках В₁ меньше на 0,15 мг, витамина В₆ - 0,04 мг, витамина В₂ на 0,002 мг больше, витамина Е не обнаружено.

Литература

1 С. Арынгазиев, Даулетбаев Б.С. и др. Инструкция Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан по бонитировке пуховых и шерстных коз с основами племенной работы, 2001. – С.1.

2 Дюсембаев С.Т., Серикова А.Т., Абылайхан А. и др. Разработать научные основы безопасности и ветеринарно-санитарной оценки продукции сельскохозяйственного животноводства, выращиваемых в зоне бывшего

Семипалатинского испытательного ядерного полигона и прилегающих к нему территориях // Отчет НИР. - 2012.

3 Справка по вопросу «Об охране здоровья и социальной защите населения, проживающего в зоне влияния бывшего Семипалатинского ядерного полигона» // Материалы слушаний, организованных Комитетом по экономической реформе и региональному развитию Мажилиса Парламента РК. - 2005. - С.2.

Сведения об авторах:

Габдуллина П.Б. – магистрант кафедры «Ветеринарной санитарии» СГУ им.Шакарима, г.Семей

Серикова А.Т. – и.о. профессора, к.в.н. кафедры «Ветеринарной санитарии» СГУ им.Шакарима, г.Семей

Дюсембаев С.Т. – профессор, д.в.н., руководитель испытательной региональной лаборатории инженерного профиля «Научный центр радиэкологических исследований»

Иминова Д.Е. – специалист испытательной региональной лаборатории инженерного профиля «Научный центр радиэкологических исследований»

Омаргалиева Н.К. – специалист испытательной региональной лаборатории инженерного профиля «Научный центр радиэкологических исследований»

Түйін

БҰРЫНҒЫ ССЯП ТӨТЕНШЕ ЖӘНЕ МАКСИМАЛДЫ РАДИАЦИЯЛЫҚ ҚАУІПТІ АЙМАҚТАРЫНДАҒЫ ЕШКІ ЕТІНІҢ ЖӘНЕ ОНЫҢ СОЙЫС ӨНІМДЕРІНІҢ ДӘРУМЕНДІК ҚҰРАМЫ

П.Б. Габдуллина, А.Т. Серікова, С.Т. Дүйсембаев,
Д.Е. Иминова, Н.К. Омаргалиева

Инженерлік бейінді аймақтық сынақ зертханасы
«Радиэкологиялық зерттеулердің ғылыми орталығы», Семей қаласы

Бұл мақалада бұрынғы ССЯП аймақтарындағы ешкі етінің және оның сойыс өнімдерінің дәрумендік құрамы келтірілген.

Кілттік сөздер: дәрумендер, Семей сынақ ядролық полигоны, радионуклидтер, төтенше радиациялық қауіпті аймақ, максималді радиациялық қауіпті аймақ

Summary

VITAMIN STRUCTURE OF THE GOAT'S MEAT AND THEIR OFFAL FROM THE RADIATION RISK OF THE FORMER SEMIPALATINSK PROVING NUCLEAR GROUND (SIYAP) EXTRAORDINARY AND INCREASED ZONES

Gabdullina P. B., Serikova A.T., Duyssembaev S.T., Iminova D.E.,
Omargalieva N.K.

Test regional laboratory of an engineering profile
“Scientific center of radioecological researches”, Semey

Researches are given in this article on the content of vitamins of a goat's meat and their offal from different zones of radiation risk of the former SIYAP.

Keywords: Vitamins, the Semipalatinsk proving nuclear ground, radionuclides, extraordinary zone of the radiation risk, the raised zone of radiation risk

УДК 619:616:615.371/372

ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ СКРЫТОГО МАСТИТА У КОРОВ

Ю.М. Горелов

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приводятся результаты профилактики и лечения скрытых форм мастита у коров, показана возможность применения препарата «Витамаст».

Ключевые слова: мастит, сухостойный период, секрет вымени, микрофлора, антибиотики

Введение Маститы у маточного поголовья сельскохозяйственных животных являются наиболее распространенной болезнью и обуславливаются как технологией содержания, доения животных, так и инфекционной патологией.

Ущерб, наносимый молочному животноводству маститом, приравнивается к общим экономическим потерям от всех незаразных болезней вместе взятых. Чаще всего маститом заболевают высокопродуктивные коровы. За период болезни и после клинического выздоровления натуральные потери молока на одну корову составляют в среднем 10 - 15 % годового удоя. У некоторых коров даже при успешном лечении прежние удои вообще не восстанавливаются из-за необратимых изменений тканей молочной железы. До 30% переболевших маститом коров

выбраковываются из-за атрофии четвертой вымени. В результате средняя продолжительность жизни коровы не превышает 5-ти лет, а продукцию от нее получают всего лишь 2 - 3,5 года. Следовательно, от каждой такой коровы недополучают минимум 3 - 4 теленка и удой молока за 3 - 4 лактации.

Данной проблеме посвящены научные труды А.И.Ивашура [1], В.Н.Карташевой, и др.[2], В.П.Гончарова и др.[3], А.П.Студенцова и др. [4]. Однако, до настоящего времени нет единого мнения по поводу этиологии и патогенеза мастита и эффективных способов его профилактики и лечения.

Взаимосвязь возникновения мастита с воспалительными процессами в других органах, особенно половой сферы, обусловлена их общими кровеносной и лимфатической системами, поэтому патогенная микрофлора чаще всего гематогенным и лимфогенным путями заносится в молочную железу А.И.Варганов и др. [5]. Наиболее часто маститы возникают на фоне переохлаждения и наличия эндометритов, болезней яичников, полиартритов, бурситов и других патологий, сопровождающихся присутствием гноеродной микрофлоры.

Существует две системы борьбы с маститом (Скандинавская и английская) в основе которых предусмотрена санация сосков после доения и паренхимы вымени в период запуска с применением антибиотиков. Селекционно-генетические меры борьбы широко применяют в Венгрии, Германии, Дании, Нидерландах и других странах. Созданы линии и семейства коров, устойчивых к маститу.

Изучение этиологии мастита в Республике Казахстан показало, что основными причинами возникновения мастита являются недостатки организационно-экономического, технологического, технического, селекционно-генетического и ветеринарно-санитарного характера.

Основным средством борьбы с маститом является препарат «Мастисан А, В» и антибиотики [6]. Для выбора наиболее благоприятного периода борьбы с маститом у коров, мы учитывали общие физиологические процессы, происходящие в молочной железе и в организме коров в течение года. Так, установлено, что на функцию молочной железы оказывают влияние изменения, происходящие в организме животных под влиянием неправильного и несбалансированного кормления в различные физиологические периоды перестройки функции молочной железы. Во время запуска в вымени возникает застой молока, вследствие сокращения числа доений и торможения секреции. В это время в крови обнаруживают лактозу, а в секрете вымени - сывороточный альбумин, усиливается фагоцитоз, снижается естественная сопротивляемость молочной железы и организма в целом на проникновение патогенных микроорганизмов, повышается возможность возникновения мастита. Во время сухостойного периода в вымени отмечается содержание небольшого количества секрета, он вязкий, медообразный и содержит большое количество лейкоцитов, которые препятствуют развитию инфекционного процесса. За 10 дней до отела, перед новой лактацией, снова происходит процесс перестройки функции молочной

железы. Секрет в вымени обогащается иммуноглобулинами, начинается секреция железы. В этот период, так же как и в период запуска, сопротивляемость вымени против возбудителей мастита снижается. Следовательно, наиболее резкие изменения в функции вымени происходят в период запуска, в первые и последние дни сухостоя, а также после отела-начала лактации.

В это время наиболее целесообразно проводить лечебно-профилактические мероприятия, так как применяемые лекарственные средства не попадают в продукцию животноводства - молоко.

Материалы и методы исследований Для профилактики и санации молочной железы в этот период, нами испытан новый лекарственный препарат «Витамаст» содержащий в составе противомикробные и противовоспалительные средства из экстрактов растений, минеральные соли и витамины.

Из числа животных, больных скрытым маститом было подобрано 4 группы по 5 коров в каждой. Из секрета больных долей вымени коров и молока до проведения опыта выделили стафилококки в монокультуре в 59%, в ассоциации со стрептококками в 32%, стрептококки в 7,2%. Животным первой и второй группы сразу после последнего доения перед сухостойным периодом в каждую долю вымени через молочный катетор вводили по 5 см³ (1-я гр.) и 10 см³ (2-я гр.) опытного препарата «Витамаст». Животным 3-ей группы «Витамаст» вводили по 5 см³, дважды - в период последнего доения и в конце сухостоя, за 10-15 дней до предполагаемого отела. Животные 4-й группы были контрольными.

Результаты и обсуждение Лучший терапевтический эффект отмечен в группе, где препарат вводили дважды в начале и конце сухостойного периода. Двукратное введение препарата способствовало купированию инфекции в период запуска и предупреждало инфицирование здоровых долей вымени патогенными микроорганизмами и появление новых случаев заболевания.

После отела у всех опытных животных не диагностировали мастит, из секрета вымени не выделяли патогенную микрофлору, таблица 1. Проба с «Кенатестом» на мастит была отрицательной, в контрольной группе, все пробы были положительны. Исследование молока и молозива на остаточные количества антимикробных средств показали, что интрацистерально безопасно применять препарат «Витамаст». При этом выздоровели коровы, болевшие маститом в начале опыта.

Таблица 1 – Результаты введения препарата «Витамаст» в сухостойный период коровам, больным скрытым маститом

Группа, схема опыта введения препарата	К началу опыта		После отела	
	Выделено культ	Больных маститом	Выделено культ.	Больных маститом

	Стаф.	Стреп.		Стаф.	Стреп.	
1 гр. «Витамаст», 5 см ³ , в начале сухостоя	$\frac{5}{8}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{5}{9}$	-	-	-
11 гр. «Витамаст», 10 см ³ в начале сухостоя	$\frac{4}{9}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{5}{10}$	-	-	-
111 гр. «Витамаст», по 5 см ³ в начале и в конце сухостоя	$\frac{5}{9}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{5}{10}$	-	-	-
1У гр. Контроль	$\frac{3}{7}$	$\frac{2}{3}$	$\frac{5}{10}$	$\frac{5}{8}$	$\frac{3}{4}$	$\frac{5}{10}$

Примечание: В каждой группе по 5 коров. Числитель-количество животных, знаменатель – четвертей вымени

Из результатов представленных в таблице видно, что препарат «Витамаст» оказывает лечебный эффект при введении больным маститам коровам в период запуска. За период сухостоя новых случаев заболевания маститом коров не отмечено, что указывает на профилактику мастита препаратом «Витамаст».

Заключение Препарат «Витамаст» эффективное средство для профилактики и лечения мастита у коров в период запуска и сухостоя.

Литература

1. Ивашура А.И. Патогенные свойства стафилококков выделенных из молока / Ветеринария,-1973.-№7,С. 102-103.
2. Карташева В.Н.,Ивашура А.И. Маститы коров.-М.:Агропромиздат, 1988.
3. Гончаров В.П., Карпов В.А., Якимчук И.Л. Профилактика и лечение маститов у животных.- Россельхозиздат, 1987.
4. Студенцов А.П.,Шипилов В.С. и др Ветеринарное акушерство, гинекология и биотехника размножения / 7-е изд.,перераб. и доп. под ред. В.Я.Никитина и М.Г.Миролубова.-М.: Колос, 2000.
5. А.И.Варганов и др. Ветеринария 2003.- №11.-С37-38;
6. А.В.Бойко, М.Н.Волкова «Маститы-комплексный подход к лечению и профилактике/ Ветеринария, 2003.-№ 11.-С.6-8

Сведения об авторе:

Горелов Ю.М. - доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Түйін

СИЫРДЫҢ ЖАСЫРЫН ЖЕЛІНСАУЫН ЕМДЕУ ЖӘНЕ АЛДЫН АЛУ

Ю.М.Горелов

«Қазақ ғылыми - зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада суалған сиырлардың желінсауын емдеуге және алдын алуға «Витамаст» дәрмегін қолданудың тиімділігі көрсетілген.

Кілттік сөздер: желінсау, суалған кезең, желін секреті, микрофлора, антибиотиктер

Summary

PREVENTION AND TREATMENT OF THE LATENT MASTITIS AT COWS

Y.M. Gorelov

«Kazakh scientific-research veterinary institute» LLP

Preparation "Vitamast" an effective remedy for prevention and mastitis treatment at cows during start and a dead wood.

Keywords: mastitis, sukhostoynny period, udder secret, microflora, antibiotics

УДК 619:615.3:618.7:636.2.083

РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА НОРМЫ И ПАТОЛОГИИ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ У КОРОВ

И.Т. Джакупов, Г.Т. Есжанова, А.Т. Кузурбаева, А.Е.Кабленова

Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина

Резюме В статье представлены результаты применения способа ранней диагностики нормы и патологии половых органов у коров. Разработаны диагностические критерии для тест-карты, позволяющей на 6-8-е сутки после родов по физико-химическим свойствам, бактериологическому исследованию слизи судить о состоянии половых органов.

Ключевые слова: коровы, субинволюция матки, эндометриты, диагностика.

Введение В процессе адаптации импортного скота у каждого третьего животного наблюдали родовые и послеродовые патологии, вызывающие нарушения воспроизводительной функции и приводящие к бесплодию [1-3]. Для диагностики родовых и послеродовых патологий используют клинические, биофизические, функциональные и лабораторные методы [4]. Диагностика основана на применении наружных и внутренних методов исследования половых органов и слизи, лабораторные методы - на исследованиях биологических жидкостей организма, биофизические - на использовании ультразвукового сканирования, функциональные методы - на применении простагландинов из группы F2α [5-7]. Однако многие из этих методов трудоемкие и дорогостоящие для применения в ветеринарной практике. В этой связи разработка ранних, быстрых и эффективных методов диагностики родовых и послеродовых патологий является актуальным.

Целью наших исследований - ранняя диагностика физиологического состояния и послеродовых патологий половых органов у коров

Материалы и методы исследований По результатам акушерско-гинекологического исследования были отобраны животные с физиологически нормальным отелом (n=10) и с послеродовой патологией: субинволюцией матки (n=10), острым послеродовым гнойно-катаральным эндометритом (n=10), катаральным эндометритом (n=10), послеродовым фибринозным эндометритом (n=10), послеродовым некротическим метритом, гангренозно-септическим метритом (n=10).

У этих животных изучали клиническими методами состояние половых органов, микробную обсемененность родовых путей, цвет, консистенцию биосубстрата на 1-4; 4-8; 8-14 дни после отела, а при патологии продолжали взятие слизи на 14-18; 18-22; 22-30 дни.

Материал переносили на специальные планшеты, получали однородную массу, фотографировали, с помощью пантома подбирали цвет, обрабатывали программами определения цвета HTML Colors 2000 и Corel DRAW 9 Graphic.

Результаты исследований Для диагностики нормы и патологии половых органов были изучены параметры топографии матки, физико-химические свойства слизи, микробная обсемененность половых путей после родов.

У коров с физиологически нормальными родами на 2-й день после отела, при наружном исследовании, цвет лохий красно-бурого цвета, густой консистенции у 90% животных. Среднее количество микробов в 1 мл содержимого матки, составило $20\ 900 \pm 33$ и было в 10-13,5 раз меньше, чем у коров, впоследствии, заболевших эндометритом ($283\ 125 \pm 45,5$).

При вагинальном исследовании шейка матки открыта на проходимость 2-3 пальцев, слизистая оболочка влагалища отечна, гиперемирована, при ректальном исследовании стенка матки утолщенная. На 3-5-й день в канале шейки матки образовалась слизистая пробка. На 6-8-й день после отела цвет лохий светло-коричневого цвета (60%), шейка матки раскрыта минимально,

при ректальном исследовании обнаруживается уменьшение матки в объеме и утончение ее стенок. На 10-11-е сутки после отела цвет слизи прозрачный, бесцветный. При вагинальном исследовании шейка матки закрыта, слизистая влагалища слабо-розового цвета. Ректальное исследование показало сокращение маточных связок, мышц шейки матки и самой матки в три раза, с объемом в голову ребенка. На 14-15-е сутки после отела выделение слизи отсутствует, канал шейки матки закрыт, матка уменьшена в объеме, появляется ригидность. У животных с нормальным течением инволюционных процессов наблюдается уменьшение микробной обсемененности маточной слизи и при их завершении она составляет у 66,6% коров - $55000 \pm 15,5$ микробных клеток в 1 мл слизи. Из 9 проб маточной слизи, полученной у животных после клинически нормальных родов в разные сроки после отела, в 8 пробах (88,9%) выделены 8 микробных культур. В том числе, в 21,4% случаях установлены стафилококки, 7,1% - стрептококки, 21,4% - кишечная палочка, 14,3% протей, 7,1% - энтеробактерии, 28,6% - энтерококки.

При проведении исследования в программе HTML Colors 2000 определен красновато-коричневый с оттенком кофейного цвета (бурый). На 6-9 день после отела у 60% цвет светло-коричневый, а у остальных 40% - красновато-коричневого цвета. На 10-11-е сутки после отела цвет слизи прозрачный, бесцветным был у 70% животных, у отдельных животных слизь мутная или бесцветная; программа HTML Colors 2000 не показало цвет.

У животных с субинволюцией матки лохии остаются красно-бурыми, темно-коричневыми, жидкими кровянистыми в течении 15-21 дней, у отдельных животных выделения становились густоватыми и сохранялись в течение месяца.

По данным Студенцова А.П., Шипилова В.С., Никитина В.Я.(2000), Полянцева Н.И., Подберезного В.В. (2004) цвет лохий при субинволюции матки на 3-15 сутки после родов бывает красно-бурым, темно-красным. На 16-21 сутки буро-красного, темно-бурого цвета соответственно

В наших исследованиях у 75-81,4% коров лохии красно-бурого, красновато-коричневого цвета, а жидкие кровянистые выделения наблюдаются на 3-15 дни послеродового периода, затем консистенция их сгущается. При обработке материала в программе HTML Colors 2000 на 3-15 день после родов цвет биосубстрата был красновато-коричневым с оттенком кофейного, на 16-21- красновато-коричневого, а 22-30-е дни-бурым.

У коров, заболевших эндометритом, наибольший процент ассоциированных форм микробов (44,4%), стрептококков, стафилококков, кишечных палочек, протеи. Исследование цвета и консистенции слизи при метритах показывает, что экссудат при гнойно-катаральном эндометрите на 8-й- 10-й день серо-бурого цвета, жидкий, при катаральном эндометрите -на 14-й день желтый с белыми хлопьями, а при фибринозном эндометрите-желто-бурого цвета, содержащий хлопья фибрина плотной консистенции.

При катаральном и гнойно-катаральном эндометрите в первые два дня после родов лохии были красно-бурого или светло-красного цвета, так же как и при нормальных родах. Но уже на 8-10-е сутки после отела у 80% коров лохии приобретали серо-бурый цвет, что указывает на гнойно-катаральное воспаление, у 20% животных серо-бурый цвет лохий сохранялся на 11-14-е сутки после родов (табл.1).

Таблица 1- Результаты исследования физико-химических свойств слизи при различных формах послеродового эндометрита у коров

Формы эндометрита	Цвет, консистенция и запах биосубстрата после родов, дни		
	1-2	6-8	9-14
Катаральный	красно-бурый, жидкая	желто-белый, жидкая	желтый, жидкая с белыми хлопьями
Гнойно-катаральный	светло-красный жидкая	серо-бурый, жидкая	серо-бурый, жидкая
Фибринозный	красно-бурый жидкая	желто-бурый, жидкая с хлопьями фибрина	
Некротический	красно-бурый	красно-бурый, с крошками мертвых клеток, зловонный	
Гангренозный	красно-бурый	буро-красный, черный, кашицеобразный, зловонный	

У коров, заболевших послеродовым гнойно-катаральным эндометритом, на 7-8 сутки после отела количество микробов в экссудате матки было высоким- $283125 \pm 45,5$ микробных клеток в 1 мл слизи. Тогда как, у животных с нормальным течением инволюционных процессов наблюдается уменьшение микробной обсемененности маточной слизи у 66,6% коров - $55000 \pm 15,5$ микробных клеток в 1 мл слизи.

При некротическом метрите–экссудат красно-бурого цвета со зловонным запахом и крошкообразными некротическими массами, при послеродовом гангренозном септическом метрите – экссудат на 6-й – 8-й день красно-бурого, почти черного цвета с примесью кашицеобразных масс из распавшихся тканей со зловонным запахом.

Полученные результаты позволили разработать диагностические критерии по физико-химическим свойствам биосубстрата в физиологические периоды и при патологических процессах в половых органах.

Из них подготовлены эталоны, которые послужили основой для составления тест-карты, определяющей физиологическое состояние и патологии в половых органах. В тест-карту помещены цвета биосубстрата, дни ретракции половых органов при нормальной инволюции, при субинволюции и цвета биосубстрата с указанием сроков проявления форм эндометритов.

Нанесенные в лунку тест - карты пробы маточных выделений объемом 1 мл, позволяют диагностировать на 6-8-е сутки после родов по физико-химическим свойствам (цвету, консистенции) биосубстрата состояние половых органов у коров.

Заключение Изучение физико-химических свойств слизи, ее бактериологическое исследование, позволяет диагностировать послеродовые патологии на 6-8 дни после отела, использование тест-карты с размещенными в ней днями инволюции половых органов с цветовыми эталонами, цветовые эталоны слизи с указанием сроков проявления форм эндометритов, позволяют диагностировать на 6-14 сутки после родов завершение выделений лохий при физиологическом состоянии, субинволюцию матки, формы эндометритов.

Литература

1. Трухачев В.И., Никитин В.Я., Михайлюк В.М., Белугин Н.В. Бесплодие импортных коров.// Ветеринария. 2007. №7. С. 40-42.
2. Михалев В.И., Мисайлов В.Д., Суйлеманов М.Д. и др. Инволюция и субинволюция матки у коров // Ветеринария. 2007. №11. С. 29-33.
3. Джакупов И.Т. Факторы, снижающие воспроизводительную функцию коров импортных пород в условиях Северного Казахстана.// «Проблемы и перспективы обеспечения ветеринарной безопасности животноводства в РК». Алматы, 2013 . С.53-58
4. Еремин С. П. Методы ранней диагностики патологий органов размножения у коров // Ветеринария. 2004. №4. С. 38,39.
5. Кузьмич Р.Г. Влияние сократительной функции матки на послеродовой эндометрит у коров. // Ветеринария. 2000. № 4. С. 37,38.
6. Панков Б.Г. Устройство для диагностики нормы и патологии в половых органов у коров.// Вестник РАСХН. 2003.№3. С 87,88

Сведения об авторах:

Джакупов Исатай Тусупович - доктор ветеринарных наук, профессор кафедры «Ветеринарная медицина», Казахский агротехнический университет им.С.Сейфуллина, г.Астана. e-mail: Dzhakupov@mail.ru

Есжанова Гульжан Турсуновна - кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры «Ветеринарная медицина», Казахский агротехнический университет им.С.Сейфуллина, г.Астана. e-mail: eszhanova_astana@mail.ru

Кузурбаева Айсулу Турмахамбетовна - докторант кафедры «Ветеринарная медицина», Казахский агротехнический университет им.С.Сейфуллина, г.Астана. e-mail: aisulu_171287@mail.ru

Кабленова Айнаш Ералиновна - магистрант кафедры «Ветеринарная медицина», Казахский агротехнический университет им.С.Сейфуллина, г. Астана

Түйін

СИЫРЛАРДЫҢ ЖЫҢЫС АҒЗАЛАРЫНЫҢ ЖАЙ-КҮЙІ МЕН ПАТОЛОГИЯЛЫҚ ЖАҒДАЙЫН ЕРТЕ ДАУАЛАУ

Жақыпов И.Т., Есжанова Г.Т., Күзербаева А.Т., Қабленова А.Е.

С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті, Астана

Ұсынып отырған сиырлардың физиологиялық жай-күйі мен жыныс органдарының патологияларын диагностикалау әдісіне тест-картадан және онда келтірілген түрлі-түсті эталонды жыныс органдарының инволюциясы күндері, инволюция сатыларының ұзару күндері, эндометрит түрлерінің бой алу мерзімдері көрсетілетін түрлі-түсті шырыштық эталондар төлдеуден кейінгі патологияларды бұзаулағаннан кейінгі 6-шы тәуліктен бастап, физиологиялық жағдайларда лохийлер бөлінуінің аяқталуын, жатыр субинволюциясын, эндометрит түрлерін диагностикалау мүмкіндігін береді.

Кілттік сөздер: сиырлар, жатырдың субинволюциясы, эндометриттер, дауалау

Summary

EARLY DIAGNOSTICS OF NORMAL AND PATHOLOGICAL ORGANS AT COWS

Dzhakupov I.T., Yeszhanova G.T., Kuzerbayeva A.T., Kablenova A.E.

Kazakh Agrotechnical University named after S.Seifullin

The article deals with the problems of occurrence of obstetric and gynecological pathologies in cows. The analysis of the factors influencing the acclimatization of animals. Developed test-cards with coloured slime standard makes possible to diagnose completion of secretion of lokhiya since the 6-th day after the delivery in physiological condition, uterus subinvolution, forms of endometritis

Keywords: cows, subinvolution of uterus, endometritis, diagnostics

ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ РОДА SALMONELLA

А.Т. Даугалиева

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье описываются преимущества применения ПЦР-РВ для обнаружения возбудителя рода *Salmonella* в сравнении с классическим методом ПЦР

Ключевые слова: ПЦР-РВ, сальмонеллез

Введение В настоящее время в практику лабораторий внедряется новая технология ПЦР — полимеразная цепная реакция в реальном времени (ПЦР-РВ). Ее принципиальной особенностью является мониторинг и количественный анализ накопления продуктов ПЦР, а также автоматическая регистрация и интерпретация полученных результатов. Этот метод не требует стадии электрофореза. Благодаря экономии производственных площадей, уменьшению количества персонала и востребованности количественного определения ДНК/РНК этот метод в последние годы успешно применяется в крупнейших диагностических и научно-исследовательских центрах развитых стран мира, замещая ПЦР в ее классическом формате [1,2]. ПЦР в реальном времени позволяет провести анализ пробы в течение 20-60 мин и теоретически способен детектировать даже одну молекулу ДНК или РНК в пробе [3]. Существенное уменьшение количества манипуляций с исследуемым образцом сокращает затраты времени, упрощает анализ и позволяет снизить вероятность ошибок. За счет того, что детекция продуктов амплификации проходит в закрытой пробирке, практически полностью исключается загрязнение ампликонами рабочих помещений, риск получения ложнопозитивных результатов сводится к абсолютному минимуму, что при массовом характере анализов, при использовании обычной ПЦР, удается добиться далеко не всегда. Это существенно упрощает требования к организации лаборатории [4].

ПЦР в режиме реального времени — вариант полимеразной цепной реакции, при котором непрерывно регистрируется кинетика реакции, что позволяет количественно оценивать содержание нуклеотидных последовательностей ДНК в смеси молекул. Первый вариант этого метода был предложен П. Холландом с соавт. в 1991 г. (метод «TaqMan») [5]. Согласно протоколу в реакционную смесь кроме двух праймеров добавляются олигонуклеотидный зонд, меченный по 5'-концу флуорофором и содержащий в 3'-части глушитель флуоресценции, который отжигается в каждом цикле реакции (комплементарно соединяется с ДНК) с центральным

участком ампликона между двумя праймерами. Сам зонд не используется в качестве праймера, поскольку 3'-концевая гидроксильная группа блокирована ортофосфатом. Когда флуорофор и тушитель связаны с олигонуклеотидным зондом, наблюдается лишь незначительная флуоресцентная эмиссия. В ходе реакции термостабильная Taq-полимераза за счет своей 5'-экзонуклеазной активности отщепляет 5'-концевой нуклеотид зонда, меченный флуорофором и флуоресцентная метка переходит в раствор, освобождаясь от соседства с тушителем и генерирует флуоресцентный сигнал, усиливающийся в реальном времени пропорционально накоплению ампликата [6]. Чем выше концентрация амплифицируемой нуклеотидной последовательности в реакционной смеси, тем меньше требуется количество циклов для того, чтобы интенсивность флуоресценции освободившегося флуорофора в пробе превысила базальный уровень свободного зонда с глушителем. С этого момента (порог числа циклов) появляется возможность наблюдать за кинетикой реального накопления флуорофора в реакционной смеси [7].

Материалы и методы исследований ДНК выделяли из 9 коллекционных грамотрицательных штаммов КазНИВИ *Salmonella spp* (choleraesuis, enteritidis, typhimurium 27, typhimurium ВГНКИ, abortus-ovis 17 NS, dublin 13-20 NS, abortus-equi 7/1, abortus-ovis АН 9/1, abortus-equi контрольный) набором «PureLink Genomic DNA Kits» (фирмы *Invitrogen*).

Идентификацию возбудителя сальмонеллеза до рода *Salmonella* проводили при помощи ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ), используя набор реагентов фирмы Синтол. Режим амплификации включал в себя следующие температурно-временные параметры: первый цикл - 94° С – 5 минут; второй цикл, повторяющийся 45 раз : 94° С –15 секунд и 60° С –40 секунд. ПЦР-РВ выполняли на амплификаторе АВІ 7500.

Результаты и обсуждение В результате проведения ПЦР – РВ были получены результаты, представленные в таблице 1.

Таблица 1- Результаты исследования штаммов в ПЦР – РВ

№ п/п	Штамм	Род <i>Salmonella</i>
1	<i>Salmonella choleraesuis</i> TS-177	HEX -32,99
2	<i>Salmonella enteritidis</i>	HEX -31,43
3	<i>Salmonella typhimurium</i> St 27, от теленка	HEX - 14,83
4	<i>Salmonella typhimurium</i> ВГНКИ	HEX -15,18
5	<i>Salmonella abortus –ovis</i> 17 NS	HEX -15,34
6	<i>Salmonella dublin</i> 13-20 NS	HEX - 15,48
7	<i>Salmonella abortus –equi</i> 7/1 (эпизоотический)	HEX -18,44
8	<i>Salmonella abortus –ovis</i> АН 9/1(эпизоотический)	HEX -30,98
9	<i>Salmonella abortus-equi</i> (контр)	HEX -14,85

Таким образом, как видно из таблицы 1, продукты амплификации с 3 по 5 и № 9 принадлежат роду *Salmonella* .

Кривые амплификации, полученные с помощью ПЦР в режиме реального времени изображены на рисунке 1.

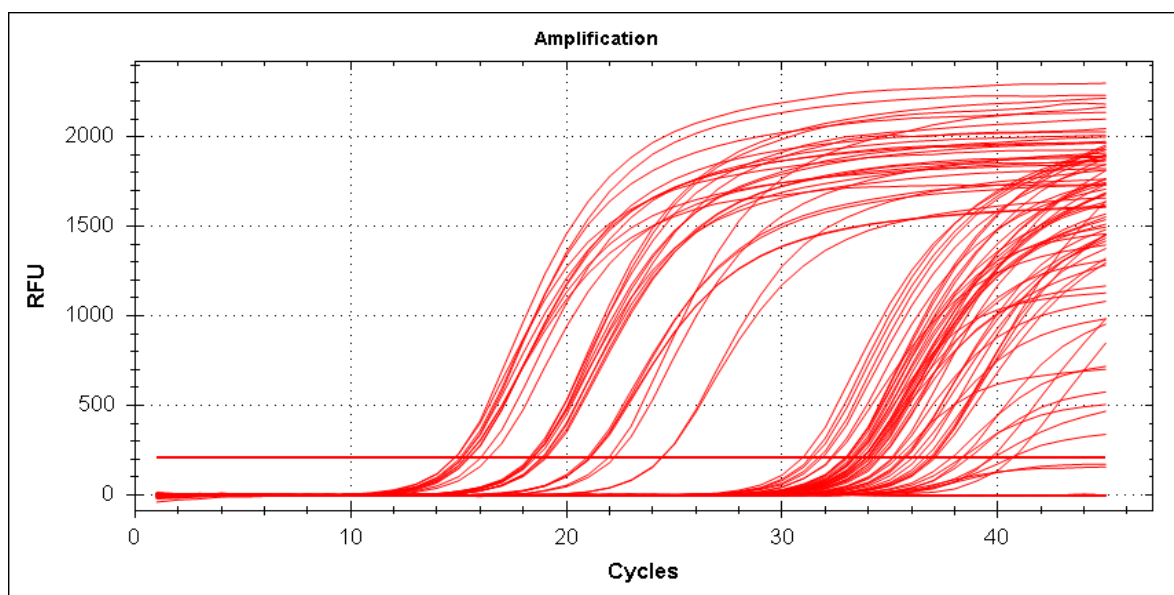


Рисунок 1 – канал детекции R6G

Из рисунка 1 следует, что рост флуоресценции по каналу детекции R6G, свидетельствует о присутствии ДНК представителей рода *Salmonella spp.* в образце.

Кривые амплификации внутреннего положительного контроля ПЦР в режиме реального времени показаны на рисунке 2.

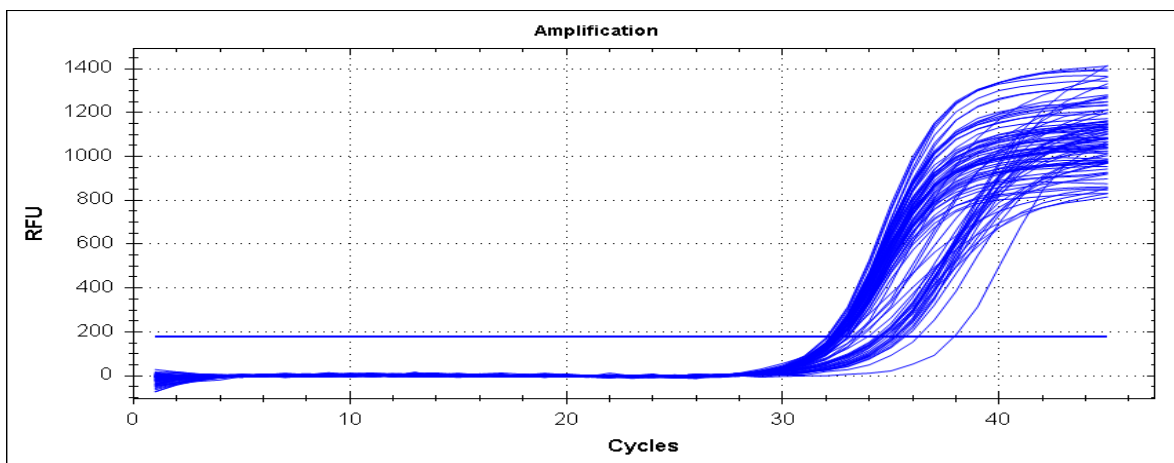


Рисунок 2 – канал детекции SY5

Из рисунка 2 следует, что рост флуоресценции по каналу детекции SY5, является внутренним положительным контролем прохождения реакции в смеси и качества выделения ДНК из образца. Рост флуоресценции по этому каналу в отсутствии роста по каналам FAM/ R6G свидетельствует об отсутствии ДНК патогенов в выделенных образцах.

Заклучение В результате проведенных исследований было установлено, что 6 штаммов из 9 подтвердили свою родовую принадлежность (*S. typhimurium* 27, *typhimurium* ВГНКИ, *abortus-ovis* 17 NS, *dublin* 13-20 NS, *abortus-equi* 7/1, *abortus-equi* контрольный). В последнее время метод ПЦР в режиме реального метода является более востребованным в лабораторной практике по сравнению с классической ПЦР. Поскольку регистрация результатов проводится непосредственно в процессе ПЦР, весь анализ можно проводить в 1-2 комнатах, и нет необходимости в отдельном помещении для детекции продуктов амплификации и соответствующем персонале. Кроме этого флуоресцентная детекция продуктов ПЦР в пробирке в 2-3 раза чувствительнее электрофорезной. Использование математических методов анализа позволяет проводить автоматическую интерпретацию полученных результатов и снимает проблему субъективной оценки электрофореграмм. Подводя итоги, стоит отметить следующее: использование ДНК-зондов является наиболее предпочтительным в свете повышения специфичности анализа.

Литература

- 1 VanGuilder HD, Vrana KE, Freeman WM. «Twenty-five years of quantitative PCR for gene expression analysis». *Biotechniques* – 2008- 44: 619–626.
- 2 Nolan T, Hands RE, Bustin SA. «Quantification of mRNA using real-time RT-PCR.» *Nat. Protoc.* – 2006-1: 1559–1582.
- 3 Higuchi R. // *Biotechnology*. -1993- № 11. P. 1026–1030.
- 4 Mackay I.M. // *Nucleic Acids Research*. -2002- V. 30, № 6. P. 1292–1305.
- 5 Bustin S.A. // *Expert Rev. Mol. Diagn.* -2005- V. 5, № 4. P. 493–498.
- 6 Rebrikov D.V., Trofimov D.Y. // *Appl. Biochem. Microbiol.* 2006- V. 42, № 5. P. 455–463.
- 7 Hoorfar J. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2004- V. 42, № 5. P. 1863–1868.

Сведения об авторе:

А.Т. Даугалиева– кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Түйін

**SALMONELLA ТҮҚЫМЫНЫҢ ҚОЗДЫРҒЫШЫН АНЫҚТАУ ҮШІН
ОСЫ УАҚЫТТАҒЫ ПОЛИМЕРАЗДЫ ТІЗБЕКТІ РЕАКЦИЯ
А.Т. Дауғалиева**

ЖШС «Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты»

Мақалада сальмонеллез туысы қоздырғышын табуға арналған классикалық ПТР әдісімен салыстырғандағы ПТР-НУ (нақты уақыт) қолданғандағы артықшылығы көрсетілген.

Кілттік сөздер: ПТР-НУ, сальмонеллез

Summary

REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION FOR DETECTION OF PATHOGENS GENUS SALMONELLA

A.T. Daugaliyeva

Kazakh Scientists Research Veterinary Institute

This paper describes the advantages of using RT-PCR for the detection of Salmonella pathogen in comparison to the classical method of PCR.

Keywords: PCR-RT, salmonellosis

УДК 619:616-07.616.981.42.636.7

РАЗРАБОТКА ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ТЕСТОВ ПРИ БРУЦЕЛЛЕЗЕ СОБАК, ВЫЗЫВАЕМЫМ В.CANIS

Л.В. Дегтяренко

Государственное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных»
Российской академии сельскохозяйственных наук

Резюме В статье представлены результаты разработки РА, РСК, РНГА, РИФ при бруцеллезе собак, вызываемом *V.canis*. В экстремальных и производственных условиях на собаках установлена специфичность и высокая чувствительность изготовленных диагностикумов.

Ключевые слова: бруцеллез, собака, возбудитель болезни, диагностикумы

Введение Бруцеллез собак, вызываемый *V. canis*, впервые был установлен в США L.E. Carmichael в 1968 году, который изолировал возбудителя от собаки породы бигль и идентифицировал его как *V.canis*.

Впоследствии в результате разработки средств диагностики инфекцию регистрировали во многих странах мира. В России возбудителя бруцеллеза

собак *B.canis* впервые выделили в 1994 году, идентифицировали его в 1996 году [2].

Бруцеллез собак наносит значительный экономический ущерб собаководству, который складывается из потери воспроизводительной функции кобелей, аборт у сук, рождения нежизнеспособных щенков и выбраковки, ценных в племенном отношении животных.

Заболевание имеет эпидемиологическое значение, относится к зооантропонозам (6-ой доклад экспертов по бруцеллезу FAO/ВОЗ, 1986).

Источником инфекции являются зараженные *B.canis* собаки. Как возбудители бруцеллеза других видов животных, *B.canis* инфицирует восприимчивых собак через поверхность слизистых оболочек ротовой полости, влагалища и конъюнктивы. Основные пути передачи возбудителя – половой и алиментарный [3].

Главными признаками бруцеллезной инфекции являются аборты, проявляющиеся обычно между 45-55 днями щенности, рождение нежизнеспособного потомства и мертвых щенков. В дальнейшем у сук могут наблюдаться эндометриты, бесплодие. Важной отличительной особенностью возбудителя *B.canis* от бруцелл других видов является способность вызывать длительную бактериемию (до двух и более лет), что позволяет прижизненно диагностировать возбудителя бактериологическим методом.

С помощью клинического метода диагностики можно лишь предварительно ориентироваться при постановке диагноза на данную инфекцию. Основными методами диагностики на бруцеллез собак, вызываемый *B.canis*, являются серологический, бактериологический, генетический.

За рубежом серологическая диагностика бруцеллеза собак разработана достаточно основательно (РА, РДП, ИФА, РСК, РПГА и др.), в России ветеринарная практика официальными диагностикумами к началу наших исследований не располагала.

Наряду с необходимостью разработки диагностикумов для РА и РСК, мы считали актуальным сконструировать R-бруцеллезный эритроцитарный диагностикум, так как РНГА относится к экспресс-тестам и сведений о ее возможности использования при бруцеллезе собак, вызываемым *B.canis*, в доступной литературе не обнаружили.

Цель исследования: разработка средств и методов, позволяющих выявлять антитела к *B. canis* в сыворотке крови собак, а также бруцеллоносительство в организме инфицированных животных.

Материалы и методы исследований В лаборатории диагностики бруцеллеза ВНИИБТЖ сконструировали цветные антигены из бруцелл вида *canis* и *abortus* (R-форма) для РА пластинчатой, пробирочной. В РСК применяли антигены из R-формы *B.canis* и *B.abortus*, полученные нами фенольным способом.

Для РНГА сконструировали R-бруцеллезный эритроцитарный диагностикум на основе сенситина, извлеченного химическим методом из бактериальной массы штамма *B. abortus* 16/4 в стабильной R-форме [4].

С целью обнаружения возбудителя бруцеллеза собак *B. canis* в различных биологических объектах совместно с ИЭМ им. Н.Ф. Гамалея были разработаны R-бруцеллезные люминесцирующие иммуноглобулины для реакции иммунофлуоресценции (РИФ).

Кроме того, для прижизненной диагностики *B. canis* в кровяном русле собак разработали метод, который позволяет прижизненно обнаруживать возбудителя бруцеллеза в крови при помощи реакции иммунофлуоресценции с R-бруцеллезными люминесцирующими иммуноглобулинами.

Учитывая, что бактериемия у собак, инфицированных *B. canis* длительная, метод прижизненного выделения гемокультур, является эффективным с использованием 2-х фазных сред (например, среда Кастанеда).

Специфичность опытных диагностикумов для РА (пробирочный, пластинчатый) и РСК изучали при исследовании 567 проб сыворотки крови, РНГА – при исследовании 53 проб сыворотки крови от условно здоровых собак г. Омска. Положительно реагирующими в РА считали животных при наличии агглютинации в разведении сыворотки крови 1:100 и выше, РНГА – 1:50 и выше, РСК – 1:5 и выше.

Чувствительность антигенов первоначально испытывали в эксперименте на 8-и беспородных собаках, которые инфицировали эпизоотическим штаммом *B. canis* 2-99 в дозе 500 тыс. м.к.

У всех искусственно зараженных собак на протяжении эксперимента (срок наблюдения – 154 дня) в сыворотке крови определяли специфические агглютинирующие, гемагглютинирующие и комплементсвязывающие антитела к *B. canis*, в разные сроки исследований их титр составлял у отдельных животных в РА 1:400 – 1:800, РНГА – 1:600 – 1:3200, РСК – 1:80.

Специфичность испытуемых диагностикумов подтверждена выделением во все сроки исследований от 100,0% инфицированных собак гемокультур заражающего штамма *B. canis* 2-99.

Установлено, что сконструированные антигены при бруцеллезе собак для РА, РНГА, РСК обладают равнозначной чувствительностью, так как с их помощью удавалось выявить агглютинирующие, гемагглютинирующие и комплементсвязывающие антитела у 100,0% опытных животных.

При изучении диагностической ценности новых антигенов для РА и РСК в производственных условиях выявлено 34 (5,9 %) положительно реагирующие городские собаки разных пород, причем у отдельных животных уровень агглютинирующих антител в сыворотке крови составлял – 1:400, комплементсвязывающих – 1:80. У всех собак отмечали клинические признаки, характерные для бруцеллезной инфекции. По результатам серологических, бактериологических исследований, с учетом данных

клинического обследования эти животные были признаны больными бруцеллезом.

Важно отметить, что из общего числа городских собак, реагирующих в испытываемых тестах, прижизненно бруцеллоносительство установлено у 16-и (47,1 %), от остальных выделить возбудителя *B. canis* из крови не удалось, так как большинство из них до постановки диагноза на бруцеллез подвергали лечению антибиотиками.

При производственном испытании РНГА с R-бруцеллезным эритроцитарным диагностикумом установлено, что показатели реакции непрямой гемагглютинации не уступают в чувствительности РА пробирочной с R-бруцеллезным и каниным антигенами при диагностике бруцеллеза у собак, инфицированных *B. canis*.

Использование антигенов для РА и РСК из бруцелл вида *B. canis* и R-формы *B. abortus* при обследовании собак на бруцеллез показало, что антигены из этих видов бруцелл диагностировали равное количество серопозитивных животных, что подтверждает антигенное родство возбудителя *B. canis* и R-формы *B. abortus*.

Испытание диагностической ценности РИФ с R-бруцеллезными люминесцирующими иммуноглобулинами проводили в сравнении с бактериологическим методом при исследовании крови собак, инфицированных *B. canis*.

Опыт на собаках, инфицированных эпизоотическим штаммом *B. canis* показал, что эффективность обнаружения антигена в крови обоими методами составляла 100,0 %.

Бруцеллоносительство у собак с позитивными показаниями РИФ подтверждено в 100,0 % случаев бактериологическим методом с выделением гемокультур бактерий, идентифицированных как *B. canis* по методикам ФАО-ВОЗ.

Результаты и обсуждение Таким образом, экспериментальные и производственные испытания изготовленных диагностикумов для РА, РНГА, РСК показали, что они специфичны и обладают высокой чувствительностью при бруцеллезе собак, вызываемом *B. canis*.

Существенной разницы в диагностической ценности антигенов, извлеченных из бруцелл вида *canis* и R-формы *B. abortus*, не установлено. В этой связи, для оценки эпизоотического статуса собак на бруцеллез, возможно использовать диагностикумы, приготовленные из стабильных R-форм бруцелл вида *abortus*, имеющих выраженное антигенное родство с возбудителем *B. canis*, но менее вирулентных для людей при производстве препаратов.

РИФ по чувствительности не уступает бактериологическому методу диагностики при бруцеллезе собак, вызываемом *B. canis*, и превосходит последний по срокам постановки диагноза и экономичности. Метод обнаружения возбудителя *B. canis* в кровяном русле животных при помощи реакции иммунофлуоресценции перспективен для дальнейшего

использования, так как прост по технике выполнения, относится к экспресс-методам диагностики и достаточно эффективен.

Литература

1. Carmichael L.E. Canis abortus caused by Brucella canis/ L.E. Carmichael, R.M. Kenney// JAVMA. – 1968. -152. – P. 605-616
2. Шумилов К.В. Случай выделения бруцеллеза собак в России/ К.В, Шумилов, В.В. Калмыков, Ю.М. Михайлова с соавт.// Ветеринария. – 1996. - № 5. – С. 55-59
3. Carmichael L.E. Problems in the serodiagnosis of canine brucellosis^ dog responses to cell wall and internal antigens of/L.E. Carmichael, S.J. Zoha, Flores-Castro// Develop. Biol. Standart. – 1985. – V. 56. – P. 371-373
4. Пат. 2491553 Российская Федерация, МПК G01N 33/569 Способ изготовления R-бруцеллезного эритроцитарного антигена для реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) / М.Ю. Карлова, Л.В. Дегтяренко; заявитель и патентообладатель: Всерос. науч. ин-т бруцеллеза и туберкулеза животных. № 2011140108/15; заявл. 03.10.2011; опубл. 27/08/2013. Бюл. №24

Сведения об авторе:

Дегтяренко Л.В. – доктор ветеринарных наук, завелующая сектором диагностики бруцеллеза ГНУ ВНИИБТЖ Россельхозакадемии, г. Омск

Түйін

В.САНИС СЕБЕПШІСІ БОЛАТЫН ИТ БРУЦЕЛЛЕЗІНДЕ БАЛАУЛЫҚ ТЕСТТЕРДІ ЖАСАУ

Л.В. Дегтяренко

«Мал бруцеллезі мен туберкулезінің Бүкілресейлік ғылыми – зерттеу институты» Ресей ауылшаруашылық ғылымдарының академиясының мемлекеттік ғылыми мекемесі

Мақалада В.САНИС себепшісі болатын ит бруцеллезінде АР, КБР, ТЕГАР, ИФР реакцияларын қоюдың нәтижелері келтерілген. Осы диагностикалардың жоғары сезімталдығы және өзіне тәнділігі экстремалды және өндірістік жағдайда иттерде анықталды.

Кілттік сөздер: бруцеллез, ит, ауру қоздырғышы, диагностикалар

Summary

THE DEVELOPMENT OF DIAGNOSTIC TESTS WITH DOGS BRUCELLOSIS CAUSES B.CANIS

L.V. Degtyarenko

State scientific institution All-Russian Research Institute of brucellosis and tuberculosis of animals the Russian Academy of agricultural sciences

In the article there are presented the results of the RA, CFT, IHT, RIF with brucellosis dogs causes B.canis. There was set specificity and high sensitivity manufactured diagnostic kits in extreme conditions and production conditions on dogs.

Keywords: brucellosis, dog, infectious agent of the disease, diagnostic

УДК 619:616.995.1411

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТГЕЛЬМИНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ СОЧЕТАННЫХ ИНВАЗИЯХ ОВЕЦ

Н.М. Джусупбекова, М.Ж. Сулейменов

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приведены данные проведенных опытов по распространению гельминтозов овец в Алматинской области, а также данные по изучению провогельминтозных мероприятий.

Ключевые слова: гельминтозы, стронгилятоз, мониезиоз, фасциолез, препарат

Введение Основными задачами овцеводства на сегодняшний день является увеличение овцепоголовья, повышение продуктивности животных и качества продукции (мясо, молоко, шерсти и т.д.), а также снижение ее себестоимости. Достижение этих задач во многом зависит от правильного выращивания и содержания овец. Также большое значение имеет комплекс профилактических и лечебных мероприятий, направленных на ликвидацию болезней различной этиологии, в том числе гельминтозов.

Среди паразитарных болезней овец на территории Алматинской области Казахстана наиболее распространены такие гельминтозы, как стронгилятоз, фасциолез, мониезиоз и т.д. Чаще всего гельминтозы овец встречаются в виде ассоциативной инвазии [1,2,3,4].

Целью нашего исследования явилось изучить эффективность антгельминтных препаратов при смешанных гельминтозах на территории Алматинской области.

Материалы и методы исследований Изучение распространенности гельминтозов и изучение антигельминтной эффективности ЛПС проводили в К/Х «Мынбаев» и «Алдияр» Илийского района, Алматинской области, в мае месяце 2014 г. Объекту исследований были подвергнуты овцы разных половозрастных групп от 1 до 2 лет в количестве 42 голов.

Копрологические исследования проводили по методу Фюллеборна, Дарлинга, а также проведено неполное гельминтологическое вскрытие овец. ИИ и ЭИ устанавливали по результатам копрологических исследований до и после дачи ЛПС, через 5, 10 и 15 дней после дегельминтизации.

В каждом к/х («Мынбаева» и «Алдияр») по принципу аналогов были сформированы 3 группы животных, из которых одна группа контрольная и две группы подопытные. Овцы контрольной группы препарат не получали. В период и после дегельминтизации проводили клинический осмотр животных.

Все животные получали одинаковый рацион и содержались в равных условиях. Инвазированным животным первой подопытной группы (7 голов) задавали минерал каолинит с антгельминтным препаратом «Альбендазол 200» 1 раз с кормом 0,5 мг/на 10кг. Его вводили однократно, групповым способом, в смеси с небольшим количеством комбикорма. Зараженным овцам второй подопытной группы (7 голов) задавали лечебно-профилактическое средство 1,0 гр/на 10кг (альбендазол, оксиклозанид, бентонит, медный купорос, хлорид кобальта).

Результаты и обсуждение В результате исследования в К/Х «Мынбаева», от общего числа обследованных животных n=14 голов овец, было инвазировано гельминтозами 85,7 %. Овцы были заражены моноинвазией: стронгилятами (5 гол), мониезиями (3 гол), фасциолами (6 гол) и виде смешанных инвазией (10 гол). Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Эпизоотическая ситуация по гельминтозам овец

Название	Моноин-вазия	стронгилятоз	мониезиоз	фасциолез	Смешанная инвазия
к/х «Мынбаева»	21,4 %	14,2%	21,4%	42,8%	71,4%

В К/Х «Алдияр», от общего числа обследованных животных n=14 голов овец было инвазировано гельминтозами 64,2 %, в том числе в виде моноинвазии: стронгилятами (3 гол), мониезиями (4 гол), фасциолами (5 гол) и виде смешанной инвазии (10 гол). Данные представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Эпизоотическая ситуация по гельминтозам овец

Название	Моноин-вазия	стронгилятоз	мониезиоз	фасциолез	Смешанная инвазия

к/х «Алдияр»	28,5 %	21,4%	28,5%	35,7%	85,7%
--------------	--------	-------	-------	-------	-------

Наибольшая экстенсивность смешанной инвазией отмечается у молодняка от 1 до 1,5 лет 35,7 % (11 гол). У контрольных животных количество яиц существенно не изменялось и составило до опыта 12-15экз. и в конце опыта 109 экз.

Испытания по апробации препарата проводили на 14 овцах, спонтанно инвазированных основными гельминтозами (стронгилятоз, мониезиоз, фасциолез).

В К/Х «Мынбаева» в результате вскармливания овцам коммерческого препарата с каолинитом и ЛПС установили, что эффективность коммерческого препарата была высокой, ЭЭ 100%, ИЭ 90%. Данные представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Эффективность каолинита с «Альбендазол 200» при смешанных гельминтозах овец в к/х «Мынбаева»

Группа животных	Кол-во голов	Доза препарата, г/кг	Освободилось от инвазии, голов	Кол-во яиц в 1 г фекалий		ЭЭ, %	ИЭ, %
				до лечения	после лечения		
Опыт	7	0,5мг/на	7	12±1,2	1±1,8	100	90
Контроль	7	10 кг х	0	18±0,1	18±0,1	х	х

В свою очередь вскармливание овец ЛПС показала 96,5% экстенсивность, с ИЭ 85,7% . Данные представлены в таблице 4.

Таблица 4 - Эффективность ЛПС при смешанных гельминтозах овец в к/х «Мынбаева»

Группа животных	Кол-во голов	Доза препарата, г/кг	Освободилось от инвазии, голов	Кол-во яиц в 1 г фекалий		ЭЭ, %	ИЭ, %
				до лечения	после лечения		
Опыт	7	1,0г/на	6	16±1,2	1±1,8	96,5	85,7
Контроль	7	10кг х	0	18±0,1	18±0,1	х	Х

В крестьянском хозяйстве «Алдияр» ЭЭ «Альбендазол 200» с каолинитом составила 90,0%, с ИЭ 87,6 % . Данные представлены в таблице 5.

Таблица 5 - Эффективность каолинита с Альбендазол 200 при смешанных гельминтозах овец в к/х «Алдияр»

Группа животных	Кол-во голов	Доза препарата, г/кг	Освободилось от инвазии, голов	Кол-во яиц в 1 г фекалий		ЭЭ, %	ИЭ, %
				до лечения	после лечения		
Опыт	7	0,5мг/на 10кг	7	21±1,2	1±1,8	90,0	87,6
Контроль	7	х	0	16±0,1	16±0,1	Х	х

Экстенсивность ЛПС также показала высокую антигельминтную эффективность и составила 100%, с ИЭ 96,8%. Данные представлены в таблице 6.

Таблица 6 - Эффективность ЛПС при смешанных гельминтозах овец в к/х «Алдияр»

Группа животных	Кол-во голов	Доза препарата, г/кг	Освободилось от инвазии, голов	Кол-во яиц в 1 г фекалий		ЭЭ, %	ИЭ%
				до лечения	после лечения		
Опыт	7	1,0г/на 10кг	7	16±1,2	1±1,8	100	95,4
Контроль	7	х	0	14±0,1	14±0,1	Х	х

В результате опытов установили высокую антигельминтную эффективность лечебно-профилактического средства, побочного действия на организм овец не отмечали, каких-либо осложнений не выявляли.

Заключение Таким образом, препарат «Альбендазол 200» с каолинитом и лечебно-профилактическое средство (ЛПС) при их применении в дозах согласно наставлениям, проявляют высокую антигельминтную активность против смешанных гельминтозов овец.

Литература

1. Сулейменов М.Ж., Бердикулов М.А., Аманжол Р.А., Тулеуханов А. Терапевтическая эффективность антгельминтиков при мониезиозе овец// Научные исследования в области ветеринарной медицины и их результаты. – Алматы. 2011.- С.100-103.
2. Ергалиев К.Е. К вопросу о распространении гельминтозов овец//Тр. КазНИВИ. - Алма-Ата. 1990. -С.46-49.
3. Сафиуллин Р.Т. Перспективы развития овцеводства // Ветеринария. – 1999, № 2. – С. 8-10
4. Архипов И.А., Мусаев М.Б. Разработка новых лекарственных форм антигельминтиков и перспективы их применения //Мат. межд. конф. посв.80-летию Самарской НИВС. – Самара, 2009. – С. 20-22.

Сведения об авторах:

Джусупбекова Н.М. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории паразитологии ТОО «КазНИВИ»

Сулейменов М.Ж. - кандидат ветеринарных наук, доцент, заведующий лабораторией паразитологии ТОО «КазНИВИ»

Түйін

ҚОЙЛАРДЫҢ АРАЛАС ГЕЛЬМИНТТЕРІНЕ ҚОЛДАНЫЛАТЫН АНТГЕЛЬМИНТИК ДӘРМЕКТЕРДІҢ ТИІМДІЛІГІН САЛЫСТЫРУ

Н.М. Джусупбекова, М.Ж. Сулейменов

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада қойлардың құрт ауруларымен шалдығуы мен оларға қарсы препараттардың тиімділігі көрсетілген.

Кілттік сөздер: гельминтоздар, стронгилятоз, мониезиоз, фасциолез, препарат

Summary

EPIZOOTIC MONITORING HELMINTHOSIS OF SHEEP

N.M. Jussupbekova, M.Zh., Suleimenov

Kazakh Scientific Research Veterinary Institute

The article presents data on distribution gelmintosis of sheep and effective preparation of showed that gelmintosis.

Keywords: gelmintosis, strongylatosis, monieziozis, fasciolosis, preparation

УДК 619.:576.8.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЫЖИВАЕМОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫМ МЕТОДОМ

А. К. Досанова

Резюме В статье показано применение биолюминесценции для определения выживаемости *E.coli* и *Mycobacterium smegmatis* после воздействия дезинфицирующего средства в сравнении с другими методами.

Ключевые слова: биолюминесценция, выживаемость, микроорганизмы

Введение Биолюминесценция - свечение живых организмов, в основе которого лежит реакция, катализируемая ферментом люциферазой. Биолюминесценция возникает при окислении субстрата, названного люциферин, в присутствии фермента - люциферазы. Люциферин и люцифераза – собирательно-функциональные, обозначающие субстраты и ферменты, при взаимодействии которых излучается свет [1].

Люцифераза светляков катализирует окисление кислородом воздуха органического субстрата, люциферина, в присутствии аденозин-5'-трифосфата (АТФ) и ионов магния по схеме:



При переходе оксилюциферина из синглетного электронно-возбужденного состояния в основное наблюдается свечение, интенсивность которого максимальна при 570 нм. Для ряда люцифераз необходимым участником (косубстратом) ферментативной реакции является такой важный метаболит как аденозин-три-фосфат (АТФ). Интенсивность свечения выражается в относительных световых единицах и прямо пропорциональна количеству жизнеспособных клеток. [2].

Наиболее чувствительным и универсальным индикаторным методом определения биомассы является метод АТФ-метрии. АТФ содержится во всех живых клетках. После гибели клеток содержание АТФ резко падает в течение нескольких секунд, поэтому измерение АТФ позволяет определять содержание именно живых клеток. Измерение АТФ методом биолюминесценции занимает 1-2 мин, а полный анализ образца, в зависимости от методики пробоподготовки, требует от 5 мин до 24 ч.

В люциферазной реакции могут участвовать только молекулы АТФ, находящиеся в растворе, но не внутри микробных клеток. Поэтому перед измерением концентрации АТФ микроорганизмов, необходимо высвободить АТФ из клеток во внеклеточное пространство. Это осуществляют с помощью экстрагирующих агентов для АТФ микробных клеток [3,4,5].

Материалы и методы *Использованные вещества и растворы* Использовали АТФ-реагент, представляющий собой лиофилизированную смесь, содержащую все компоненты (за исключением АТФ), необходимые для протекания люциферазной реакции: люциферазу, D-люциферин, соль магния, компоненты буфера, стабилизаторы (ТУ 2639-001-17919612-2002), свежеперегнаный ДМСО, деионизированная вода (набор «Люмтек»,

Россия), дезинфицирующее средство «Глютекс» (произв. С.П.Ветеринария, Испания), Среда Сотона, питательный бульон M002 с 1,5% агара бактериологического (Himedia), циркониевые бусы (*0.1 mm zirconia/silica beads*), 30 мМ СТС (Cyanoditoyl Tetrazolium Chloride), 4 мкМ пропидиум иодид в фосфатном буфере.

Результаты и обсуждение

Построение калибровочной зависимости стандартного раствора АТФ. Стандартные растворы АТФ (набор «Люмтек», Россия) приготовили по инструкции. Затем вносили в стандартный раствор АТФ компоненты, необходимые для протекания люциферазной реакции. Из реакционной смеси отбирали 0,02 см³, вносили в микрокювету Люм-1 («Люмтек», Россия) и снимали показания биолюминесцентного сигнала. Биолюминесцентный сигнал выражали в условных световых единицах. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Зависимость величин биолюминесцентного сигнала от концентрации стандартного раствора АТФ

№ п/п	Концентрация стандартного раствора АТФ	Фон	Биолюминесцентный сигнал, усл. ед.			
			значение	значение	значение	среднее значение
1	10 ⁻⁸	44	13 733	14 033	13 977	13 914
2	10 ⁻⁹	32	2 894	3 066	3 380	3 113
3	10 ⁻¹⁰	40	244	217	223	228

Из данных таблицы 1 видно, что значение биолюминесцентного сигнала пропорционально концентрации стандартного раствора АТФ.

Измерение биолюминесцентного сигнала *E.coli*.

Из культуры *E.coli* *шт. ATCC 25952* с исходной концентрацией приблизительно 3x10⁹ кл/см³, приготовили 6 разведений с шагом 10. Далее проводили экстракцию АТФ, для этого к 0,1 см³ суспензии добавляли 0,9 см³ очищенного ДМСО, экстракция проводилась в течение 2 минут. Затем 0,02 см³ экстракта вносили в микрокювету с 0,1 мл реагента (содержащий фермент люциферазу и его субстрат) и снимали показания на люминометре Люм-1 («Люмтек», Россия). Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Зависимость величины биолюминесцентного сигнала от концентрации клеток *E.coli*

№ п/п	Концентрация <i>E.coli</i>	Фон	Биолюминесцентный сигнал, усл. ед.		
			Максимальное значение	Минимальное значение	Среднее значение
1	10 ⁸	35	177 914	165 994	171 954
2	10 ⁷	51	25 734	25 657	25 696

3	10 ⁶	49	2 308	1 820	2 064
4	10 ⁵	62	304	284	294

Из данных таблицы 2 видно, что значение биолюминесцентного сигнала пропорционально концентрации микробных клеток. Измерение биолюминесцентного сигнала при более низких концентрациях клеток (10⁴) *E.coli* не могло быть достоверным, т.к. значения были бы близки к значениям фона.

Следующим экспериментом было определение выживаемости *E.coli* биолюминесцентным методом после воздействия раствора дезинфицирующего средства «Глютекс», приготовленного в соотношении 1:200, согласно наставлению.

К суспензии клеток *E.coli* в концентрации 3x10⁹ V – 0,5 см³ добавляли 0,5 см³ раствора «Глютекс», экспозицию проводили в течение 5, 15 и 60 минут. В контроле вместо препарата добавляли дистиллированную воду. После экспозиции суспензию центрифугировали (10 мин, 3000 об/мин). Супернатант сливали, к осадку добавляли физиологический раствор и вновь центрифугировали. К полученному осадку добавляли 0,5 см³ очищенного раствора ДМСО, экстрагировали бактериальную АТФ в течение 2 мин, добавляли к реагенту, содержащему фермент люциферазу и его субстрат в микрокувету и снимали показания. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Биолюминесцентный сигнал клеток *E.coli* при воздействии дезинфицирующего средства «Глютекс»

№ п/п	Время экспозиции воздействия дезинфицирующего средства, мин	Биолюминесцентный сигнал, усл. ед., среднее значение
1	5	21363
2	15	16299
3	60	16959
4	Контроль (концентрация клеток 10 ⁹)	955606

Из данных таблицы 3 видно, что биолюминесцентный сигнал, регистрируемый после экспозиции, уменьшается почти в 50 раз. Был сделан вывод, что величина биолюминесцентного сигнала после воздействия дезинфицирующего средства «Глютекс» на культуру *E.coli* в течение 5, 15 и 60 минут оставалась практически одинаковой, что позволяет предположить, что культура *E.coli* чувствительна к препарату «Глютекс» (1:200) после 15-минутной обработки.

Изучение выживаемости *Mycobacterium smegmatis* после воздействия дезинфицирующего средства «Глютекс» биолюминесцентным методом.

Далее был проведен эксперимент по определению выживаемости культуры *Mycobacterium smegmatis* штамм МС²155 после воздействия вышеуказанного дезинфицирующего средства биOLUMиНесцентным методом в сравнении с другими методами.

Культура *M. smegmatis* выращивалась в течение 48 ч на питательной среде Сотона. При определении плотности культуры при 600 нм опт. плотность составила 2,4 ед., что соответствует приблизительно 1×10^9 кл/см³. К суспензии клеток *M. smegmatis* в концентрации 1×10^9 V- 0,5 см³ добавляли по 0,5 см³ раствора «Глютекс» (1:200), в контроле – физиологический раствор. К полученному осадку добавляли 0,5 см³ очищенного раствора ДМСО, экстрагировали бактериальную АТФ в течение 2 мин, добавляли к реагенту, содержащему фермент люциферазу и его субстрат в микрокювету и снимали показания. Результаты представлены в таблице 4.

Одновременно с отмытой от дезинфектанта культуры были сделаны посеы на твердую питательную среду (питательный бульон Himedia M002 с 1,5% агара бактериологического) методом предельных разведений (6 разведений с шагом 10). Объем посевной суспензии составил 5 мкл в 5 точках. Через 48 ч культивирования, роста колоний на питательной среде после экспозиции 1,5, 15 и 60 минут не было. В контроле в разведениях 10^2 - 10^4 наблюдался сплошной рост, в разведении 10^5 выросло 120 колоний в 5 точках ($120/5 \times 200 = 4800 \times 10^5$ или 480×10^6 м.т./см³). В разведении 10^6 выросло всего 11 колоний в 5 точках ($11/5 \times 200 = 440 \times 10^6$ м.т./см³). Результаты исследований приведены в таблице 4.

Таблица 4 - БиOLUMиНесцентный сигнал клеток *M. smegmatis* при воздействии дезинфицирующего средства «Глютекс»

№ п/п	Время экспозиции, мин	Фон	БиOLUMиНесцентный сигнал, усл.ед.		
			Максимальное значение	Минимальное значение	Среднее значение
1	Контроль	38	3 681 800	3 166 600	3 424 200
2	5	94	177 247	173 707	175 477
3	15	60	177 162	176 286	176 241
4	60	44	154 332	153 176	153 754

Из данных таблицы 4 видно, что биOLUMиНесцентный сигнал, регистрируемый после экспозиции, уменьшается почти в 20 раз. Был сделан вывод, что величина биOLUMиНесцентного сигнала после воздействия дезинфицирующего средства «Глютекс» на культуру *M. smegmatis* в течение 5, 15 и 60 минут оставалась практически одинаковой, что позволяет предположить, что культура *M. smegmatis* чувствительна к препарату после 5-минутной обработки.

Следует учитывать, что после пятиминутной экспозиции, культура продолжает оставаться в дезинфицирующем растворе в течение 10 минут, пока происходит осаждение культуры центрифугированием.

Более высокие показатели билюминесцентного сигнала у *M. smegmatis* в сравнении с *E.coli* возможно связано с тем, что культура *M. smegmatis* находилась в лаг-фазе интенсивного роста, что предполагает высокую концентрацию внутриклеточного АТФ.

Изучение выживаемости Mycobacterium smegmatis после воздействия дезинфицирующего средства «Глютекс» микроскопическим исследованием.

Микроскопическое исследование проводили с помощью микроскопа Eclipse E4000 («Nicon», Япония), используя приставку для фазового контраста и цифровую камеру Camedia C-4040 (Olimpus, Япония), увеличение x1000.

Выживаемость культуры *M. smegmatis* после воздействия препарата «Глютекс» (1:200), время экспозиции - 5, 15, 60 мин определяли по дыхательной активности микобактерий. Для этого к 100 мкл суспензии клеток (приблизительно 10^7 клеток) добавляли 1 мкл 30 мМ СТС (Cyanoditolyl Tetrazolium Chloride) и инкубировали в условиях роста бактерий в течение 15 минут, затем делали мазки и микроскопировали. Для определения выживаемости культуры микобактерий производили подсчет дышащих клеток, обсчитав 10 полей и взяв среднее значение.

СТС (Cyanoditolyl Tetrazolium Chloride) перекрывает дыхательную цепь бактерий на уровне метахинона и, восстанавливаясь электронами дыхательной цепи, флуоресцирует в области 575 нм красным цветом.

Представлены рисунки при фазово-контрастной и флуоресцентной микроскопии культуры клеток до и после обработки препаратом «Глютекс» (1:200).

Количество дышащих клеток после воздействия дезинфицирующего средства «Глютекс» на культуру *M. smegmatis* в течение 5,15 и 60 минут оставалось практически одинаковой, что позволяет предположить, что культура *M. smegmatis* чувствительна к препарату уже после пятиминутной обработки (рисунки 1,2).

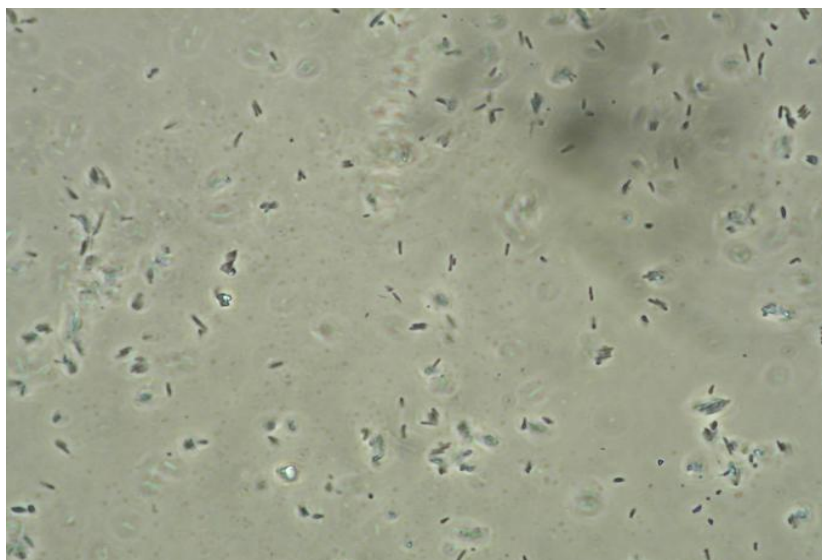


Рисунок 1 - Фазово-контрастная микроскопия (окраска CTC) культуры клеток *M. smegmatis*, увел. x1000, после обработки препаратом Глютекс

На рисунке 1 представлена фазово-контрастная микроскопия культуры клеток *M. smegmatis*, увел. x1000, после обработки препаратом Глютекс.



Рисунок 2 - Флуоресцентная микроскопия (окраска CTC) увел. x1000, после обработки препаратом «Глютекс»

На рисунке 2 представлен тот же объект, но с применением светофильтра, позволяющего наблюдать за эффектом флуоресценции. Видно, что только две клетки флуоресцируют, т.к. CTC встраивается в дыхательную цепь только живых клеток.

Жизнеспособность культуры *M. smegmatis* после воздействия препарата «Глютекс» (1:200), время экспозиции - 5, 15, 60 мин, также определяли микроскопическим исследованием по степени поврежденности мембраны клеток.

Для определения степени поврежденности мембраны клетки окрашивали пропидиумом иодидом (4 мкМ в фосфатном буфере), который окрашивает только клетки с поврежденной мембраной за счет проникновения внутрь клеток и взаимодействия с нуклеиновыми кислотами, длина волны возбуждения 510-560 нм и эмиссия 590 нм. Для определения жизнеспособных клеток производят подсчет окрашенных и неокрашенных, обчислав 10 полей и взяв среднее значение (рисунки 3,4).

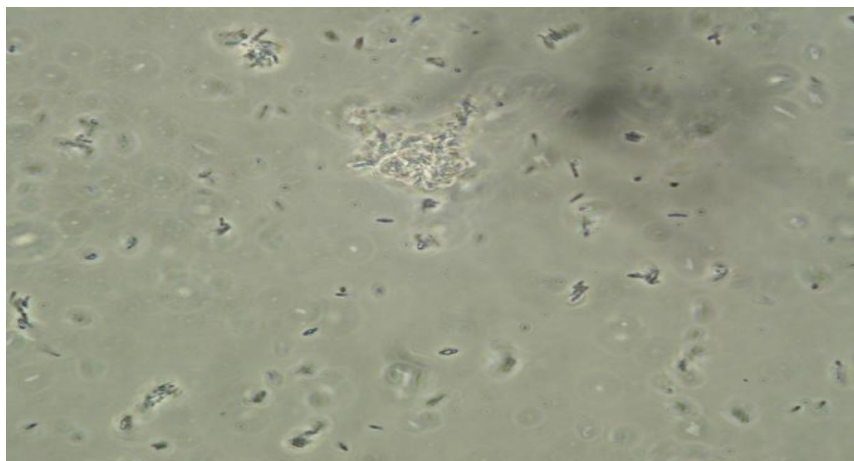


Рисунок 3 - Фазово-контрастная микроскопия культуры клеток *M. smegmatis*, увел. x1000, после обработки препаратом Глютекс

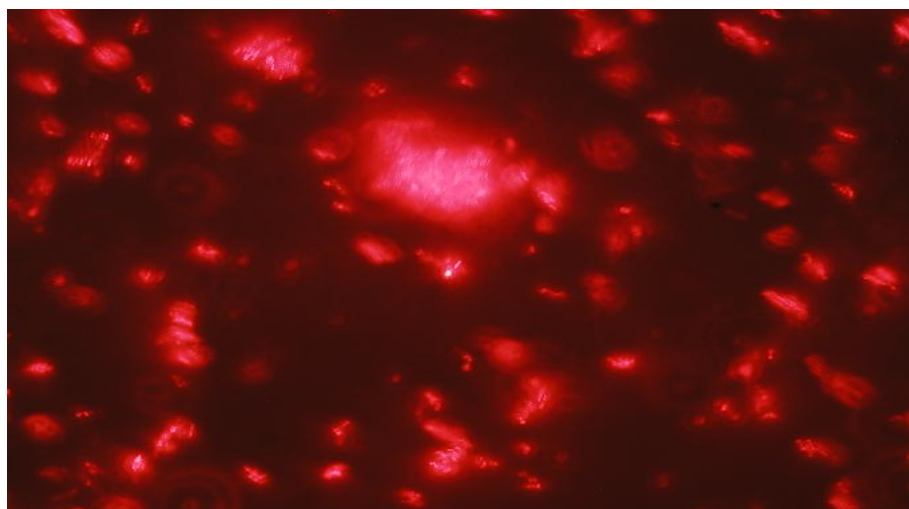


Рисунок 4 - Флуоресцентная микроскопия (окраска иодидом пропидиума) увел. x1000, после обработки препаратом «Глютекс»

На рисунке 3 представлена фазово-контрастная микроскопия культуры клеток *M. smegmatis*, увел. x1000, после обработки препаратом Глютекс. На рисунке 4 тот же объект, но с применением светофильтра, позволяющего наблюдать за эффектом флуоресценции. Видно, что все клетки флуоресцируют, что означает гибель всех клеток.

Динамику гибели микобактерий не было возможности наблюдать, так как культура оказалась чувствительной после 5- минутного воздействия.

Литература

1. Т.Н. Кириллова, Е.В. Немцева, Н.С. Кудряшева Изучение процессов переноса энергии в светляковой биолюминесценции с помощью экзогенных соединений. Биофизика и медицинская физика. С. 105-110
2. Н.А. Мороз, Д.Я. Гурский, Н.Н. Угарова Стабилизация АТФ-реагентов, содержащих люциферазу светляков *L. mingrelica*, в присутствии полиолов. Вестн. Моск. Ун-та. Сер.2.Химия.2008. Т.49.№2.
3. Угарова Н.Н., Фрунджян В.Г. Применение биолюминесцентной АТФ-метрии в биоаналитических целях. Вестник МГУ им. М.В.Ломоносова, М., 2003
4. Janaszek W., Aleksandrowicz J., Sitkiewicz D. The use of the firefly bioluminescent reaction for the rapid detection and counting of mycobacterium BCG. J. Biol. Stand., 1987 Jan, 15(1):11-6
5. S.E. Hoffner, C.A.Jimenez-Misas, A.Lundin Improved extraction of mycobacterial ATP. Bioluminescence and Chemiluminescence Fundamental and Applied Aspects. 1994, p. 442-445.

Сведения об авторе:

Досанова А.К. – магистр биотехнологии, младший научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Түйін

МИКРООРГАНИЗМДЕРДІҢ ТІРІ ҚАЛУЫН БИОЛЮМИНЕСЦЕНТТІК ӘДІСПЕН АНЫҚТАУ

А.Қ. Досанова

«Қазақ ғылыми – зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада *E.coli* және *Mycobacterium smegmatis* микроорганизмдерінің зарарсыздандыру препаратпен әсер еткеннен кейін тірі қалуын биолюминесценттік және басқа әдістермен анықтаулы көрсетілген.

Кілттік сөздер: биолюминесценция, тірі қалу, микроорганизмдер

Summary

EXAMINATION OF SURVIVED MICROORGANISMS USING BIOLUMINESCENCE METHOD

A.K. Dossanova

LLP «Kazakh Scientific research Veterinary Institute»

In article showed application of bioluminescence method for examination of survived *E.coli* and *Mycobacterium smegmatis* after affect of disinfection in compare with other methods.

Keywords: bioluminescence, detection, microorganisms

ӘОЖ 619: 615. 451

ҚАҒАНАҚ СЫҒЫНДЫСЫ ТКАНДІК ДӘРМЕГІН МҮЙІЗДІ ІРІ ҚАРАҒА СЫНАУ

Т.Т. Еспенбет., К.З. Жазитов

«Қазақ ғылыми – зерттеу ветеринария институты» ЖШС
СҚО, Ғ.Мүсірепов ауданының «Ветеринариялық станциясы» МҚК

Түйін Төменде сынақтағы қағанақ сығындысы дәрмегінің белсенділігін шаруашылық жағдайында мүйізді ірі қараға сынағандағы алынған нәтижелер беріледі.

Кілттік сөздер: Қағанақ сығындысы, ткандік дәрмек, мүйізді ірі қара, бұзау

Кіріспе Ветеринария саласында қолданыста жүрген мал ауруларын емдеуге немесе алдын алуға пайдаланылатын антибиотиктер, химиялық жолмен алынған биоүдеткіштер мал ағзасында көптеген аллергиялық өзгерістер тұғызып, олардан алынатын тағамдардан, яғни етпен, сүтпен және т.б бөлініп, жарамсыз етуде. Отандық және шет елдік ғалымдардың мал дәрігерлігі саласында үлкен жетістіктерге жетіп отырғанына қарамастан, мүйізді ірі қараның физиология және көбею ағзалары аумағындағы кездесетін кейбір аурулардың әлі де болса орын алуы, бұл бағытта ғылыми зерттеулерді кешенді түрде жалғастыра беруді талап етеді. Озық технологияның сүтті сиыр шаруашылығына енгізілуінен, малдардың жыл бойы қорада байлауда ұсталынуынан және бой жаздырудың аздығынан аналық малдар арасында бедеулік, қысыр қалушылық және басқада акушерлік-гинекологиялық ауытқулар белең алуда. Бұл төлдің туылуы және сүт пен еттің алынуы көрсеткіштеріне кері әсер етеді[1]. Мал ағзасындағы зат алмасу процесстерінің бұзылуы әрқашанда жануарлардың ауруға қарсы тұру

кабілеттілігінің төмендеуіне әкеліп соғатындығы бесенеден белгілі. Ветеринария ғылымының алдына осы процесстердің бұзылуына жол бермеу және малдың ауруға қарсы қабілеттілігін көтеру үшін жаңа дәрілік құрылымдарды құру басты міндет етіліп қойылған. Сол үшін табиғи шикізаттардан, яғни мал ағзасынан жасалынған ткандік дәрмектерді ем ретінде қолдану соңғы жылдары кең өріс алып келеді. Ткандік дәрмектердің белоктық құрылымы мал ағзасына өте жақын, сондықтанда оларды ем ретінде қолданса пайдасы жоғары болмақ. Ткандік дәрмектерді әсіресе төл ауыруларын алдын алу үшін, аналық малдардың бедеулігін жою үшін қолданудың болашағы өте зор[2]. Сондықтанда мүйізді ірі қара иммунитетін жоғарлататын және өсіп-өну қабілеттілігін көтеретін сынақтағы биоүдеткіш қағанақ сығындысы дәрмегі өндіріске енгізілсе, біріншіден малдан алынатын тағамдардың сапасына залалы болмайды, себебі дәрмек сүтпен бөлінбейді, ағзада жиналмайды, оны жалпы иммунитетті, қонды көтеретін, малды күйге келтіретін биоүдеткіш ретінде ғана емес, сонымен қатар көптеген гинекологиялық ауруларды емдеуге немесе алдын алуға қолдануға болады, екіншіден бұл дәрмек тағамдық құны жоқ мал ткані қағанақтан (шудан) жасалынады, сондықтанда алынуы, дайындалуы, қолданылуы жағынан жеңіл және дәрмектің құны арзан [3].

Материалдар мен әдістемелер Ткандік қағанақ сығындысы дәрмегі 4 – 8 жас аралығындағы, қоны жоғары немесе орташа, аурудан таза, төлдегеннен кейінгі 2-4 сағ аралығында өзі түскен, сиырлардан алынған қағанақ қосындысынан жасалынған. Қағанақ сығындысы биоүдеткіші мүйізді ірі қараның резистенттілігін көтеруге және өсіп-өну, яғни күйге келу қабілеттілігін үдетуге арналған. Дәрмектің стерильділігі, залалсыздылығы және белсенділігі зертханалық жағдайда зерттелінген. Тәжірибеге “Ақселеу” жауапкершілігі шектеулі серіктестік шаруашылығындағы ірі қара малдары алынды.

Зерттеу нәтижелері және талқылау Биоүдеткіш қағанақ сығындысының мүйізді ірі қараның күйге келуін үдету әсерін және жалпы резистенттілігін көтеру белсенділігін анықтау үшін төмендегі малдарға тәжірибе жасалынды. Тәжірибеге шамамен 4-8 жастағы, бұзаулаған 12 бас сиыр және туылғандарына 10-15 күн болған, әлжуаз, өсуі жағынан қатарынан қалған, дендері сау 10 бұзау алынды. Тәжірибеге алынған 12 бас сиыр алты бастан екі топқа бөлініп, жыныс циклінің 16-17 күндері бірінші топқа сынақтағы «қағанақ сығындысы» биоүдеткіші 20 см³ мөлшерінде, асептикалық жағдайды сақтай отырып, алқымына, тері астына салынды. Екінші топтағы алты бас сиыр бақылауда қалдырылды, яғни бұл малдарға дәрмек егілген жоқ. Жүргізілген зерттеулердің нәтижесінде малдардың күйге келуі, келмеуі, ұрықтануы және ұрықтанудың пайыздық көрсеткіштері анықталды. Бірінші топтағы сынақтағы қағанақ сығындысы дәрмегі егілген алты бас сиырдың алтауы да 18-24 күн аралығында күйге келіп, бесеуі ұрықтандырылды, ал бір бас қысыр болып шықты. Бірінші топтағы аналық малдардың ұрықтануы 80 % -дан жоғары болды. Бақылау яғни дәрмек

берілмеген топтағы алты бас сиырдың үшеуі күйге келіп, екі басы ұрықтандырылды. Бұл топтағы ұрықтанудың пайыздық көрсеткіш төмен болып 30 %- ды көрсетті.

Туылғандарына 10-15 күн болған, әлжуаз, өсуі жағынан қатарынан қалған, дендері сау 10 бас бұзау, 5 бастан екі топқа бөлінді. Бірінші топқа сынақтағы қағанақ сығындысы биоүдеткіші 8-10 см³ мөлшері аралығында, асептикалық жағдайды сақтай отырып, алқымына, тері астына, бір рет салынды. Екінші топтағы 5 бас бұзау бақылауда қалдырылды, яғни бұл малдарға дәрмек егілген жоқ. Бірінші топтағы бұзаулар дәрмек берілгеннен кейінгі 5-7 тәуліктен бастап олардың сүтке және т.б азықтарға тәбеттері жоғырылап, қоңы көтеріле бастады, сонымен қатар, 15-20 тәулік аралығында өздерінің қатарын өсуі жағынан қуып жетті. Бұл топ арасында ауруға шалдығу анықталмады. Екінші бақылау тобындағы 5 бұзаның екеуі өкпе қабынуына ұшырап, оларды антибиотиктермен емдеу тәсілдері жүргізілді.

Қорытынды Сынақтағы ткандік биоүдеткіш қағанақ сығындысы дәрмегін мүйізді ірі қараға сынағанда, оның аналық малдарды күйге келтіру әсері және төлдің жалпы резистенттілігін көтеру белсенділігі жоғары және залалсыз екендігі анықталды.

Әдебиеттер

1. Горпинченко Е.А. Фармакокоррекция воспроизводительной способности у коров при гипофункции яичников. /Автореферат на соис. у.с. канд.ветерин.наук. – Краснодар. 2008.- 26 с.
2. Востроилова Г.А. Экспериментальная и клиническая фармакология препаратов плаценты, полученных методом криофракционирования. / Диссерт.- докт. биол. наук, Воронеж, 2007. – 350 с.
3. Еспенбет Т.Т. Ткандік биоүдеткіштер туралы түсінік және қағанақ сығындысы дәрмегін дайындау әдісі. /Жаршы.-Алматы, 2010.- №1. 55-57Б.

Иегерлер туралы мағлұмат:

Еспенбет Т.Т. – ветеринария ғылымдарының кандидаты, «Қазақ ҒЗВИ» ЖШС бактериология бөлімінің жетекші ғылыми қызметкері

Жазитов К.З. – СҚО, Ғ.Мүсірепов ауданының «Ветеринариялық станциясы» МҚК директоры

Резюме

ИСПЫТАНИЕ ТКАНЕВОГО ПРЕПАРАТА ИЗ ЭКСТРАКТА ПЛАЦЕНТЫ НА КРУПНОМ РОГАТОМ СКОТЕ

Т.Т. Еспенбет, К.З. Жазитов

ТОО «Казахский научно – исследовательский ветеринарный институт»
СҚО, район им. Г.Мусрепова ГКП «Ветеринарная станция»

В статье приводятся результаты по определению активности опытной серии препарата из экстракта плаценты.

Ключевые слова: экстракт плаценты, тканевой препарат, крупный рогатый скот, теленок

Summary

THE TEST OF TISSUE PREPARATION FROM PLACENTA EXTRACT IN CATTLE

T.T. Espenbet, K.Z. Jazitov

LLP «Kazakh Scientific research Veterinary Institute»
NKR, district name after G.Musirepov SCE «Veterinary station»

The article gives the results of determining the activity of the drug trial series from placenta extract

Keywords: placenta extract, tissue preparations, cattle livestock, calf

УДК 619:616.988:636.1

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА САЛЬМОНЕЛЛЕЗНОГО АБОРТА ОВЕЦ

Н. Н. Егорова, А. Т. Даугалиева

ТОО «Казахский научно- исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приводятся результаты исследования патологического материала от 2 абортплодов овцематок. На основании клинико-эпизоотологических данных, бактериологического, биохимического, серологических исследований, из абортплодов выделен возбудитель сальмонеллезного аборта овец *Salmonella abortus – ovis*.

Ключевые слова: сальмонеллезный аборт овец, сальмонеллы, овцематки, диагностика, микроорганизмы, патологический материал, инфекция

Введение Род *Salmonella* – паратифозные бактерии, в серологическом отношении родственны, относится к семейству *Enterobacteriaceae*, включающему 12 родов, патогенны для людей и животных. Сальмонеллы вызывают аборт у овец и кобыл, сальмонеллезы молодняка животных, брюшной тиф и токсикоинфекции у человека [1,2]. Сальмонеллезы

распространены во многих странах мира, животные являются основным резервуаром паратифозной инфекции. Сальмонеллезный аборт овец регистрируется на всей территории республики и наносит значительный экономический ущерб овцеводческим и фермерским хозяйствам. Актуальность борьбы с сальмонеллезным аборт овец обусловлена тем, что в РК овцеводство является традиционной отраслью животноводства. РК занимает одно из ведущих мест в мире по количеству овец. Поголовье овец в настоящее время составляет 20 млн голов, из них около половины - овцематки. Имеется также большое количество неучтенных овец, находящихся в частных и фермерских хозяйствах. Овцы, содержащиеся в личной собственности граждан, зачастую не подвергаются ветеринарно - санитарной обработке, не вакцинируются, по ним не ведется ветеринарная отчетность. Больные овцематки часто являются источником заражения животных и окружающей среды. Нередко овцы являются важным звеном эпизоотической цепи, играют решающую роль в распространении инфекционных заболеваний, в том числе и сальмонеллезного аборта овец. Сальмонеллез овец вызывает *Salmonella abortus-ovis* (серологическая группа В), антигенная формула 0-4, 12; Н-с, 1, 6, *Salmonella bovismorficans* (Новая Зеландия). В редких случаях возбудителями сальмонеллезного аборта у овец являются *Salmonella typhimurium*, *Salmonella dublin*. Сальмонеллез овец характеризуется абортами во второй половине суягности и рождением мертвых плодов. Болезнь контагиозная, принимает массовое распространение и часто сопровождается гибелью овцематок от послеродового сепсиса. Абортировавшие овцематки тяжело болеют. У новорожденных ягнят заболевание протекает в виде бактериемии, энтерита, а в более позднем возрасте развиваются пневмония и артрит. Животные инфицируются через пищеварительный тракт (с кормом, водой и на пастбищах). Особенно интенсивное заражение происходит в период массовых аборт овец. У зараженных животных заболевание клинически не проявляется. В этом периоде сальмонеллы локализуются в желчном пузыре и протоках, в лимфатических узлах и кишечнике [3]. У беременных овцематок сальмонеллы проникают в матку, плодовые оболочки и ткани плода, где при благоприятных условиях размножаются. Впоследствии происходят воспалительные процессы в матке, плодовых оболочках, сепсис и гибель плода, тяжелый токсикоз у овцематки и аборт. В послеродовой период у животных развиваются эндометрит, плацентит, вызываемые сальмонеллами и сопутствующей микрофлорой. Ягнота заражаются через пищеварительный тракт (главный источник инфицирования овцематки) и внутриутробно, в более старшем возрасте аэрогенно при контакте с больными [4]. Огромное значение имеет резистентность суягных овец. Длительные перегоны, переохлаждение, отсутствие подкормки, плохое кормление, нарушение минерального обмена способствуют появлению и распространению заболевания.

Материалы и методы исследований При проведении работы использовали общепринятые методы патологоанатомических, бактериологических, биохимических методов исследований. Культурально-морфологические свойства микроорганизмов изучали путем посева на жидкие, твердые и дифференциально-диагностические среды. Все штаммы предварительно реактивировали посевом в МПБ. После реактивации культуры исследовали на типичность культурально - морфологических, тинкториальных, биохимических, агглютинагенных свойств. У выделенных культур сальмонелл изучали культурально-морфологические признаки путем посева их на МПБ, МПА, МПЖ (рН 7,2-7,4), на висмут-сульфитный агар, агар Эндо, микроскопией мазков, приготовленных из суточных агаровых культур, окрашенных по Граму и простым способом. Биохимическую активность изучали при посеве на среды Гисса с углеводами. Для выявления протеолитической способности испытываемые штаммы засеивали на МПЖ. Культуры, типичные для сальмонелл, испытывали в реакции агглютинации на стекле сначала с поливалентными и монорецепторными сальмонеллезными сыворотками. Таксономическое распределение культур проводили согласно определителю бактерий Bergey's (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology /Department of Microbiology and Molecular Genetics: Michigan State University: USA, 2005) [6]. Электронную микроскопию сальмонелл проводили по общепринятой методике [7].

Цель работы – установление этиологии инфекционных абортос у овцематок, идентификация бактерий, выделенных из абортплодов овцематок на основании изучения биологических свойств.

Результаты исследований В марте 2012 года для исследования были доставлены 2 абортплода овцематок из частного фермерского хозяйства Алматинской области. В хозяйстве отмечались многочисленные аборты у овцематок на последних месяцах суягности. Плоды были сформированы, имели шерстный покров, копытца. При патологоанатомическом исследовании абортплодов овцематок отмечались множественные точечные кровоизлияния в тонком отделе кишечника, сычуге. В брюшной и грудной полостях отмечалось скопление экссудата. Сердце увеличено, миокард дряблый. Мышцы в области шеи увеличены, отечные. Паренхиматозные органы дряблые, перерожденные, с кровоизлияниями. Посевы делали из паренхиматозных органов абортированных плодов с учетом наибольшей локализации сальмонелл (печень, селезенка, лимфатические узлы, желчный пузырь, костный мозг) на МПБ, МПА, среду Эндо, висмут-сульфитный агар. Через сутки отмечался обильный рост сальмонелл. В бульоне наблюдалось равномерное помутнение, на МПА росли компактные, мелкие, круглые, прозрачные, блестящие колонии голубоватого цвета в S-форме, на среде Эндо – круглые бесцветные колонии. На висмут-сульфитном агаре интенсивно росли круглые черные колонии с металлическим блеском, среда под колониями окрашивалась в черный цвет. В мазках отмечались мелкие грамотрицательные палочки с закругленными концами. При посеве уколом

на ПЖА наблюдалась характерная подвижность сальмонелл (подвижные палочки). Обе выделенные культуры агглютинировали с поливалентной и монорецепторными сальмонеллезными сыворотками. Во всех случаях отмечалась интенсивная агглютинация, что указывало на принадлежность возбудителя к сальмонеллам. Антигенная структура возбудителя характеризуется наличием 4-го и 12-го рецепторов О-антигена, с (1-я фаза); 1,6 (2-я фаза) рецепторов Н-антигена. Обе культуры принадлежали к серологической группе В. Культуры агглютинировались в РА на стекле с поливалентной и монорецепторными сыворотками производства Краснодарской биофабрики и Санкт-Петербургского научно-исследовательского института вакцин и сывороток и предприятия по производству бактериальных препаратов. Монорецепторные сыворотки для идентификации сальмонелл готовят путем иммунизации кроликов к каждому антигену. По результатам серологической типизации обе культуры отнесены к *Salmonella abortus-ovis*.

Выделенные культуры идентифицировали по биохимическим свойствам путем культивирования на среде Гисса. Культуры, полученные от из абортплодов овцематок, обладали ферментативной активностью, характерной для сальмонелл. *Salmonella abortus-ovis* не изменяли инозит, глицерино - фуксиновый бульон, раффинозу, салицин, не ферментировали лактозу, сахарозу, не разлагали желатин; образовывали сероводород и не продуцировали индола. *S. abortus-ovis* разлагали глюкозу, маннит, арабинозу, дульцит, ксилозу, рамнозу, галактозу.

При исследовании сывороток крови, полученных от абортировавших овцематок в пробирочной реакции агглютинации с сальмонеллезным овисным антигеном, регистрировались специфические антитела в титре 1:800. У обеих абортировавших овцематок наблюдался тяжелый послеродовой сепсис, животные подвергались интенсивной антибиотикотерапии. Суточная культура сальмонелл представлена на рисунке 1.



Рисунок 1 - Рост *Salmonella abortus-ovis* на висмут - сульфитном агаре

На рисунке 1 виден характерный металлический блеск колоний сальмонелл на висмут - сульфитном агаре. Среда под колониями окрашена в черный цвет вследствие образования сальмонеллами сероводорода.

Проводили электронную микроскопию сальмонеллезной культуры. Готовили специальные препараты для электронной микроскопии. Стерильную чашку Петри заливали парафином. Затем приготовленную из суточной агаровой культуры *Salmonella abortus-ovis* бактериальную взвесь (концентрация 500 млн. микробных клеток/см³ по оптическому стандарту ГИСК им. Тарасевича) наносили пастеровской пипеткой на парафин в чашке Петри. При нанесении на парафин капля взвеси принимала округлую форму и не растекалась (всего 2 -3 капли). Затем специальную золотистую сеточку подложкой вниз (расчерченные квадратики) помещали в каплю суспензии сальмонелл на 1 минуту. Метод называется метод флотации. При этом сеточка плавала на поверхности капли микробной суспензии. Подложка изготовлена из фарфора и находилась сверху на золотистой круглой сеточке. Бактерии, таким образом, фиксировались на сеточке. Через 1 минуту сеточку снимали и переворачивали подложкой вверх. Лишнюю каплю жидкости удаляли легким прикосновением фильтровальной бумаги. Снятую сеточку помещали в контейнер подложкой вверх. Чашку Петри с сеточкой, на которой находилась бактериальная взвесь, закрывали и на 24 часа и оставляли для высушивания. Через сутки капля микробной суспензии высыхала. Высохшую каплю контрастировали следующим образом. Через сутки сеточку вынимали, на парафин в чашке капали каплю контрастера – 2% раствор фосфорно - вольфрамовой кислоты (ФВК). 2% раствор фосфорно - вольфрамовой кислоты капали пастеровской пипеткой на парафин, сеточку топили в капле подложкой вверх. Контрастировали 1,5 -2 минуты. Затем сеточку пинцетом аккуратно вынимали, удаляли лишнюю жидкость прикосновением фильтровальной бумаги. Сеточку промывали от контрастера (ФВК) дистиллированной водой из шприца (очень осторожно). Затем сеточку вновь ставили на спичку в контейнер подложкой вверх. Сеточку с бактериальной взвесью сушили в контейнере 7 суток. После высушивания препарат был готов для просмотра под электронным микроскопом.

Приготовление контейнера. Контейнер для фиксации сеточки готовили из стерильной чашки Петри. К дну чашки приклеивали лейкопластырь или широкий скотч, затем на лейкопластырь помещали предметное стекло, на которое наклеивали лейкопластырь липкой поверхностью вверх. Между липкими лентами помещали капилляры пастеровских пипеток. Сеточку боком (золотистый кружок) прислоняли к капилляру боком, каплей снаружи (вверх). Электронный снимок *Salmonella abortus-ovis* представлен на рисунке 2.

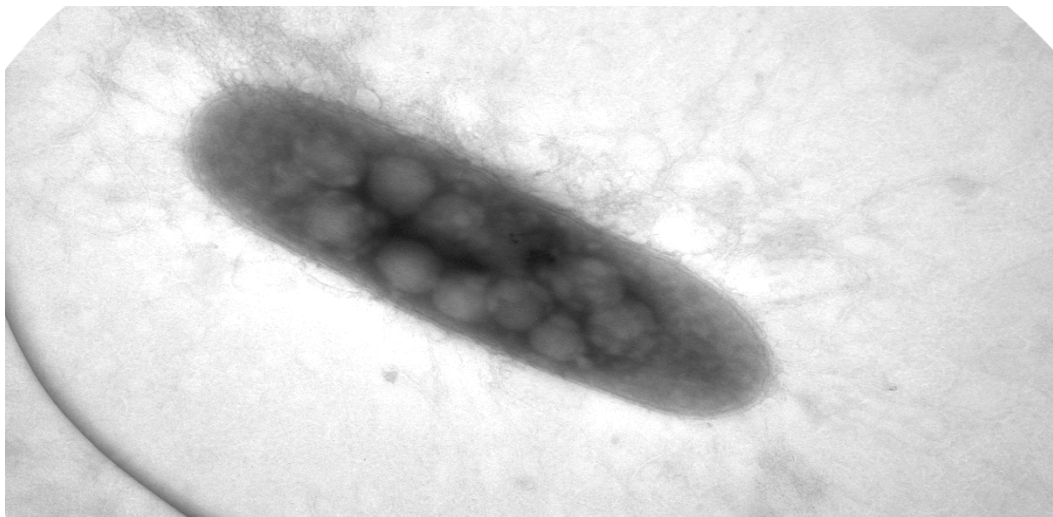


Рисунок 2 – Электроннограмма *Salmonella abortus—ovis*

На рисунке 2 представлена бактериальная клетка из одного клона (популяция из одной клетки без предварительной конъюгации). Стационарная фаза. На цельной клетке сальмонеллы видны обрывки перитрихально расположенных жгутиков. По всей поверхности клетки располагаются ворсинки. Также видна трехслойная клеточная мембрана (наружный слой клеточной стенки). В центральной части клетки расположен нуклеоид. Зона нуклеоида заполнена фибриллярным компонентом. Вблизи нуклеоида локализованы клеточные включения округлой формы. Включения имеют мелкозернистое строение и ограничены от цитоплазмы мембраной. По всей цитоплазме расположены мелкие внутриклеточные включения. Увеличение $\times 60\ 000$.

Вирулентность выделенных культур проверяли путем постановки биопробы. Вирулентность культур *S. abortus-ovis* проверяли на белых мышах массой 16-18 г, которым вводили 1 млн. м.к. взвеси суточной агаровой культуры по оптическому стандарту мутности ГИСК им. Тарасевича подкожно ($0,2\text{ см}^3$ 5 млн. м.к. взвеси). Гибель всех 6 опытных мышей отмечалась на 3-4 сутки.

Результаты изучения биологических свойств эпизоотических штаммов *Salmonella abortus – ovis*, полученных из абортплодов овцематок, показывают, что культуры по морфологическим, культуральным, биохимическим, антигенным свойствам соответствуют коллекционным эталонным штаммам *S. abortus-ovis* 372 и *S. abortus-ovis* 17 NS. На основании результатов исследований и согласно определителю бактерий Берджи проведена идентификация культур. Две эпизоотические культуры *S. abortus-ovis* паспортизированы, составлены карты хранения. Культуры пересеяны на ПЖА под вазелиновым маслом и заложены на хранение. *Salmonella abortus-ovis* В-0066 депонирована в Республиканской коллекции микроорганизмов (г. Астана).

Заклучение Клинико-эпизоотологические данные, результаты патологоанатомических, бактериологических, биохимических исследований и антигенных свойств сальмонелл позволили установить сальмонеллезную этиологию абортот у овцематок и выделить культуру *Salmonella abortus-ovis*. По биологическим свойствам эпизоотические культуры сальмонелл были идентичны коллекционным эталонным штаммам *S.abortus-ovis* 372 и *S.abortus-ovis* 17 NS.

Литература

- 1 Покровский В.И. и др. Медицинская микробиология. М., Медицина, 1999. - С. 447-448.
- 2 Покровский В.И., Лобан К. М. Руководство по инфекционным болезням. М.: Медицина, 1986.- С.21-32.
- 3 Кадымов Р.А. и др. Ветеринарная микробиология. М., Колос, 1982-301 с.
- 4 Кадымов Р.А. и др. Инфекционные болезни овец. М.: Агропромиздат, 1987. - С.151-153.
- 5 Осидзе Д. Ф. Инфекционные болезни животных. М.: Агропромиздат, 1987. - С.198-199.
6. Определитель Bergey's Manual of Systematic Bacteriology /Department of Microbiology and Molecular Genetics: Michigan State University: USA, 2005, Volum 2, Part B, p. 764 – 799.
7. Авакян А. А. и др. Атлас анатомии бактерий, патогенных для человека и животных. М.: Медицина, 1972.- 181 с.

Сведения об авторах:

Егорова Н. Н. - кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»
Даугалиева А. Т. - кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Түйін

**ҚОЙДЫҢ САЛЬМОНЕЛЛЕЗДІ ІШ ТАСТАУЫН БАКТЕРИОЛОГИЯЛЫҚ
ӘДІСПЕН БАЛАУ**

Н. Н. Егорова, А. Т. Дауғалиева

«Қазақ ғылыми – зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада қойдың іш тастауы екі түсігінің патологиялық материалдарын зерттеудің нәтижелері келтірілген. Клиникалық -

эпизоотологиялық, бактериологиялық, биохимиялық, серологиялық зерттеулердің нәтижесінде қойлардың сальмонеллезді іш тастауы қоздырғыштары (*Salmonella abortus ovis*) бөлініп алынған.

Кілттік сөздер: қойдың сальмонеллезді іш тастауы, сальмонеллалар, аналық қойлар, диагностикалық, микроорганизмдер, патологиялық материалдар, індет

Summary

THE BACTERIOLOGICAL DIAGNOSTIC OF SALMONELLOSIS ABORTS OF SHEEPS

N. N. Yegorova, A. T. Daugaliyeva

In article shows results of investigation of pathological material from two abortus of sheeps. On base of clinical and epizootical data, bacteriological, biochemical, serological investigation from sheeps was separated agent of disease salmonellosis in sheeps – *Salmonella abortus-ovis*.

Keywords: salmonellosis abortion of sheeps, salmonellas, sheep, diagnostic, microorganisms, pathological material, infection

УДК:619:616.988:636.1

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ПАСТЕРЕЛЛЕЗА СВИНЕЙ

Н.Н. Егорова, А.К. Мусаева

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приводятся результаты исследования патологического материала от 3 - месячного поросенка. На основании клинико - эпизоотологических данных, бактериологического, биохимического исследований от поросенка выделена культура *Pasteurella multocida suis*.

Ключевые слова: пастерелла, пастереллез, штаммы, микроорганизмы, инфекция, свиньи

Введение Инфекционные болезни молодняка наносят огромный экономический ущерб животноводству Республики Казахстан. Пастереллез (геморрагическая септицемия) – инфекционная болезнь молодняка сельскохозяйственных и диких животных, вызываемая микроорганизмами из

рода *Pasteurella multocida (gemolítica)*, которая имеет большое количество видов и разновидностей [1,2]. Заболевание проявляется сепсисом, энтеритами, крупозными пневмониями, воспалением суставов, отеками [3].

Пастереллез поросят имеет широкое распространение, наносит существенный экономический ущерб свиноводческим хозяйствам. Пастереллезом поросята заболевают в послеотъемный период, пастереллез является основной причиной потери молодняка. Возбудитель персистирует длительное время в организме животных, поросята пожизненно остаются бактерионосителями. Выделяя во внешнюю среду возбудителя инфекции, бактерионосители являются источником заражения окружающей среды. В различных местностях размеры носительства и типовой состав возбудителей инфекций, циркулирующих среди животных, а также влияние этого носительства на распространение инфекций среди людей в отдельных географических зонах установлены недостаточно. Циркуляция одних и тех же сероваров пастерелл среди животных, указывает на наличие тесных биоценологических связей между ними.

Источником возбудителя являются больные или переболевшие животные - носители пастерелл. Завоз свиней-пастереллоносителей из неблагополучных хозяйств является одним из основных путей распространения болезни. Эпизоотической особенностью пастереллеза является энзоотичность и формирование стационарных эпизоотических очагов. Инфекция в основном передается по воздуху, но заражение возможно через корма животного происхождения, предметы ухода, зараженные помещения. Антисанитарные условия содержания поросят в сырых, темных, плохо вентилируемых и грязных помещениях, способствуют быстрому развитию болезни. Факторами распространения могут быть трупы и продукты убоя, а также птицы и грызуны. Инкубационный период продолжается от нескольких часов до двух суток, в зависимости от вирулентности возбудителя и устойчивости поросят. На слизистых оболочках животных возбудитель быстро размножается, выделяя токсины, которые повреждают стенки кровеносных сосудов. Пастереллы, размножаясь в крови, обуславливают септицемию [4].

У свиней отмечается сверхострое и подострое течение, характеризующееся лихорадкой, фарингитом, напряженным дыханием и сердечной недостаточностью. Часто могут обнаруживаться отеки в межжелудочной области шеи. Поросята погибают от асфиксии в течение 2 суток. При подостром течении развивается фиброзная плевропневмония, одышка, кашель, слизисто-гнойный ринит. Пастереллез свиней часто протекает в виде смешанной инфекции с другими бактериальными и вирусными агентами, проявляется массовыми бронхопневмониями [5].

Материалы и методы исследований Использовали общепринятые патологоанатомические, бактериологические, биохимические методы исследований. Культурально - морфологические свойства пастерелл изучали путем посева проб патологического материала на МПБ, МПА с добавлением

10% сыворотки крупного рогатого скота и 1 % глюкозы, биохимические – путем посева пастерелл на среды Гисса с углеводами [6]. Проводили микроскопию мазков, приготовленных из суточных агаровых культур, окрашенных по Граму и простым способом. Культивирование пастерелл также осуществляли на бульоне и агаре Хоттингера, содержащем 1% глюкозы и 10% нормальной сыворотки крупного рогатого скота. Для определения сероводорода использовали полоску фильтровальной бумаги, смоченную раствором уксуснокислого свинца, индола – смоченную насыщенным раствором щавелевой кислоты. Культуры засеивали в 2% пептонную воду, пропитанные реактивами полоски фильтровальной бумаги помещали в пробирку, удерживая ватной пробкой. Через 1-3 дня при наличии сероводорода нижняя часть бумажки окрашивалась в черный цвет, а при наличии индола - в розовый. Для определения каталазы на поверхность суточной агаровой культуры наносили 1%-ный раствор перекиси водорода. При наличии каталазы отмечалось выделение пузырьков отщепленного кислорода. Вирулентность культур определяли в опыте на белых мышках. Номенклатурное распределение выделенной культуры проводили в соответствии с определителем Берджи [7,8].

Результаты исследований В 2013 году поступил патологический материал от 3-х месячного павшего поросенка из ТОО ПСЗ «Бекон» Талгарского района Алматинской области. Для исследования были доставлены печень, селезенка, лёгкие, брыжеечные лимфатические узлы, сердце, кишечник, трубчатая кость с костным мозгом.

При патологоанатомическом исследовании наблюдались точечные кровоизлияния в перикарде, в легких, легкие уплотнены, имели тёмно-красный цвет. Отмечалось катарально-геморрагическое воспаление тонкого отдела кишечника, на слизистой оболочке отмечались точечные кровоизлияния. Селезенка увеличена, наблюдались точечные кровоизлияния под капсулой. Лимфатические узлы увеличены, гиперемированы. Посевы при проведении бактериологических исследований сделаны из паренхиматозных органов с учетом наибольшей локализации пастерелл (печень, селезенка, легкие, сердце, брыжеечный лимфоузел, костный мозг) на МПБ, МПА с добавлением сыворотки крови к. р. с. и глюкозы. Через 24 часа на агаре вырастали мелкие прозрачные колонии в S –форме. На бульоне отмечалось равномерное помутнение. При микроскопии мазков, окрашенных по Граму, наблюдались короткие мелкие грамотрицательные эллипсоидные палочки. Палочки однородные, вытянутой формы, имели характерную биполярную окраску. Пастереллы располагались изолированно, иногда парами, реже цепочками. Пастереллы имели овальную форму, по размеру - мелкие. В мазках- отпечатках, приготовленных из печени, также наблюдались пастереллы с характерной биполярной окраской и выраженной капсулой.

При изучении биохимических свойств установлено, что выделенная культура обладала типичными для пастерелл биохимическими свойствами: образовывала индол, сероводород, реакция Фогес-Проскауэра отрицательная,

нитраты восстанавливала до нитритов, разрушала перекись водорода. *Pasteurella multocida suis* ферментировала углеводы: глюкозу, сахарозу, фруктозу, сорбит, галактозу, маннозу, маннит, ксилозу мальтозу, арабинозу и трегалозу с образованием кислоты. Маркерным признаком *P. multocida suis* является отсутствие ферментации лактозы, а также дульцита, раффинозы, рамнозы, глицерина, салицина. Особенностью пастерелл также является ферментация углеводов с образованием кислоты без газа.

Вирулентность *P. multocida suis* проверяли в опыте на 3 белых мышах массой 16-18 г. Опытным животным вводили подкожно по 0,5 мл суточной бульонной культуры пастерелл. На вторые сутки отмечалась гибель всех опытных мышей. При посеве патологического материала (печень, кровь из сердца) от павших мышей на МПА вырастала характерная по культурально - морфологическим признакам, не контаминированная посторонней микрофлорой культура пастерелл, в виде мелких нежных прозрачных выпуклых колоний. При микроскопии мазков, окрашенных по Граму, наблюдались короткие грамтрицательные овоидные палочки с затемненными концами – биполяры.

На основании изучения культурально - морфологических, биохимических, вирулентных свойств *P. multocida suis* проведена паспортизация штамма и составлена карта хранения. Культура пересеяна на ПЖА под вазелиновым маслом, пробирка укупорена парафинированной резиновой пробкой. Результаты изучения биологических свойств эпизоотической культуры *Pasteurella multocida suis* отражены в таблице 1.

Таблица 1 - Результаты изучения биологических свойств *P. multocida suis*, выделенной от поросенка

Свойства	Результат	Визуальная оценка	⁰ С, время
Морфология микроба	Палочка грамотрицательная	Овоидные, грамотрицательные, полиморфные палочки. Биполярность в мазках – отпечатках из патологического материала, наличие капсулы	
Морфология роста на плотных питательных средах	S – форма	Мелкие, прозрачные колонии с ровными краями.	37 ⁰ 24-48 часов
Морфология роста в жидкой питательной среде	S – форма	Бульон мутный, осадок на дне пробирки	37 ⁰ 24-48 часов
Подвижность	-	Рост по уколу	22 ⁰ С, 48 часов
Дульцит	-	Зеленый	37 ⁰ С 4 суток
Глюкоза*	К +	Зеленый	
Лактоза*	-	Зеленый цвет среды	
Сахароза*	К +	Желтый	
Мальтоза*	К +	Зеленый (<i>P. multocida suis</i>)	
Инозит*	-	Зеленый (<i>P. multocida suis</i>)	
Маннит*	К +	Желтый	
Арабиноза*	К +	Желтый (<i>P. multocida suis</i>)	
Рамноза*	-	Зеленый (<i>P. multocida suis</i>)	
Глицерин*	-	Зеленый	
Свойства	Результат	Визуальная оценка	⁰ С, время
Образование индола	-	Розовый цвет индикаторной бумаги (<i>P. multocida suis</i>)	37 ⁰ 48 часов
Уреазная активность:	-	Бесцветный	37 ⁰ 24-48 часов
Среда Кристенсена**			
Реакция денитрификации	+	Розовый – малиновый – бурый	37 ⁰ 72 часа
Наличие фенилаланинд езаминазы	-	Бесцветный	37 ⁰ 48 часов

Продолжение таблицы 1

Наличие каталазы	+	Образование пузырьков воздуха	37 ⁰ 24 часа
Наличие оксидазы	+	Синий цвет индикаторной бумаги	37 ⁰ 24-48 часов
Гидролиз орнитина ****	+	Красно-фиолетовый (<i>P. multocida suis</i>)	37 ⁰ 48 часов
Гемолитические свойства	-	Отсутствие зоны гемолиза (<i>P. multocida suis</i>)	37 ⁰ 48-72 часа
Чувствительность к пенициллину	+	Отсутствие роста (МЗК)	37 ⁰ 48 часов
Вирулентность для белых мышей	+	LD ₅₀ = 10 ³ –10 ⁵ м. к., 0,5 мл суточной бульонной культуры при подкожном введении	до 10 суток

Примечание: индикаторы: * - бромтимолблау, ** - фенолрот, *** - Андресе, **** - бромкрезолпурпур и крезоловый красный

Из таблицы 1 следует, что культура *Pasteurella multocida suis*, выделенная от поросенка, обладала типичными для пастерелл культурально-морфологическими, биохимическими и вирулентными свойствами.

Заключение Клинико - эпизоотологические данные и результаты патологоанатомических, бактериологических исследований, а также постановки биопробы на белых мышах позволили установить причину гибели 3-месячного поросенка (пастереллез), выделить и идентифицировать возбудителя пастереллеза свиней *Pasteurella multocida suis*. Штамм пастерелл, полученный в результате постановки биопробы на лабораторных животных, пересажен на ПЖА под вазелиновым маслом, паспортизирован на основании изучения биологических свойств.

Литература

- 1.Туманова Е. И. Пастереллезы телят, поросят, ягнят М., Россельхозиздат, 1982. – 10 с.
2. Кадымов Р.А. и др. Ветеринарная микробиология. М.: Колос, 1982- С. 177-180
3. Куриленко А. Н. , Крупальник В. Л. Инфекционные болезни молодняка сельскохозяйственных животных. М.: Колос, 2001.- С.60-67.
4. Осидзе Д. Ф. Инфекционные болезни животных. М.: Агропромиздат, 1987. - С.188-191.
5. Конопаткин А. А., Бакулов И. А. И др.Эпизоотология и инфекционные болезни сельскохозяйственных животных. М.: Колос, 1984. –С.210-217.
6. Антонов Б. И. Лабораторные исследования в ветеринарии. М.: Агропромиздат, 1986. - С.175 - 177.
7. Определитель Bergey's Manual of Systematic Bacteriology /Department of Microbiology and Molecular Genetics: Michigan State University: USA, 2005, Volum 2, Part B, p. 851-866.
8. Хоулт Дж. Определитель бактерий Берджи. М.: Мир, 1997. Т. 1. - С. 202 – 203.

Сведения об авторах:

Егорова Н. Н. - кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Мусаева А. К. – доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела вирусологии ТОО «КазНИВИ»

Түйін

ШОШҚА ПАСТЕРЕЛЛЕЗІН БАКТЕРИОЛОГИЯЛЫҚ ӘДІСПЕН БАЛАУ

Н. Н. Егорова, А. Қ. Мұсаева

«Қазақ ғылыми – зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада 3-айлық торайлардың патологиялық материалдарын зерттеудің нәтижелері келтірілген. Клиникалық - эпизоотологиялық деректер мен бактериологиялық, биохимиялық зерттеулердің нәтижесінде торайлардан *Pasteurella multocida suis* бөлініп алынған.

Кілттік сөздер: пастерелла, пастереллез, штаммдар, микроорганизмдер, инфекция, шошқалар

Summary

THE BACTERIOLOGICAL DIAGNOSTIC PASTEURELLOSIS OF PIGS

N. N. Yegorova, A. K. Mussayeva

The results of investigation of pathological material from 3 – month sucking-pig is described in article. On base of clinical and epizootical data, bacteriological, biochemical investigation from animal was separated agent of disease *Pasteurella multocida suis*.

Keywords: *Pasteurella*, pasteurellosis, strains, microorganisms, infection, pigs

УДК 619:616.5-002.828-07

ПОЛУЧЕНИЕ И ОЧИСТКА АНТИГЕНОВ *MICROSPORUM CANIS*, *TRICHOPHYTON INTERDIGITALE* И *TRICHOPHYTON RUBRUM*

Е.В. Кухар, Б.А. Курманов, В.С. Киян, Е.В. Егорчева, А.М. Шарипова

Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина

Резюме В статье описаны результаты исследований по получению и очистке антигенов из возбудителей микроспории, трихофитии и руброфитии. Авторами проведена работа по культивированию дерматомицетов для получения биомассы. Общий выход биомассы составил – 87,5 г, средний выход со 100 мл питательной среды – 11,6±0,57 г. Полученные растворимые и корпускулярные антигены очищены с помощью низкоскоростного центрифугирования, диализа, гель-фильтрационной хроматографии, ПААГ-электрофореза. Антигены содержат по 2 хроматографические фракции. Молекулярная масса белков, входящих в состав антигенов – 45 кДа.

Ключевые слова: антигены, культивирование, биомасса, дерматомицеты, диализ, хроматография, электрофорез

Введение Методов получения грибных антигенов для постановки серологических реакций предложено немало. Однако, коммерческих антигенов грибов до сих пор не предложено. Проблема их изготовления состоит в том, что получить специфичные белковые компоненты не всегда возможно, так как в состав клеточных стенок грибов входят комплексы в виде гликопептидов, пептидогликанов, галактоманнанов. И если белки являются специфичными для каждого вида грибов, то полисахариды являются общими для всего царства грибов [1].

Поэтому возрастает актуальность получения специфичных антигенов с высокой активностью в иммунологических реакциях.

Цель работы – выделение и очистка антигенов дерматомицетов.

Материалы и методы Работа проводилась в рамках 055 программы по теме «Фенотипическая и молекулярно-генетическая характеристика возбудителей дерматофитий и создание тест-систем для диагностики микроспории, руброфитии и гипсовой трихофитии».

Накопление биомассы для получения антигенов дерматомицетов проводили глубинным культивированием на универсальных качалках с амплитудой колебаний до 100-120 имп/мин в колбах на 250 мл. Культивированием на жидком бульоне Сабуро в течение 3-х месяцев наращивали биомассу дерматомицетов для получения полных и корпускулярных антигенов. По окончании культивирования отделяли биомассу от культуральной жидкости низкоскоростным центрифугированием при 2700 об/мин 10 минут, трехкратно отмывали сырой мицелий в физиологическом растворе с последующей фильтрацией через бумажные фильтры или фильтр Зейтца. Вес биомассы определяли взвешиванием [2].

Выделение растворимых поверхностных белков клеточной стенки грибов проводили по методу *L. Tabatabai et all.* (1979) [3] и замораживанием-оттаиванием [4]. Полисахаридные антигены получали осаждением этиловым спиртом. Полные антигены получали по методам Плято-Нейсера и Буавену-Месробеану. Корпускулярные антигены получали со старых культур, выросших на твердых агаризованных средах. Биомассу снимали с питательных сред, автоклавировали при 1 атм 1 час. Убитую культуру гомогенизировали, фильтровали, разливали по флаконам. Цветные корпускулярные антигены получали окрашиванием спор грибов различными красителями. Очистку антигенов проводили с помощью низкоскоростного центрифугирования, диализа, гель-фильтрационной хроматографии, ПААГ-электрофореза [5, 6].

Концентрацию белка в антигенных препаратах определяли по *Bradford M.M.* (1976). Концентрацию углеводов в растворе антигена определяли с помощью пробы Молиша (серноокислотным методом) [7].

Результаты исследований Накопление мицелиальной массы основных возбудителей дерматомикозов: микроспории (штамм №13 *Microsporum canis*), гипсовой трихофитии (штамм №5 *Trichophyton interdigitale*) и руброфитии (штамм №8 *Trichophyton rubrum*) проводили на глюкозном бульоне Сабуро. В среды вносили гентамицин и тиамин-НСI в количестве 0,5 мг/ 100 мл и по 0,1 см² посевной культуры на 100 см². Глубинное культивирование проводили в течение 15 суток при 28° С с активной аэрацией. Отмытую мицелиальную массу инактивировали автоклавированием при 1 атм./1 час.

Сырой мицелий сушили до суховоздушной массы и использовали для получения антигенов. Всего получено по 25,0-30,0 мг сухой биомассы с каждого штамма дерматомицетов. Общий выход биомассы *T. interdigitale* был равен 54,1 г, средний выход со 100 мл питательной среды – 14,3±0,5 г; общий выход биомассы *T. rubrum* – 127,3 г, средний выход со 100 мл питательной среды – 8,5±0,8; общий выход биомассы *M. canis* – 81,2 г, средний выход со 100 мл питательной среды – 12,0 ± 0,4 г.

В дальнейшем из биомассы получали различные антигены. Получение антигена по методу *L. Tabatabai et all.* (1979) заключалось в обработке 15-суточной биомассы дерматомицетов цитратным буфером и неоднократном центрифугировании супернатанта. Получение белкового антигена по методу замораживания и оттаивания включало обработку 15-суточной биомассы жидким азотом и механическим разрушением в 10%-ном NaOH с периодическим замораживанием и оттаиванием и неоднократном центрифугировании супернатанта.

Полисахаридные антигены получали после разрушения биомассы дерматомицетов осаждением этиловым спиртом и неоднократным отмыванием полисахаридов. Получение полных антигенов по методу Плято-Нейссера заключалось в гомогенизации мицелия гриба в культуральной жидкости и экстракции 0,25-0,5% раствором фенола при непрерывном встряхивании. Полные антигены по методу Буавену-Месробеану получали обработкой 15-суточной биомассы дерматомицетов 0,5% раствором трихлоруксусной кислоты, неоднократным центрифугированием и осаждением комплекса белков и полисахаридов этиловым спиртом. Для получения корпускулярных антигенов использовали старые культуры с агаризованных сред после 90 суток культивирования. Биомассу снимали с поверхности агара, автоклавировали при 1 атм. 1 час. Убитую культуру гомогенизировали в физрастворе, фильтровали и разливали по флаконам. Цветные антигены получали окрашиванием корпускулярных антигенов дерматомицетов соответствующим красителем. Выход растворимых и корпускулярных антигенов с суховоздушной массы

дерматомицетов представлен в таблице 1. Анализ содержания белков и углеводов в антигенах представлен в таблице 2.

Таблица 1 – Результаты получения антигенных препаратов дерматомицетов

Дерматомицеты	Выход антигенов (мл) со 10 г сухой биомассы грибов					
	белковый по L. Tabatabai	замораживанием-оттаиванием	полисахаридный	полный Плято-Нейссера	Полный Буавену-Месробеану	корпускулярный
T. interdigitale	8	15	14	51	10	50
T. rubrum	7	28	12	55	10	48
M. canis	10	14	15	50	10	55

Таблица 2 – Концентрация белков и углеводов (мг/мл) в антигенных препаратах

Антигены	T. interdigitale		T. rubrum		M. canis	
	Белок	Углеводы	белок	углеводы	белок	углеводы
L. Tabatabai et all.	1,0	2,0	0,13	0,375	2,0	3,0
Замораживание-оттаивание	0,25	0,5	0,188	0,5	2,0	2,0
Полисахаридный	0,03	1,5	0,06	4,0	0,04	2,75
Плято-Нейссера	0,03	4,0	0,25	0,5	0,5	0,5
Буавену-Месробеану	0,0075	0,5	0,0075	1,0	0,0075	0,5
Корпускулярный	0,125	1,0	0,25	1,0	0,03	0,5

Очистку антигенов проводили с использованием различных методов: фильтрация через бумажные фильтры и фильтры Зейтца; низкоскоростное центрифугирование при 2000 об/ми; диализ против забуференного физиологического раствора в течение 24 часов; гель-фильтрационная колоночная разделительная хроматография.

Для освобождения от неразрушенного мицелия проводили центрифугирование в течение 20 минут при 3000 об/минут. От неразрушенных клеток и мелких частиц мицелия освобождались центрифугированием при 2000 оборотов в течение 15 минут; от нерастворимых частиц – при 2000 оборотов в течение 10 минут.

Для очистки антигенных смесей от низкомолекулярных примесей применяли многократное центрифугирование в режиме 5000 об/мин в течение 10 мин. В качестве буфера для проведения диализа использовали PBS^{×1}, для приготовления которого к 450 мл воды дистиллированной прибавляли 50 мл PBS^{×10}. Устанавливали сосуд с буферным раствором на мешалку и опускали

диализный мешочек с антигенами, устанавливали на ночь при постоянном перемешивании при 4 °С.

Для хроматографии в качестве разделяющего компонента использовали сефадекс G-100. Гель готовили из расчета 3 г на 100 мл дистиллированной воды. После набухания геля проводили его очистку дистиллированной водой. Забивали колонку длиной 20 см и диаметром 2 см. Пропускали через колонку двойной объем PBS^{×1} до выравнивания показателей на регистраторе. Вносили антиген в количестве 1 мл, сверху наслаивали буферный раствор (PBS^{×1}). Режимы: шаг – 0,5 мм/мин; чувствительность – 0,2; Var – 50 mV.

Результаты гель-хроматографического разделения полисахаридных и белковых антигенов показали, что растворимые антигенные препараты, выделенных с использованием различных методов, содержат две фракции компонентов, отличающихся оптической плотностью, причем первая выходит сразу за свободным объемом колонки, а вторая фракция – через два свободных объема. Перед проведением ПААГ-электрофореза антигенных препаратов образцы разводили в соотношении 1:1, кипятили на водяной бане в течение 3-5 минут и охлаждали. Электрофорез проводили при силе тока 20 мА и конечном напряжении 220 в. В качестве маркерных белков использовали коммерческий препарат фирмы «Sigma». По завершению процесса электрофоретического разделения гель вынимали из пластин, окрашивали в течение 1 часа и отмывали. Электрофоретический анализ антигенов позволил выявить наличие группы белков с молекулярной массой 45 кДа, которые располагались в полиакриламидном геле на одном уровне, и в некоторых пробах – 14 кДа.

Таким образом, в результате работы нами были выделены и очищены растворимые и корпускулярные антигены, определена концентрация белков и углеводов в каждом препарате, определена молекулярная масса компонентов. В дальнейшем были изучены свойства антигенов дерматомицетов *M. canis* №13, *T. interdigitale* №5 и *T. rubrum* №8. При этом установлено отсутствие преципитирующих свойств у всех антигенов, наличие агглютинирующих и гемагглютинирующих свойств у корпускулярных антигенов, высокая активность в ИФА, выявляя специфические антитела в непрямом варианте ИФА в титрах 1:800 – 1:6400 с незначительным наличием неспецифических титров 1:20 – 1:400.

Заключение Получена мицелиальная масса возбудителей дерматомикозов. Общий выход биомассы составил – 87,5 г, средний выход со 100 мл питательной среды – 11,6±0,57 г.

Получены и очищены растворимые и корпускулярные антигены дерматомицетов. Антигены содержат по 2 хроматографические фракции. Молекулярная масса белков, входящих в состав антигенов – 45 кДа.

Антигены обладают активностью и специфичностью в реакции агглютинации (РМА, РБП), гемагглютинации и непрямом варианте ИФА, не обладают преципитирующей активностью.

Литература

1 Елинов Н.П., Васильева Н.В., Разнатовский К.И. Дерматомикозы или поверхностные микозы кожи и её придатков – волос и ногтей. Лабораторная диагностика // Проблемы медицинской микологии. – 2008. – Т.10, №1. – С. 27-34.

2 Кухар Е.В. Биотехнологические основы разработки и совершенствования диагностических препаратов при дерматомикозах животных и человека: дисс. ... докт. биол. наук.: 03.00.23 – Астана: КАТУ им. С. Сейфуллина, 2010. – 255 с.

3 Сұраншиев Ж.Ә. *Brucella*-ның сыртқы мембрана белоктарын сыыр бруцеллезін балауда қолдану: вет. ғыл. кан. ... авторефераты. – Астана: КАТУ им. С. Сейфуллина, 2003. – 25 б.

4 Курасова В.В., Костин В.В., Малиновская Л.С. Методы исследования в ветеринарной микологии. – М.: Колос, 1971. – С. 312.

5 Дудка И.А. Методы экспериментальной микологии: справочник. – Киев: Наукова думка, 1982. – С. 56-84.

6 Иванов Н.П. Препараты, применяемые при бруцеллезе в Казахстане. – Алматы, 2005. – С. 123-127.

7 Кухар Е.В. Антигенные свойства компонентов клеточной стенки возбудителя трихофитии и их использование в разработке иммуноферментной тест-системы: автореф. ... канд. вет. наук.: 16.00.03. – Астана: ААУ им. С. Сейфуллина, 2001. – 25 с.

Сведения об авторах:

Кухар Елена Владимировна - доктор биологических наук, доцент кафедры микробиологии и биотехнологии Казахского агротехнического университета им. С. Сейфуллина, kucharev@mail.ru

Курманов Бауыржан Авғанұлы - доктор ветеринарных наук, главный эксперт Департамента консалтинга в животноводстве АО «Казагромаркетинг» BAKurmanov@mail.ru

Киян Владимир Сергеевич - магистр технических наук, Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина, Genotip_001@mail.ru

Егорчева Е.В. - научный сотрудник, Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина, evgenka_23@mail.ru

Шарипова Айнур, научный сотрудник, Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина, a-i-k-a1991@mail.ru

Түйін

MICROSPORUM CANIS, TRICHOPHYTON INTERDIGITALE ЖӘНЕ TRICHOPHYTON RUBRUM АНТИГЕНДЕРІН ӨНДІРУ ЖӘНЕ ТАЗАРТУ

Е.В. Кухар, Б.А. Курманов, В.С. Киян, Е.В. Егорчева, А.М. Шарипова

С.Сейфуллин атандағы Қазақ агротехникалық университеті

Мақалада микроспория, трихофития және руброфития қоздырушыларынан антигендерді алу және тазарту бойынша өткізілген зерттеу жұмыстарының нәтижелері баяндалған. Авторлар биомасса алу мақсатында дерматомицеттерді өсінділеу бойынша жұмыстар өткізген. Биомассаның жалпы шығымы – 87,5 г, қоректік ортаның 100 мл орташа шығымы – $11,6 \pm 0,57$ г құрады. Алынған еритін және корпускулярлық антигендер төменгі жылдамдықтағы центрифугирлеу, диализ, гель-филтрациялық хроматография, ПААГ-электрофорез көмегімен тазартылды. Антигендерде 2 хроматографиялық фракциядан болады. Антигендер құрамына кіретін ақуыздардың молекулярлық массасы – 45 кДа құрады.

Кілттік сөздер: антигендер, өсінділеу, биомасса, дерматомицеттер, диализ, хроматография, электрофорез

Summary

PREPARATION AND PURIFICATION OF ANTIGENS MICROSPORUM CANIS, TRICHOPHYTON INTERDIGITALE AND TRICHOPHYTON RUBRUM

Y.V. Kukhar, B.A. Kurmanov, V.S. Kiyan, E.V. Egorcheva, A.M. Sharipova

S. Seifullin Kazakh Agro Technical University

The article describes the results of research on the production and purification of antigens from pathogens microsporia, trihophytoses and rubrophytoses. The authors carried out the work on the cultivation dermatomycetes to produce biomass. Total yield of biomass was – 87,5 g, with an average yield of 100 ml of medium – $11,6 \pm 0,57$ g. The resulting soluble and corpuscular antigens purified by low speed centrifugation, dialysis, gel filtration chromatography, SDS-PAGE electrophoresis.

Antigens contain two chromatographic fractions. The molecular weight of proteins belonging to the antigen – 45 kDa.

Keywords: antigens, cultivation, biomass, dermatomycetes, dialysis, chromatography, electrophoresis

УДК 619:616.993.193.

АТТЕНУАЦИЯ PIROPLASMA BIGEMINA ПРИГОДНЫЙ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ АНТИПИРОПЛАЗМОЗНОЙ ВАКЦИНЫ

М. Кожабаяев, Б. Лесов, А. Калаубаев

Филиал «Южно-Казахстанская научно-исследовательская ветеринарная станция» ТОО «КазНИВИ»

Резюме В статье приведены данные по созданию антипироплазмозной вакцины для крупного рогатого скота изготовленного из *P. bigemina*, выделенной в Южно-Казахстанской области. Опыты, проведенные в лабораторных и полевых условиях показали, что препарат безвредный, ареактогенный и высокоиммуногенный. В криогенном состоянии препарат сохраняет свою профилактическую активность длительное время.

Ключевые слова: *Piroplasma bigemina*, вакцина, in vivo, in vitro

Введение Для успешного развития животноводства в регионах с жарким климатом немаловажную роль играют меры направленные на снижение потерь от кровопаразитарных заболеваний животных.

Серьезный экономический ущерб причиняет народному хозяйству болезнь пироплазмоз крупного рогатого скота, вызываемый эндоглобулярным паразитом *Piroplasma bigemina*.

Экономический ущерб, наносимый пироплазмозом велик и выражается в падеже больных животных, снижением продуктивности, нарушением воспроизводительной способности, расходы на содержание и лечение больных животных. Велика опасность заболеваемости и смертности для вновь завозимого скота, особенно для племенных целей, создаются серьезные затруднения по улучшению породности и повышению продуктивности животных [1,2,3,4].

Учеными Филиала «Южно-Казахстанская научно-исследовательская ветеринарная станция» была создана новая антипироплазмозная вакцина пригодная для профилактики крупного рогатого скота от пироплазмоза в

Центрально Азиатских странах СНГ. Профилактика животных ослабленных штаммом *P. bigemina* является приоритетным направлением в дальнейшем сохранения животных от трансмиссивных болезней.

Материалы и методы исследований 2-х телят восприимчивых к пироплазмозу были заражены как кровью инвазированной *B. bigemina*, так и путем пассажа личинок клещей *Boophilus calcaratus* инвазированной возбудителем *P. bigemina*. Инвазированность личинок клещей и дефибринированной крови подтверждены микроскопическими и серологическими исследованиями.

Аттенуированный штамм был креоконсервирован в жидком азоте при температуре минус 196° С. В лабораторных и малых производственных испытаниях препарат испытан на безвредность, ареактогенность и иммуногенность, результаты испытания позитивные.

Препарат вводили животным внутримышечно в области седалищных мышц в дозе 1 мл независимо от возраста и живого веса.

Результаты исследования Телята, зараженные кровью от животного паразитоносителя *P. bigemina*, по истечении 4-9 дней заболели пироплазмозом с характерными для пироплазмоза клиническими признаками и паразитарной реакцией. Температура тела у зараженных телят повышалась до 40° С. В мазках периферической крови обнаруживались до 1% зараженных эритроцитов.

С целью получения максимального развития паразитемии у аттенуированных паразитов процесс пассажирования клеток чередовался на спленэктомированных и неспленектомированных животных. На пятом пассаже температура тела животных оставалась на уровне с нормой и отсутствовала анемичность. Культивирование клеток начато с 7 пассажа.

Проверка аттенуированности культурального штамма показала, что температура тела привитых телят в среднем до 39,9° С., анемичность у телят не выявлена. Максимальная паразитемия составила 0,7% эритроцитов зараженных пироплазмами

Проверка иммуногенности производилась путем заражения четырех опытных двух контрольных животных. У телят привитых культуральным штаммом пироплазм на 4-6 дни после прививок температура тела оставалась на уровне 39,0-39,5° С. Максимальная паразитемия достигла 0,01% эритроцитов зараженных пироплазмами.

В полевых условиях 10 голов телят были заражены вакциной, которая пассажировалась *in vivo*, через телят. У таких телятах среднесуточная температура тела в период реакции повысилась до 39,9° С, гематокрит держался на уровне 26,0%, паразитемия достигла до 0,3%.

Прививка 14 телятам культуральной вакцины выращенных *in vitro* в искусственных питательных средах максимальная температура тела в среднем

была 38,5° С, гематокрит 26,9 %. Паразитемия была очень низкая 0,01% эритроцитов зараженных пироплазмами.

Выводы 1. Аттенуация вирулентности *P. bigemina* возможно путем систематического пассажа через организм телят, восприимчивых пироплазмозу.

2. Для получения максимальной массы аттенуированных клеток, пассажи следует чередовать на спленэктомированных и неспленэктомированных телятах.

3. Культуральная клетка *P. bigemina* имеет выгодное преимущество по сравнению с клеткой полученной путем пассажей на телятах.

4. Антипироплазмозная вакцина у привитых животных вырабатывает стойкую невосприимчивость к заражению животных полевым штаммом пироплазм.

Литература

1. Bruring A.-Serodiagnosis of Eguine by ELISA Thesis University of London. 220pp (1994).

2. Ли П.Н.Арифжанов К.О. О методах перспективных борьбы с гемоспоридиозами крупного рогатого скота в Узбекистане. Труды УЗНИВИ, Самарканд, 1961. - Т. 14. - С.75 - 81.

3. Ли П.Н. О профилактике гемоспоридиоза и девастации *V. bigemina*. Ветеринария М., 1965.- № 9 - С. 21 - 24.

4. Абуладзе К.И. Паразитология и инвазионные болезни сельскохозяйственных животных. – М.:Колос,1975. - С.52 - 56.

Сведения об авторах:

Кожабаяев М. – доктор биологических наук, главный научный сотрудник филиала «Южно-Казахстанская научно-исследовательская ветеринарная станция»

Лесов Б. - младший научный сотрудник филиала «Южно-Казахстанская научно-исследовательская ветеринарная станция»

Калаубаев А. - младший научный сотрудник филиала «Южно-Казахстанская научно-исследовательская ветеринарная станция»

Түйін

ПИРОПЛАЗМОЗ АУРУЫНА ҚАРСЫ ВАКЦИНАНЫ АЛУ ҮШІН
ҚАЖЕТТІ PIROPLASMA BIGEMINA СЕБІНДІСІН ӘЛСІЗДЕНДІРУ

М. Қожабаяев, Б. Лесов, А. Калаубаев

«Оңтүстік Қазақстан ғылыми – зерттеу ветеринария станциясы» Қазақ
ҒЗВИ ЖШС филиалы

Мүйізді ірі қараның пироплазмозына қарсы вакцина Оңтүстік Қазақстан облысынан алынған паразит *B. bigemina*-дан жасалды.

Вакцинаның тиімділігі, аректогендігі, зияндылығы зертханалық жағдайда тексерілді. Нәтижесінде, аталмыш препараттың зиян еместігі, аректогенді және жоғары иммуногенді екені анықталды. Криогенді жағдайда бұл препарат профилактикалық белсенділігін ұзақ уақыт сақтайды.

Кілттік сөздер: *Piroplasma bigemina*, вакцина, in vivo, in vitro

Summary

ATTENUATION PIROPLASMA BIGEMINA FIT FOR VACCINE ANTIPIROPLAZMOZY

Branch «South - Kazakhstan Scientific - Research Veterinary Station»

M. Kojabaev, B. Lesov, A. Kalaubaev

Data on creation of an antipiroplazmoz vaccine are provided in article for cattle of the bigemina made of R., allocated in the Southern Kazakhstan area. The experiments made in laboratory and the polekvykh conditions showed that a preparation harmless, areaktogenny and high-immunogene. In a cryogenic state the preparation keeps the preventive activity a long time.

Keywords: *Piroplasma bigemina*, vaccine, in vivo, in vitro

УДК 619:616.995

ПРОТОЗОЙНЫЕ БОЛЕЗНИ ЖИВОТНЫХ

С.О. Кадыров, Б.А. Шалабаев

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приведены данные распространении протозойных болезни животных и меры борьбы с ними.

Ключевые слова: штамм, трипаносомоз, токсоплазмоз, антиген, крыса

Введение В настоящее время представления о роли паразитических организмов в развитии различных заболеваний значительно изменились. Стало совершенно очевидным, что возбудители хронических и латентных (скрытых) инвазий (простейшие и гельминты) – далеко не безобидные обитатели организма, но паразитарные болезни продолжают оставаться серьезной угрозой для здоровья людей и животных. В борьбе с бактериальными, вирусными инфекциями наука добилась значительных успехов, тогда как многие проблемы в области паразитологии еще не решены.

К вопросам особой важности следует отнести отсутствие эффективных вакцин для профилактики паразитарных болезней, сложную экологию паразитов и особенности их передачи, резистентности к лекарственным препаратам и высокую токсичность последних. К числу хронических и латентных протозойных заболеваний относятся токсоплазмоз и трипаносомозы.

Для этих заболеваний характерно длительное течение без видимых внешних проявлений, тогда как их острые формы бывают скорее исключением. Однако при наступлении определенных условий (снижение резистентности организма хозяина, изменение внешних факторов и т.д.) может произойти изменение в отношениях между хозяином и паразитом, приводящее к явно выраженному заболеванию с клиническими проявлениями и иногда очень тяжелыми последствиями.

Токсоплазмоз – заболевание, вызываемое простейшим *Toxoplasma gondii* RH. Токсоплазм – единственный вид патогенных организмов, распространенных трансоционально, почти по всему земному шару, исключая лишь заполярные области.

По данным Всемирной организации здравоохранения в Западной Европе и Северной Америке инфицированность населения токсоплазмами составляет 25-50 %; Африке, Центральной и Южной Америке – 90 %; Великобритании в возрасте от одного до 10 лет заражено токсоплазмами – 10 % населения, до 20 лет – 20 %, более старшего возраста до 50 %, а в странах СНГ серологически положительно реагируют на токсоплазмоз до 50 % людей.

Токсоплазмоз – типичный зооантропоноз. Однако, основными хозяевами паразитов являются дикие и домашние животные, они – источник заражения как для себя подобных, так и для человека, который является реципиентом инвазии и в некоторых степени, ее тупиком. Некоторые исследователи полагают, что человек может быть источником болезни.

Кошки заражаются алиментарным путем при употреблении кормов и воды, зараженных какой-либо из 3 инвазионных стадий токсоплазм. Предпатентный период варьирует от 10 до 18 суток. В кишечнике кошки осуществляется также бесполое размножение – шизогония, в результате которой образуется внутри – и внеклеточные стадии – мерозоиты. Одна кошка может выделить от 14 до 260 млн ооцист токсоплазм.

Токсоплазма способна поражать клетки различных органов и тканей (печени, селезенки, легких, сердце и головной мозг), вызывая аборт, раннюю детскую смертность, слепоту и инвалидность детей. В животноводстве заболевание – причина мертворождений, абортов и рождения нежизнеспособного потомства. В борьбе с токсоплазмозом определяющая роль отводится своевременной диагностике заболевания.

Материалы и методы исследований Лабораторией паразитологии в ТОО «КазНИВИ» разработан диагностикум «Набор для диагностики токсоплазмоза животных в РСК/РДСК», позволяющий до 95 % выявлять больных животных и паразитоносителей на ранних стадиях болезни, что определяет успешную терапию. Экономический ущерб, причиняемый токсоплазмозом, очень значителен, так как токсоплазмоз - зооантропонозное заболевание, поражает людей и животных и является социально – опасным заболеванием.

Трипаносомные инвазии причиняют значительный экономический ущерб. По данным ВОЗ, население отдельных стран ежегодно недополучает животноводческой продукции на сумму более 750 млн. долларов. Эти страны расходуют огромные средства на проведение лечебно-профилактических мероприятий. Из трипаносомозов в Республике Казахстан, как и в некоторых странах СНГ, распространены случная болезнь лошадей и су-ауру верблюдов и лошадей. Случная болезнь лошадей регистрируется во всех регионах страны (Кызылординская, Южно-Казахстанская, Алматинская, Жамбылская и других областях) и в последнее время имеет тенденцию к повсеместному распространению.

По данным Международного эпизоотического бюро случная болезнь наблюдается во многих странах: России, Иране, Пакистане, Киргизии, Китае, Узбекистане, Эфиопии, Намибии, Лесото и Ботсване. Заболевание вызывается трипаносомой (*Trypanosoma equiperdum*), передающейся через половые пути при случке больных лошадей с здоровыми.

Случная болезнь (подседал, дурина) - хроническое заболевание, протекающее нередко бессимптомно или проявляющееся аборт, отеками вымени, препуция, мошонки, истощением, парезом и параличом лицевого и крестцовых нервов. Кроме лошадей, болеют ослы, мулы, лошаки. Возбудитель инвазий - трипаносома имеет веретенообразную форму с заостренными концами, покрыта мембраной (пелликулой), имеет ядро и все характерные включения. Отличительной особенностью трипаносомы является наличие жгутика, с помощью которого осуществляется движение паразита.

Возбудитель случной болезни - *Trypanosoma equiperdum* локализуется в капиллярах слизистой оболочки мочеполовых путей, иногда в крови, ее величина 1,5-2,0 x 20-30 мкм. Естественное заражение происходит при случке больных животных со здоровыми. Источником инвазии являются больные

животные и паразитоносители. Заражение возможно при искусственном осеменении и через предметы ухода, жеребята заражаются с молоком кобыл. При табунном содержании аборигенные лошади переболевают часто бессимптомно, иногда с проявлением отдельных клинических признаков. У беспородных лошадей болезнь протекает почти незаметно и выявляется при исследовании крови в РСК. Чистокровные лошади болеют очень тяжело, особенно в условиях стойлового содержания.

Возрастная восприимчивость лошадей неодинакова, так, 9,25% животных в возрасте от 2 до 3-х лет заболевают случной болезнью, от 3-х до 12 лет- 61,32 % и свыше 12 лет-21,34 %. Кровососущие насекомые в передаче случной болезни в естественных условиях практического значения не имеют.

Течение и симптомы болезни характеризуются периодичностью. Инкубационный период от 3-4 недель до 2-3 месяцев. В первом периоде болезни температура субфебрильная. Развивается отек препуция, мошонки, пениса у жеребцов, вымени, нижней части живота и вульвы у кобыл. При проводке отеки исчезают. На коже и на слизистой оболочке половых органов появляются узелки и язвочки, а на месте заживающих язвочек - белые пятна. Из влагалища выделяются слизистые, бесцветные или желтовато - кровянистые истечения. Слизистая оболочка влагалища гиперемирована, отечна, местами покрыта узелками и язвочками.

Во втором периоде болезнь отмечают исхудание, несмотря на сохранившийся аппетит. Больные кобылы abortируют через 1,5-2 месяца после инкубационного периода. Все местные патологические изменения, наблюдавшиеся в первом периоде болезни, сохраняются. Кроме того, периодически появляется кожная сыпь, и образуются кольцевидной формы отеки на коже (талерные бляшки). Последние быстро исчезают. Кожа становится чувствительной, лошади сопротивляются при чистке кожи скребницей и щеткой.

Постепенно заболевание переходит в третий период. У лошадей появляются парезы и параличи лицевого или тройничного, а также пояснично-крестцовых нервов. При одностороннем поражении лицевого нерва губа, ухо, веко соответствующей стороны отвисают. При парезах поясничной области развивается слабость зада, лошадь при ходьбе хромотает на обе конечности, приседает. При проводке эти симптомы исчезают. Слабость зада прогрессирует, исхудание нарастает. Животные погибают от истощения или сепсиса. Все периоды болезни не обязательно развиваются у животных. Чаще всего бессимптомным остается второй период. Болезнь протекает хронически (1-2 года), а у высокопородистых лошадей чаще в острой форме. От 30 до 50 %, а нередко и значительно больше, заболевших лошадей погибает, болезнь является настоящим бичом коневодства, нанося непоправимый ущерб экономике хозяйств и парализуя их работу. Существует мнение, подтвержденное мировой

практикой, что лечение случайной болезни дает лишь временный эффект и не позволяет полностью ликвидировать болезнь. Наиболее эффективным методом борьбы с заболеванием является убой больных и положительно реагирующих в серологических реакциях животных.

Заключение В связи с этим разработка и внедрение в практику эффективных диагностических препаратов очень актуальна на сегодняшний день. Исследования в этом направлении проводятся в ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт» и для ветеринарной практики разработаны диагностические препараты «Набор для серологической диагностики трипаносомозов животных», позволяющие эффективно и с высокой степенью достоверности выявлять в серологических тестах больных и паразитоносителей.

Литература

1. Керимбаев А.К., Торгаева А.Т. Распространение токсоплазма среди людей и животных // Юбилейный сб. науч. трудов КазНИВИ. - Алматы, 1996. – С. 37 – 40.

2. Торгаева А.Т., Ильгекбаева Г.Д. Эпизоотология токсоплазма плотоядных в г.Алматы // Проблемы научного обеспечения сельского хозяйства Республики Казахстан, Сибири и Монголии / Матер. 4-ой Международной научно-практической конференции, г.Улан-Батор, 2001, С. 300 – 301.

3. Ариджанов К.А. Протозойные болезни животных Узбекистана [Текст]. - Ташкент, 1966. - 277 с.

4. Георгиу Х. Испытание новых методов серологической диагностики трипаносомозов лошадей // Труды ВИЭВ. М. – 2010. – Т. 76. – С. 154 – 159.

5. Заболоцкий В.Т., Георгиу Х., Казаков Н.А., Белименко В.В., Скворцов В.Т., Ткаченко Ю.Г., Миносян В.Г. Усовершенствование методов диагностики терапии и профилактики бабезиоза собак, трипаносомоза лошадей и анаплазмоза рогатого скота. Труды ВИЭВ. М. – 2010. – Т. 76. – С. 166 – 171.

УДК 614:616.992.28.:636

Сведения об авторах:

Кадыров С. О. – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории паразитологии.

Шалабаев Б. А. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории паразитологии.

Түйін

ЖАНУАРЛАРДЫҢ ПРОТОЗОЛОГИЯЛЫҚ АУРУЛАРЫ

С.О. Кадыров, Б.А. Шалабаев

«Қазақ ғылыми – зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада жануарлардың протозологиялық ауруларының таралу жолдары мен алдын алу шаралары және онымен күресу туралы мәліметтер келтірілген.

Кілттік сөздер: штамм, трипаносомоз, токсоплазмоз, антиген, атжалман

Summary

ANIMAL PROTOZOAL DISEASES

S.O. Kadyrov, B.A. Shalabaev

LLP «Kazakh scientific - research veterinary institute»

In this article given data of animal protozoal diseases expansion and measurement of preventing it.

Keywords : shtam, trypanosome, toxoplasme, antigen, rat

УДК:619:616-002.22/.28

АНАЛИЗ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО БРУЦЕЛЛЕЗУ ЖИВОТНЫХ В КОСТАНАЙСКОЙ ОБЛАСТИ

Н.Ж. Кулмаганбетова, У.С.Тумурзин, А.Т. Жармагамбетов

«Костанайская научно - исследовательская ветеринарная станция» филиал
ТОО «КазНИВИ»

Резюме По области на 20 мая 2014 года процент заболеваемости бруцеллезом крупного рогатого скота составил 0,9 %, что на 0,3 % возросло чем было 2013 году 20 мая.

Проанализировав ситуацию в хозяйствах, комиссия выяснила что в хозяйствах остаются телята от больных животных, сданных на убой, так называемый шлейф, также не на должном уровне проводится санитарная очистка и дезинфекция помещений, животные пасутся на одних и тех же пастбищах, после удаления больных животных пастбища не сменяются.

Ключевые слова: эпизоотия, бруцеллез

Введение Современную эпизоотическую ситуацию по бруцеллезу следует особенно подвергнуть всестороннему анализу. Повышение качества информации о вспышках болезни, разработка единых методов систематизации, обобщения и изучения позволит раскрыть внешнюю сторону эпизоотического процесса бруцеллеза, его форму, закономерности, тенденции и особенности проявления, что позволит осуществлять контроль за факторами риска при бруцеллезной инфекции.

Материалы и методы исследований Основное поголовье сельхозживотных и птицы сосредоточено в частных подворьях. Проведение ветеринарно-профилактических мероприятий в 17 районах и 3 городах осуществляется согласно бюджетной программе 212 «Прикладные научные исследования в области агропромышленного комплекса» на 2012-2014 годы.

За отчетный период нами проведен сбор данных ветеринарной отчетности и обработаны первичные эпизоотические показатели, проводится изучение распространенности бруцеллеза в зависимости от качественных и количественных характеристик стад, структурных особенностей.

Анализ серологических исследований на бруцеллез на 20.05.2014 г. в разрезе районов показывает, что охват поголовья исследованиями неполный. Выделения реагирующих животных происходят во всех районах (таблица 1).

Таблица 1- Информация по бруцеллезу КРС в Костанайской области на 20 мая 2014 год согласно данным ГУ «Управление сельского хозяйства акимата Костанайской области»

№ п/п	Наименование районов, городов	Наличие поголовья	Исследовано	Выявлено больных	% заболеваемости
1	Алтынсаринский	18435	6536	27	0,4
2	Амангельдинский	29432	8704	243	2,8
3	Аулиекольский	47916	16486	92	0,6
4	Жангельдинский	35673	11634	310	2,7
5	Денисовский	44577	14638	179	1,2
6	Житикаринский	25000	7820	4	0,1
7	Камыстинский	22637	7833	99	1,3
8	Карабалыкский	26675	8915	55	0,6
9	Карасуский	40273	8915	236	2,6
10	Қостанайский	49056	17267	32	0,2
11	Мендыкаринский	35298	12352	64	0,5
12	Наурузумский	22326	9937	50	0,5
13	Сарыкольский	19476	6716	13	0,2
14	Тарановский	26381	8510	11	0,1

15	Узункольский	19455	6420	7	0,1
16	Федоровский	30655	13550	50	0,4
17	г. Аркалык	23026	11667	132	1,1
18	г. Костанай	2327	1277	12	0,9
19	г. Рудный	1870	452		0,0
20	г. Лисаковск	1365	590	4	0,7
Итого		521853	180219	1620	0,9
Было в 2013 году (на 20 мая)		408554	186076	1013	0,6

Как видно из таблицы 1 на 20 мая 2014 год запланировано к исследованию 521853 голов КРС, из них выделено 1620 головы положительно реагирующих животных (0,9%). Процент зараженности в сравнении с аналогичным периодом 2013 года повысился на 0,3%.

Таблица – 2 Информация о выявленных неблагополучных пунктах бруцеллеза животных по Костанайской области на 01.04.2014 год

№ п/п	Наименование района, сельского округа, населенного пункта или участка	№ и дата наложения каранти-на / огранич. меропр.	№ и дата снятия каранти-на / огранич. меропр.	Название болезни	Заболе-ло, голов	Пало/ Забито, голов	Уничто-жено, голов
1	Алтынсарински й район, с/о имени Ильяса Омарова, ТОО «Беляевка»	№ 1 от 20.01.2014г		Бруцеллез КРС	237	0/237	
2	Сарыкольский район, Златоустовский с/о, с. Златоуст, ТОО «Арыстан-ПК»	№ 3 Р от 21.01.2014г		Бруцеллез МРС	98	0/98	
3	город Аркалык, с.Матросово, к/х «Ырыздык	№ 1 от 21.02.2014г		Бруцеллез КРС	156	0/156	

Таблица 3 - Уровень заболеваемости населения Костанайской области по зооантропонозным инфекциям за январь-апрель 2014 года

№ п/п	Наименование районов, городов	Туберкулез		Бруцеллез		Эхинококкоз		Трихинеллез	
		абс. чис.	инт. пок.	абс. чис.	инт. пок.	абс. чис.	инт. пок.	абс. чис.	инт. пок.

1	Алтынсаринский	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
2	Амангельдинский	6	34,8	0	0,0	0	0,0	0	0,0
3	Аулиекольский	10	21,6	0	0,0	1	2,2	0	0,0
4	Денисовский	5	24,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
5	Жангельдинский	1	6,9	0	0,0	0	0,0	0	0,0
6	Житикаринский	7	13,8	0	0,0	0	0,0	0	0,0
7	Камыстинский	4	27,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0
8	Карабалыкский	5	16,8	0	0,0	0	0,0	0	0,0
9	Карасуский	6	21,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0
10	Қостанайский	16	23,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0
11	Мендыкаринский	7	22,8	0	0,0	1	3,3	0	0,0
12	Наурузумский	5	39,5	0	0,0	0	0,0	0	0,0
13	Сарыкольский	6	25,5	0	0,0	2	8,5	0	0,0
14	Тарановский	8	28,8	0	0,0	0	0,0	0	0,0
15	Узункольский	7	29,1	0	0,0	1	4,2	0	0,0
16	Федоровский	6	21,9	0	0,0	0	0,0	0	0,0
17	г. Костанай	72	33,1	0	0,0	2	0,9	0	0,0
18	г. Лисаковск	7	17,1	0	0,0	0	0,0	0	0,0
19	г. Рудный	38	29,7	0	0,0	1	0,8	0	0,0
20	г. Аркалык	19	46,6	0	0,0	1	2,5	0	0,0
Итого		235	26,71	0	0,0	9	1,0	0	0,0

Заключение проанализировав ситуацию в хозяйствах, выяснили ряд общих факторов способствующих возникновению и распространению бруцеллеза среди сельскохозяйственных животных:

1. В сельхоз формированиях и частных подворьях идет передержка положительно реагирующих животных на бруцеллез и туберкулез КРС и МРС;
2. В хозяйствах остаются телята от больных животных, сданных на убой, так называемый шлейф;
3. Животные пасутся на одних и тех же пастбищах, после удаления больных животных пастбища не сменяются.
4. Животные пасутся на одних и тех же пастбищах совместно КРС и МРС
5. Не на должном уровне проводится санитарная очистка помещений владельцами животных, а в некоторых случаях и вовсе не проводится из за метода содержания животных (отгонное скотоводство);
6. Навоз вовремя не вывозится, скапливается и, в половодье животные пьют воду из луж, в которые стекает навозная жидкость, тем самым перезаражая контактирующий скот;
7. Исследования телят начинают с 6- месячного возраста, поэтому больные телята младше этого возраста остаются в хозяйстве незамеченными и являются очагом инфекции;

8. Ветеринарно-санитарное состояние некоторых животноводческих ферм находится не на должном уровне (отсутствуют сан. пропускники, нет дез. барьера, персонал не укомплектован спец. одеждой, не проводятся санитарные дни, помещения животноводческих ферм не соответствуют зоогигиеническим требованиям и т.д.)

9. Острая нехватка ветеринарных специалистов в сельской местности.

10. Не проводится дератизация животноводческих помещений.

11. Животные принадлежащие частному сектору передвигаются без контрольно, а в некоторых случаях заходят на территорию фермы

12. Территория животноводческих хозяйств не огорожена либо не оканавлена.

13. Не на должном уровне проводится разъяснительная работа среди населения о мерах профилактики зооантропонозных заболеваний.

14. Имеются случаи без контрольного передвижения животных и продуктов животного происхождения

15. Имеются случаи проведения подворного убоя животных для собственных нужд в сельской местности

16. Не на должном уровне проводится процедура идентификации сельскохозяйственных животных

Литература

1 Анализ риска в ветеринарии: принципы и методология.- Владимир: ОКНИИиМС, 2001.-С. 7-9

2 Белов Л.Г. Современные принципы доказательной диагностики инфекционных болезней в ветеринарии // Теоретическая эпизоотология. Лекционный курс). - Ульяновск.-2005.-С. 121-123.

3 Хусаинов Д.М.. Некоторые проблемы ветеринарного обеспечения животноводства в современных условиях // Ветеринария. №1. Алматы, 2008. - С. 47.

4 Ветеринарно-санитарные и санитарно-эпидемиологические правила по профилактике и борьбе с заразными болезнями, общими для человека и животных (бруцеллез). – Астана, 2004.

Түйін

ҚОСТАНАЙ ОБЛЫСЫ БОЙЫНША МАЛДАР БРУЦЕЛЛЕЗІНІҢ ЭПИЗОТИЯЛЫҚ ЖАҒДАЙЫН ТАЛДАУ

Н.Ж.Құлмағанбетова, У.С.Тумурзин, А.Т. Жармағамбетов

«Қостанай ғылыми - зерттеу ветеринария станциясы» филиалы
«Қазақ ҒЗВИ» ЖШС

Орташа есеппен алғанда облыс бойынша 20 мамыр 2014 жылға ірі қара мал бруцеллез ауруының жұғу пайызы 0,9% құрады, яғни өткен жылға қарағанда 0,3%-ға көтерілгенін байқаймыз.

Мәселені талдай отырып шаруашылықтан союға шыққан ауру малдардан қалған төлдер, қораның дезинфекциялануы мен санитарлық тазартылуы төмен дәрежеде өткізілуі, сондай-ақ, ауру малдарды жойғаннан кейін, жайылымдар ауыстырылмай, сау малдардың сол жерде жайылып қала беруінің нәтижесінде ауру малдардың көбею санын комиссия анықтады.

Кілттік сөздер: індет, бруцеллез

Summary

ANALYSIS OF EPIZOOTIC ANIMAL BRUCELLOSIS IN KOSTANAI REGION

N. Zh.Kulmaganbetova, U.S.Tumurzin, A.T. Zharmagambetov

«Kostanai scientific-research veterinary station » branch LLP «Kazakh scientific and research veterinary Institute »

The area on May 20, 2014 the percentage of brucellosis in cattle was 0.9%, which is 0.3% increase in 2013 than it was on May 20.

After analyzing the situation on the farms, the Commission has found that the farms remain calves from diseased animals surrendered to the slaughter, the so-called loop, also held at the proper level sanitation and disinfection of premises, animals grazing on the same pastures, after removal of diseased animals grazing do not change.

Keywords: epizootic, brucellosis

УДК 579.222:579.264:579.67

ПРОТИВОГРИБКОВАЯ АКТИВНОСТЬ МОЛОЧНОГО НАПИТКА КГ С ЗЕРНОБОБОВЫМИ ДОБАВКАМИ

Т.В. Кузнецова, М.Г. Саубенова, А.А. Айтжанова, Б.А. Кулназаров, М.Е.
Елубаева

Резюме Исследовано влияние зернобобовых добавок на антагонистическую активность молочного напитка, созданного на основе ассоциации КГ. Показано, что противогрибковая активность напитка как в отношении мицелиальных грибов, так и дрожжей рода *Candida* повышается при добавлении пшена и фасоли.

Ключевые слова: ассоциация, антагонистическая активность

Введение Возрастающий во всем мире интерес к кисломолочным продуктам с пробиотическими свойствами обусловлен тем, что микроорганизмы, содержащиеся в них, выполняют защитную и детоксицирующую функцию в биологическом организме. Многочисленными исследованиями показано, что регулярное потребление в пищу таких продуктов приводит к укреплению здоровья: повышению защитных сил организма, улучшению общего состояния как здоровых, так и послеоперационных пациентов, быстрому восстановлению нормальной микрофлоры в кишечнике, лечению острых кишечных инфекций, колитов и других заболеваний [1-3]. Особенно эффективны молочнокислые микроорганизмы для профилактики желудочно-кишечных заболеваний у людей и животных. Многолетние клинические наблюдения за лечебной и профилактической эффективностью пробиотиков на основе представителей молочнокислых микроорганизмов показали, что они не обладают побочными эффектами при длительном их применении. Неудовлетворительное состояние здоровья населения нашей страны и положительный эффект действия пробиотиков способствуют интенсивному развитию направления по созданию продуктов и препаратов с пробиотическими свойствами [4-6].

Материалы и методы исследований Для исследования противогрибковой активности был взят молочнокислый напиток КГ, созданный с использованием, составленной нами ранее ассоциации КГ (кефирный гриб) молочнокислых микроорганизмов, в состав которой входят молочнокислые бактерии *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacterium bulgaricus* и лактозосбраживающие дрожжи *Saccharomyces lactis*, выделенные из домашних молочнокислых продуктов, производимых в Алматинской области. Напиток создан на основе 1,5% молока с добавлением сахара (5%), молочной закваски (5%). Время приготовления напитка 18 ч при 30°C. В качестве тестовых культур взяты дрожжи *Candida albicans* и *C. guilliermondii*, два изолята мицелиального гриба *Penicillium sp.1*, *P. sp.3*, выделенных в качестве засорителей из молочнокислых продуктов, две культуры мицелиальных грибов, изолированных при дисбиозах кишечника человека и полученных из ТОО «Нутритест»: *Penicillium lanoso-viride*, *P. notatum*.

Для определения влияния различных растительных добавок на антагонистическую активность напитка были использованы добавки из зерновых и бобовых культур (маш, нут, овес, фасоль, пшено). Семена предварительно проращивали при комнатной температуре, сушили, размалывали до однородной консистенции и вносили в обезжиренное молоко в количестве 3%.

Антагонистическую активность напитка определяли диффузионным методом лунок. Молочный напиток с добавками вносили в лунки диаметром 10 мм, подготовленные в газоне тест-культуры, в количестве 0,3 мл. Культивировали при 30°C в течение 1-2 суток для дрожжевых тест-культур и 5-7 суток для культур мицелиальных грибов.

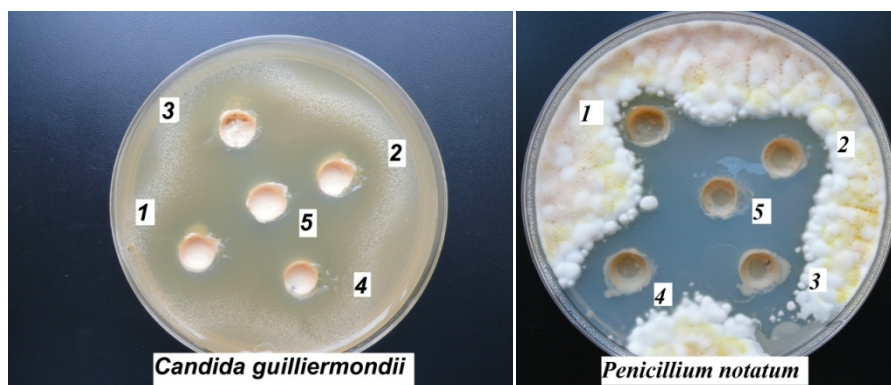
Статистическую обработку результатов исследований проводили по стандартной методике с использованием критерия Стьюдента для уровня значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение Исследовано влияние зернобобовых добавок на антагонистическую активность молочного напитка КГ. В результате исследования выявлено, что все добавки (маш, нут, овес, фасоль, пшено) повышают активность напитка. Если напиток в контроле проявлял невысокую активность в отношении всех тест-культур, и зоны подавления их роста составляли 15-18мм, то при введении добавок зоны увеличивались до 16-26мм (6-56%). Влияние растительных добавок на противогрибковую активность напитка представлено в таблице 1.

Таблица 1 - Влияние различных добавок зерновых и бобовых культур на противогрибковую активность молочного напитка КГ

Добавки	Тест-культуры					
	Дрожжи рода <i>Candida</i>		Мицелиальные грибы			
	(зоны подавления роста, мм 30°C)					
	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida guilliermondii</i>	<i>Penicillium lanoso-viride</i>	<i>Penicillium notatum</i>	<i>Penicillium sp.1</i>	<i>Penicillium sp.3</i>
Контроль	17±3	16±1	18±3	15±1	16±2	15±1
Маш	20±1	22±2	20±3	16±2	23±1	17±3
Нут	22±2	21±1	23±3	20±1	22±2	16±3
Овес	20±3	22±3	24±1	22±1	21±4	15±2
Фасоль	25±2	21±2	25±4	22±2	22±2	17±1
Пшено	26±4	25±3	25±1	23±4	23±1	18±3

Активность напитка с зернобобовыми добавками увеличилась по отношению к дрожжам рода *Candida* от 17% (маш) до 56% (пшено), а к тест-культурам мицелиальных грибов от 6% (нут) до 53% (пшено). Из всех проверенных вариантов наилучшими антагонистическими свойствами ко всем исследуемым тест-культурам (16-56%) обладал напиток с добавлением пшена и фасоли (рисунок 1).



1- маш, 2 - нут, 3 – овес, 4 – фасоль, 5 – пшено

Рисунок 1 – Антагонистическая активность молочного напитка КГ

Таким образом, экспериментальные исследования позволили определить, что противогрибковая активность молочного напитка КГ в отношении мицелиальных грибов и дрожжей рода *Candida* повышается при добавлении пшена и фасоли. Дальнейшие исследования будут направлены на разработку рецептур новых столовых продуктов с противогрибковой активностью на основе молока с добавлением молочной сыворотки для улучшения органолептических показателей нового столового продукта.

Литература

1. Ганина В.И. Пробиотики. Назначение, свойства и основы биотехнологии: Монография. М.: МГУПБ, 2001. – 169 с.
2. Гуринович Г.В., Кудряшов Л.С., Патракова И.С. Пробиотики и пробиотические продукты. – М.: Изд-во ВНИИМП, 2002. – 86 с.
3. Данилов М.Б. Теоретические и практические основы производства пробиотических продуктов с использованием β -галактозидазы и эубиотиков: монография. – Улан-Удэ: Изд-во ВСГТУ, 2003. – 144 с.
4. Ганина В.И., Большакова Е.В. Действие пробиотических продуктов на возбудителей кишечных инфекций // Молочная промышленность. – 2001. - № 11. – С. 47-48.
5. Гуринович Г.В. Биотехнологические способы производства продуктов повышенной пищевой ценности: Монография. Кемеровский технологический институт пищевой промышленности. – Кемерово, 2002. – 135 с.
6. Тихомирова Н.А. Технология продуктов функционального питания М.: ООО «Фронтэра», 2002. – 213 с.

Сведения об авторах:

Кузнецова Татьяна Валерьевна - и.о. заведующая лабораторией РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, raduga.30@mail.ru

Саубенова Маргарита Габбасовна - доктор биологических наук, профессор, РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, physiol_lab@bk.ru

Айтжанова Аида Асылбековна - младший научный сотрудник РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, physiol_lab@bk.ru

Кулназаров Батыр Абдикаримович - младший научный сотрудник, РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, physiol_lab@bk.ru

Елубаева Макпал Елубаевна - младший научный сотрудник, РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, physiol_lab@bk.ru

Түйін

АСТЫҚ ЖӘНЕ БҰРШАҚ ТҰҚЫМДАСТАРЫ ҚОСПАЛАРЫ ҚОСЫЛҒАН СҮТ СУСЫНЫНЫҢ КГ САҢЫРАУҚҰЛАҚҚА ҚАРСЫ БЕЛСЕНДІЛІГІ

Т.В. Кузнецова, М.Г. Саубенова, А.А. Айтжанова, Б.А. Кулназаров, М.Е. Елубаева

РМК «Микробиология және вирусология институты» ҚР БҒМ ҒК

КГ ассоциациясы негізінде жасалған астық және бұршақ тұқымдастары қоспаларының сүт сусынының антагонистік белсенділігіне әсері зерттелді. Сусынның саңырауқұлақ пен *Candida* туыстарының ашытқыларына қарсы антагонистік белсенділігін тары мен үрмебұршақ қоспалары жоғарылататындығы анықталды.

Кілттік сөздер: ассоциация, антагонистік белсенділік

Summary

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF MILK BEVERAGE KG WITH ADDITIVES OF LEGUMINOUS

T.V. Kuznetsova, M.G. Saubenova, A.A. Aitzhanova, B.A. Kulnazarov, M.E. Elubaeva

Republic State Enterprise «Institute of Microbiology and Virology» Science Committee, Ministry of Sci. and Ed., Republic of Kazakhstan

Investigated the effect of legumes supplements on antagonistic activity of milk drink which is made on base of association KG. It is shown that the antifungal activity against both beverage filamentous fungi and yeasts of the genus *Candida* is increased by adding wheat and beans.

Keywords: association, antagonistic activity

УДК 619.5 (574)

ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АССОЦИИРОВАННОЙ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ГРИППА ПТИЦ И БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА

Л.Б. Кутумбетов, З.Ж. Даутпаева, Б.Ш. Мырзахметова, Л.О. Жантелиева

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приведены иммунобиологические свойства ассоциированной инактивированной вакцины против гриппа птиц и болезни Ньюкасла.

Ключевые слова: вирус, ассоциированная вакцина, грипп птиц, болезнь Ньюкасла

Введение Республика Казахстан имеет развивающуюся птицеводческую отрасль с высоким потенциалом производства валовой продукции, которой может полностью обеспечить отечественный рынок продовольствия. Полноценному развитию этой отрасли негативное влияние оказывают ряд факторов, в числе которых инфекционные болезни вирусной этиологии. Наиболее опасными из них являются высокопатогенный грипп птиц и болезнь Ньюкасла. Обе эти болезни согласно эпизоотологической классификации МЭБ относятся к ряду особо опасных.

Отечественные птицеводы для профилактики болезни Ньюкасла применяют импортные вакцины, приготовленные в моно и ассоциированных с другими вакцинами, вариантах. Для профилактики гриппа используют моновакцину отечественного производства, предназначенную для защиты только от гриппа, вызываемого подтипом H5N1. [1].

Ассоциированные вакцины уменьшают трудоемкость процесса вакцинации и сокращают сроки формирования иммунитета у привитой птицы сразу против нескольких инфекционных болезней [2]. Такие вакцины, стимулирующие иммунитет против особо опасных болезней птиц, таких как

грипп птиц и болезнь Ньюкасла, в Республике Казахстан не разработаны. И исследования в этом направлении, в стране, не проводятся [3].

Целью настоящей работы являлась разработка технологии изготовления ассоциированной инактивированной вакцины против гриппа птиц и болезни Ньюкасла.

Материалы и методы исследований Культивирование вирусов болезни Ньюкасла, гриппа птиц проводили в РКЭ и культуре фибробластов этих эмбрионов 10-11-суточного возраста. Фибробласты куриных эмбрионов получали путем первичной трипсинизации 10-11-суточных РКЭ в колбах (ГОСТ 20292–74) с помощью магнитной мешалки (ТУ 25-11.834-80) в 0,25% растворе трипсина (ФСП 42-0343-3805-03). Клетки выращивали и поддерживали стационарным способом с использованием питательной среды ИГЛА-МЕМ (ФСП 42-0343-3543-02), содержащей 10% сыворотки крови крупного рогатого скота. Для промывки монослоя клеток и регулирования рН среды использовали раствор Хенкса (ФСП 42-0343-3541-02) и бикарбоната натрия (ТУ 1900 РК 38661483-ТОО-027-2005).

Биологическую активность вирусов определяли титрованием в РКЭ и культуре клеток ФКЭ. В качестве биомассы вирусов использовали экстраэмбриональную жидкость РКЭ, в которых репродуцировали возбудитель, а при культивировании вируса в культуре клеток ФКЭ - культуральную суспензию, полученную при развитии ЦПД в монослое до 80% и более - после однократного замораживания и размораживания. Антигенную активность по гемагглютинирующую способность устанавливали титрованием в РГА. Патогенность возбудителей оценивали на восприимчивой биомодели по их заболеваемости и гибели. Инфекционную активность или вирулентность вирусов устанавливали титрованием в чувствительной биосистеме. Инфекционную активность вирусов инактивировали формальдегидом, концентрировали гелем ГОА.

Эффективные методы культивирования вирусов разрабатывали путем определения необходимых для этого параметров.

Оценку чистоты исследуемых биоматериалов от посторонних микологических и бактериальных контаминантов осуществляли согласно требованиям ГОСТ 28085.

Результаты и обсуждение Для изготовления экспериментальной серии ассоциированной вакцины против ГП и БН инактивированной сорбированной использовали биомассу вирулентных вирусов с титром $10^{8,0}$ - $10^{9,5}$ ЭИД₅₀. Указанную вирусную суспензию каждого возбудителя обрабатывали формальдегидом в конечной концентрации 0,05% при температуре 37 °С в течение 48 ч, затем, после отбора проб на испытание полноты инактивации, их объединяли в равных объемных соотношениях и добавляли гель ГОА в конечной концентрации 1% по отношению к общему объему инактивированной вирусной суспензии. Суспензию тщательно перемешивали и оставляли в течение

24 ч при температуре 4-6 °С для сорбции вирусов на частицах геля ГОА. По истечению заданного времени суспензию вируса в смеси с гелем ГОА использовали за инактивированную сорбированную вакцину против ГП и БН. Компонентный состав приготовленной вакцины приведен в таблице 1.

Таблица 1 – Компонентный состав ассоциированной вакцины против ГП и БН

Вакцина, наименование	Объем инактивированной вирусной суспензии, см ³		Количество геля 5% ГОА	Объем вакцины, см ³
	ГП	БН		
Ассоциированная инактивированная сорбированная против ГП и БН	80	80	40	200

Как видно из данных таблицы 1, для приготовления ассоциированной вакцины, депонированной с помощью геля ГОА в конечной концентрации 1% к общему объему вакцины, были использованы суспензии вирусов ГП и БН по 80 см³ и гель 5% ГОА в количестве 40 см³. Объем полученной таким образом вакцины составил 200 см³. Внешний вид препарата представлял однородную суспензию водянисто белого цвета не содержащую посторонних механических примесей и хлопьев, которая при хранении образует в верхней части прозрачный водянистый слой.

Подбор и разработка способов стандартизации и иммунобиологических свойств вакцин, является важным звеном в их разработке, производстве и применении по назначению. Инактивированная вакцины против вирусных болезней согласно требованиям МЭБ стандартизируются по параметру стерильности в отношении посторонних контаминантов, безвредности и реактогенности в отношении объектов, для которых предназначены, а также и иммуногенной эффективности.

Результаты испытания стерильности по ГОСТУ 28085 приготовленной вакцины приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты высева проб вакцины на питательные среды

Исследуемая проба	Микробиологические питательные среды для высева					
	МПА	МПБ		Сабуро	МППБ под вазелином	
	Пасс. №1	Пасс. №1	Пасс. №2	Пасс. №1	Пасс. №1	Пасс. №2

Вакцина ассоциированная инактивированная против ГП и БН	(3) ---	(3) ---	(3) ---	(3) ---	(2) --	(2) --
Примечание: В скобках количество образцов питательной среды в пробирках и флаконах, использованных для высева вакцины; «-» - рост микрофлоры отсутствует.						

Как видно из данных таблицы 2, во всех использованных микробиологических питательных средах, в которые были высеяны образцы ассоциированной вакцины, рост микроорганизмов бактериального и грибкового происхождения отсутствовал. Полученные данные свидетельствуют о чистоте образцов испытуемой вакцины против ГП и БН от посторонних микробиологических контаминантов. Исходя из полученных результатов образцы, приготовленной вакцины, считались стерильными и подвергнуты стандартизации по другим параметрам.

В этих исследованиях использовали по оценке безвредности цыплят 30-суточного возраста не содержащих в организме антител против вируса ГП и БН. Для гарантированной стандартизации вакцины по безвредности использовали препарат в дозе не менее чем 3-кратно завышенной (1,5 см³) по сравнению с иммунизирующей (0,5 см³). Вакцину вводили подкожно в области основания крыльев с помощью одноразовых шприцев. За привитыми цыплятами вели ежедневное клиническое наблюдение в течение 14 суток, регистрируя возможные клинические и физиологические отклонения в организме. Вакцину считали безвредной, в случае отсутствия каких либо патологий в общем состоянии привитых цыплят и в месте введения препарата в течение наблюдаемого периода. Результаты проведенных исследований приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Клиническое состояние привитых и контрольных цыплят

Испытуемый препарат	Испытуемый параметр	Цыплята в испытании, гол	Показатели оценки параметра испытания		
			Заболело, гол	Пало, гол	Выжило, гол
Против ГП и БН	Безвредность	8	0	0	8

Как видно из данных таблицы 3, среди цыплят, привитых ассоциированной вакциной против ГП и БН в завышенной 3-кратно дозе, в течение всего наблюдаемого периода не было отмечено заболевших и павших. Все 8 цыплят оставались здоровыми и живыми. Полученные результаты испытаний свидетельствуют о том, что приготовленная ассоциированная вакцина является безвредной для цыплят.

Следующим этапом стандартизации являлось установление иммуногенности и реактогенности вакцины. Для этого вакциной в объеме 0,5 см³ иммунизировали подкожно в области основания крыльев 30 цыплят не иммунных против гриппа и болезни Ньюкасла 35-суточного возраста. Привитых и 20 других, не вакцинированных цыплят аналогичного возраста, которым вместо вакцины ввели физиологический раствор, содержали отдельно в течение 21 сутки, ежедневно наблюдая за их клиническим состоянием и местом инокуляции препарата. По результатам клинического исследования заключали о реактогенности использованного экспериментального образца препарата.

Для заключения об иммуногенности испытуемой вакцины на 21 сутки 15 цыплят, привитых вакциной, и 10 не привитых заражали вирулентным вирусом БН в дозе 10^{4,5} ЛДЦ₅₀, оставшиеся 15 вакцинированных и 10 не привитых цыплят заражали вирулентным вирусом ГП в дозе 10^{4,0} ЛДЦ₅₀. За зараженной птицей вели ежедневное клиническое наблюдение, фиксируя в каждой группе заболеваемость и летальность, по значениям, которых заключали об иммуногенности вакцины. Результаты определения иммуногенности вакцины приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты заражения цыплят вирулентными вирусами ГП и БН

Испытуемая вакцина	Количество цыплят, гол	Реакция привитых цыплят в течение 21 сутки	Контроль -ный вирус	Количество зараженных цыплят, гол	Результаты заражения цыплят вирулентными вирусами		
					Заболело (гол.)	Пало (гол.)	Выжило (гол.)
Против ГП и БН	30	-	ГП	15	0	0	15
			БН	15	0	0	15
Контроль (плацебо)	20	-	ГП	10	9	9	1
			БН	10	10	10	0

Как видно из данных таблицы 4, в течение первых 21 сутки, в общем и местном клиническом состоянии привитых и не привитых цыплят не были обнаружены какие либо изменения. Все 30 цыплят, привитых вакциной, остались полностью здоровыми и живыми в течение 14 суток после заражения вирулентными вирусами ГП и БН, тогда как все 10 контрольных цыплят, зараженных вирусом БН и 9 из 10 аналогичных цыплят, зараженных вирусом ГП, заболели и пали в течение 5-7 суток после инокуляции им вирулентных возбудителей.

Заклучение Результаты проведенных исследований свидетельствует о том, что приготовленная ассоциированная вакцина против ГП и БН является безвредным клинически не реактогенной и обладает способностью создать напряженный иммунитет у привитой птицы.

Литература

1 Кутумбетов Л.Б., Кульбаева К.Р. Сравнительная оценка патогенности разных подтиповых вариантов вируса гриппа птиц. Теория и практика борьбы с болезнями животных в Казахстане. - Алматы.- 2008.-С.264-267.

2 Бочарников А.В. Средства специфической профилактики особо опасных болезней птиц //Автореферат дисс. докт. - Владимир, 2004. -47 с.

3 Коротецкий И.С., Богоявленский А.П., Прилипов А.Г. и др. Вирус болезни Ньюкасла, выделенный в популяциях домашних птиц на территории Казахстана в 2005 г. // Актуальные проблемы микробиологии и вирусологии. Материалы Международной конференции, посвященной к 80-летию академика НАН РК АН А.Н.Илялетдинова. - Алматы. -2009. -С.260-266.

Сведения об авторах:

Кутумбетов Л.Б. - доктор ветеринарных наук, доцент, заведующий отделом вирусологии ТОО «КазНИВИ»

Даутпаева З.Ж. - кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела вирусологии ТОО «КазНИВИ»

Мырзахметова Б.Ш. - кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела вирусологии ТОО «КазНИВИ»

Жантелиева Л.О. – младший научный сотрудник отдела вирусологии ТОО «КазНИВИ»

Түйін

ҚҰС ТҰМАУЫ МЕН НЬЮКАСЛ АУРУЛАРЫНА ҚАРСЫ ҚОСПАРЛАНҒАН БЕЛСЕНДІЛІГІ ЖОЙЫЛҒАН ВАКЦИНАНЫҢ ИММУНДЫ БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРІ

Л.Б.Кутумбетов, З.Ж.Даутпаева, Б.Ш. Мырзахметова, Л.О.Жантелиева
«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада құс тұмауы мен Ньюкасл ауруларына қарсы қоспарланған және белсенділігі жойылған вакцинаның иммундыбиологиялық қасиеттері жарияланған.

Кілттік сөздер: вирус, қоспарлы вакцина, құс тұмауы, Ньюкасл ауруы

Summary

L.B.Kutumbetov, Z.Zh.Dautpaeva, B.Sh.Myrzakhmetova, L.O.Zhanteliyeva

THE IMMUNOBIOLOGICAL PROPERTIES OF ASSOCIATED INACTIVATED VACCINE AGAINST AVIAN INFLUENZA AND NEWCASTLE DISEASE

“Kazakh scientific-research veterinary institute” LLP

In the article given immunobiological properties of associated inactivated vaccine against avian influenza and Newcastle disease.

Keywords: infectious bursal disease, vaccine, harmless, immunogenety, Newcastle disease

ӘОЖ 614:616.992.28.:636

ШЫҢЖАҢ ҚАБА АУДАНЫНДАҒЫ СҮТТІ СИЫРЛАРДЫҢ ЖЕЛІНСАУЫ (МАСТИТ) АУРУЫН БАЛАУ, ЕМДЕУ ЖӘНЕ АЛДЫН АЛУ ШАРАЛАРЫ

Мұқайұлы Жәніс, мал дәрігер

Шыңжаң Қаба ауданы мал дәрігерлік пункты, ҚХР

Түйін Мақалада сүтті сиырларда жиі кездесетін желінсау қабыну процесстерін балау, оны емдеу және алдын алу шаралары туралы мәліметтер келтірілген.

Кілттік сөздер: желінсау, сиырлар, эшерихиялар, стрептококктар

Қаба ауданы мал шаруашылығы, егін шаруашылығымен шұғылданады. Кейінгі жылдары мүйізді ірі қара малын асылдандырып, ет, сүт өнімін өндіруге бетбұрыс жасады, соның нәтижесінде ауданымыздағы жалпы мүйізді ірі қара мал саны 110 мың басқа (мұның ішінде 40 мыңнан астамы сүтті бағыттағы сиырлар) жетті, бірақ сүт бағытындағы сиырларда өте көп кездесетін аурудың түрі желінсау ауыруы, ол үнемі сүт өндірісіне үлкен экономикалық шығын келтіруде.

Желінсау ауыруы – сүт безі жапырақшаларының дәнекер аралық торшаларының немесе сүт безінің қабынуы мен сипатталатын және сиырлардың сүт беру кезіндегі үнемі кездесетін аурулардың бірі. Әдетте сүтті сиырларда 20% - 60% мөлшерінде кездеседі. Бұл тек сүт өндірісіне экономикалық зиян тудырып ғана қоймай сүттің сапасымен адамдардың денсаулығына да зиян тигізеді. Сиырлардың желінсау ауруын тудыратын қоздырғыш әртүрлі микроорганизмдер, оларға бактериялар, саңырауқұлақтар, вирустың 80-нен астам түрі, оның ішінде 14 түрлі бактерия, 2 түрлі микоплазма және вирустар мен саңырауқұлақтардың түрлері бар.

1. Желіні қабынған сиырлардың сүтінде эшерихия мен стрептококктар көп кездеседі.

(1) Стрептококктар желінсау ауруын тудырғанда аурудың алғашқы белгілері байқалмайды немесе анық болмайды, көп жағдайда жай сипатты болады, ақыры желіннің солып қалуымен аяқталады.

(2) Эшерихияда сүтті сиырлардың сүт беруінің жоғарғы кезеңінде пайда болады және ауру жіті түрде өтеді, ауру барысы қысқа болады.

2. Микоплазмада (*Mycorlasma*) сиырдың көгергіш денешіктерден болған желін қабынуы жұқпалы болады, желіні ісінеді, ауырсынады, бірақ температура болмайды, сүт беру қабілеті тұрақсыз белгілері болады.

3. Саңырауқұлақтарда (грибы) Кандида, Криптококк қатарындағылар желінсау ауруын тудырады, бірақ көп кездеспейді, ауру ақырындап тарайды.

4. Вирустар (герпес вирусы, қанды шешек вирусы, аусыл вирусы) қатарында осылар, бұлар алғашқыда желін бөлімінің терілерінде бөріткен немесе сулы бөріткен тәрізді пайда болып, кейін басқа бактериялармен бірігіп желін қабынуын тудырады.

Бұл себептерден басқа ауа райы, орта тазалығы, азықтың құрамы және тұқым қуалаушылық факторлары желінсау ауыруына шалдығуына себепші болады.

Аурудың клиникалық белгілері: сүті сиырлардың желінсау ауыруы ашық және жасырын болып екі түрге бөлінеді. Ашық түрінде ауыру белгілері айқын болады, ауырған сиырдың желіні қызарып ісініп қатайады, қолмен ұстап тексергенде айқын білінеді.

Сүт беруі азайып, сапасы өзгереді. Кейде сүтке қан араласып қызғылт түске өзгереді. дене температурасы 40°C жоғары болып, азыққа тәбеті азаяды немесе тоқтайды, күйі нашарлап кейде сүтінде іртік пайда болады.

Жасырын түрінде жалпы айтқанда денелік ауыру белгілері көрінбейді. Жайшылықта көзбен көргенде сиырдың желінімен сүтінде қалыпсыздық байқалмайды.



Сурет 1 - желінсау ауруының клиникалық белгілері: желіннің жедел қабынуы, қызарып іскендігі және желін терісінің қарайып бузылғандығы байқалады

Желінсауды балау Бұл мақалада негізінен желінсаудың жасырын түрін балау зерттелген.

1. Сүттің РН көрсеткішін анықтау: бром тимол көк сынағы, сынақ қоспасын дайындау үшін 500 мл 47% спирт, 1.0g бром тимол көк және 1.3-1.5ml 5% NaOH үшеуін араластырсақ дайындаған сынақ қоспасының түсі көкке өзгеріп, РН көсеткіші 7.0 болады. Тексеруге дайындалған сүттен 5.0 мл алып, оған жоғарыдағы дайындалған ерітіндіден 1.0 мг құйып араластырып түс өзгерісін бақылаймыз, сары түске өзгерсе ($\text{РН} < 6.5$) қалыпты, сүт жасыл түске өзгерсе ($\text{РН} = 6.6$) күманді, ал көк түске өзгерсе оң реакция болғаны яғни сиыр желінінде қабыну процессінің жүріп жатқанын көрсетеді.

2. Сүттің құрамындағы хлорлы қосылыстарды тексеру арқылы сиыр желінінде қабыну процессінің бар жоқғын анықтау.

Дайындалатын дәрілер: бірінші 1.3415 гр азот қышқылды күміс, 1000 мл дистилденген су; екінші 10 гр хром қышқылды кали, 100 мл дистилденген су, екі түрлі ерітінді жасалады тексеруге дайындалған сүттен 1,0 мл алып, оған бірінші ерітіндіден 5,0 мл қосып араластырып оның үстіне екінші ертіндіден екі тамшы қосып араластырып түс өзгерісін бақылаймыз егер күлгін түске өзгерсе қалыпты болады ал сары түске өзгерсе онда хлорлы қосылыстар бар болғаны, яғни, сиыр желінінде қабыну процессінің бар екендігін білдіреді.

3. Сүттің құрамындағы денелік клеткаларды тексеру арқылы сиыр желінінде қабыну процессінің бар жоғын анықтау.

Сынақ дәрілерін дайындау: NaOH 15 гр, 30 гр Алкилды күкрт қышқылды натрий, 0,1 гр крезол күлгіні, 1000 мл дистилденген су, осы заттардан қоспа ертіндісін жасаймыз, тексеретін сүттен 2,0 мл алып оған дайындаған ерітіндіден 2,0 мл қосып араластырып түсінің өзгерісін бақылаймыз егер сүт іртіктеліп ұйып қалса онда сиыр сүтінде денелік клетка бар ауруға оң реакция бергендігі яғни сиырдың желінінде қабыну процессінің барлығын көрсетеді.

Желінсауды емдеу 1. Желінге дәрі сұйықтығын құю, желініндегі

бұзылған сүтті сауып тазартып тастағаннан кейін сүт катетері арқылы күніне екі рет пенициллиннен 800,000 ед., стрептомициннен 500,000 ед. емшекке 3-4 күн уколь салу керек.

2. Денелік белгілері айқын сиырларға атап айтқанда жедел сарысулы, талшықты және қан шығу сипатты желін қабынуға, 10% калций глюконат впрыскадан 200-300 мл көк тамырға укол салынады сонымен бірге, пенициллиннен 800 0000 ед., 5% глюкозадан 500 мл алып, екеуін қосып көк тамырға күніне бір рет (5 күн салынады) бірнеше күн укол етіп саламыз.

3. Шөп дәрілермен емдеу.

Шөп дәрілер табиғи жасыл өнім, одан кері әсері болмайды.

(1) Бақ-бақ 120 гр, (2) Бота шаған 60 гр, (3) Үшқат 120 гр, (4) Аюбас балдырған 30 гр, (5) Секпілгүл 20 гр, (6) Бүплеуір 60 гр, (7) Ағаш шырмауық (8) қоңыраубас 80 гр алып ұнтақтап суға езіп, күніне екі реттен жалғастырып 3-4 күн беру қажет (ауыз арқылы беріледі).

Алдын алу шаралары 1. Қадағалауды күшейтіп, сауын сиыр фермаларының тазалығын жақсарту яғни серуендеу демалу аймағын, сауылатын алаңдарының тазалығын сақтап, уақытымен нәжістерден тазалап, уақытында дизенфекция жүргізіп тұру керек. Сонымен қатар, сүт сауған кезде желінді жуып тазалау, сиыр сауылып болғаннан кейін желінді 40 -50 °С жылы сумен жуып, құрғақ орамалмен сүртіп тазалау мен қатар сүт саууға пайдаланылған құрал-саймандарды уақытында жуып, дизенфекциялау керек.

2. Сүттің құрамындағы денелік клеткаларды әрдайым тексеру арқылы денелік клеткамен сүт өнімі арасындағы байланысты дұрыс меңгеріп, ертерек жасырын желін қабынуының алдын алу шараларын жасау керек. Сиыр суалғаннан кейін, желіннің ауыруға қарсылық қуаты төмен болып оңай инфекцияланады. Сондықтан, сиырды уақытында суалтып, суалтыу кезінде пайдалануға керекті дәрі-дармектерді қажетіне сәйкес қолдану керек.

3. Сырттан әкелінген сауын сиырларды табынға қосар алдында міндетті түрде желінсауға тексеріп алған жөн, сонда ғана аурудың басқа сау малдарға жұқпауына тосқауыл қоюға мүмкіншілік мол.

Әдебиеттер

1. Шын Шуаң Ху. «Сиыр желін сауын емдеу» Шанхай малшаруашылығы мал дәрігерлік журналы. № 6. 2013 ж.

2. Лий Шы Шуаң. «Сиыр сүттіне тексеру жүргізу арқылы сиыр желінсауын балау» Қытай мал дәрігерлік журналы. №6. 2013 ж.

Резюме

ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА МАСТИТА У
МОЛОЧНЫХ КОРОВ РАЙОНА ШЫНЖАН ҚАБА

Мұқайұлы Жеңіс, ветеринарный врач

Ветеринарный пункт района Шынжан Каба, КНР

В статье приведены данные по диагностике, лечению и профилактике мастита у молочных коров.

Ключевые слова: мастит, коровы, эшерихии, стрептококки

Summary

DIAGNOSIS, TREATMENT AND PROFILAXIS OF MAMMITIS IN MAMMARY COWS IN THE REGION OF XINGJIAN KABA

Mukaiuly Zhenis, vet .doctor

Vet office in the region of Xingjian Kaba, China

This article covers datas on diagnosis, treatment and profilaxis of mammitis, in mammary cows.

Keywords: mastitis, cows, Escherichia, Streptococcus

УДК 619:616.981.42-07

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ГЕНА 16S rRNA ЭПИЗООТИЧЕСКИХ И ЭТАЛОННЫХ ШТАММОВ САЛЬМОНЕЛЛ

А.К. Мусаева, А.Т. Даугалиева, Н.Н. Егорова

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приведены результаты изучения нуклеотидной последовательности гена 16S rRNA 2-х эпизоотических (*S. typhimurium* 27, *S.abortus – equi* 7/1) и 4- х эталонных (*S.abortus – equi* 841, *S. dublin* 13-20 NS, *S.abortus – ovis* 17 NS, *S. typhimurium* ВГНКИ) штаммов сальмонелл. Результаты проведенных исследований подтвердили родовую принадлежность возбудителя.

Ключевые слова: сальмонеллы, штаммы, ПЦР, нуклеотидная последовательность гена

Введение Сальмонеллез относится к инфекциям с широким распространением и представляет важнейшую ветеринарную и медико-биологическую проблему. Сальмонеллы-паратифозные бактерии, патогенные для людей и животных. Род сальмонелла назван в честь американского исследователя Сальмона (1885). Известно, что основным резервуаром сальмонеллезной инфекции являются представители животного мира. Носительство сальмонелл здоровыми животными и птицами, мясо которых чаще всего используется в питании человека, представляет значительную опасность в возникновении пищевых токсикоинфекций. В настоящее время для оценки и родства многих микроорганизмов используются фенотипические методы исследования.

Высокая заболеваемость и все возрастающее распространение сальмонеллезов (насчитывается более 2000 серотипов сальмонелл), полиморфизм клинических форм (латентные и стертые формы), частые случаи формирования длительного и пожизненного сальмонеллоносительства, широкое распространение антибиотикорезистентных возбудителей вызывают необходимость разработки новых специфичных и чувствительных методов диагностики сальмонеллезов.

Традиционные методы исследования эпизоотических и эталонных штаммов микроорганизмов основаны на определении только фенотипических признаков, по которым трудно идентифицировать принадлежность микроорганизма. Известно, что фенотипические признаки бактерий могут варьировать в зависимости от условий хранения, культивирования и от аллельного состояния ответственных за экспрессию генов [1]. Жизненные процессы микроорганизмов, зависимость их от условий внешней среды, характера питания вызывают необходимость совершенствования условий и методов хранения культур. При выращивании на питательных средах, общепринятых для определенного вида микроорганизмов, M – форма с возрастом культуры переходит в S – форму, а колонии S – формы - в форму R. Бактерии из R – колоний с большим трудом и не во всех случаях удается превратить в колонии формы S (т. е. произвести реверсию), но бактерии из вторичных S – колоний во многом отличаются от бактерий первичной формы S [2].

Поэтому проблемы, связанные с недостатками фенотипических методов, стимулировали развитие генотипических. Предназначенные первоначально для научных исследований, в настоящее время эти методы занимают доминирующее место в решении проблем микробиологии [3]. В связи с тем, что наиболее консервативной структурой, характеризующей вид микроорганизма, остается его геном, перспективной является диагностика, основанная на характеристике генома возбудителя [4].

Проведение генетического анализа эпизоотических и эталонных штаммов сальмонелл позволит накопить детальную информацию о сальмонеллах, распространенных на территории Республики Казахстан, что послужит теоретической основой для получения высокоэффективных вакцинных и диагностических препаратов. Важность проведения генетических исследований неоспорима при идентификации патогенных микроорганизмов, выделенных из эпизоотических очагов инфекций. Информация о возбудителях сальмонеллеза, полученная генетическими методами обеспечит качественный мониторинг инфекционного процесса и эффективную ликвидацию и профилактику сальмонеллезной инфекции.

Материалы и методы Тестируемые штаммы сальмонелл паспортизированы, хранились в пробирках на ПЖА под вазелиновым маслом, закупоренных резиновыми парафинированными пробками. Проведена реактивация культур путем посева на МПБ. Реактивированные культуры пересеивали на МПА. Посевы культивировали 20 часов при 37°C. С помощью общепринятых методов бактериологических исследований были изучены биологические характеристики выделенных ранее 2-х эпизоотических (*S. typhimurium* 27, *S. abortus – equi* 7/1) и 4-х эталонных (*S. abortus – equi* 841, *S. abortus – ovis* 17 NS, *S. dublin* 13-20 NS, *S. typhimurium* ВГНКИ) штаммов сальмонелл, хранившихся в лаборатории генофонда микроорганизмов. После изучения фенотипических свойств изучаемых культур сальмонелл, подтверждающих сохранность ими исходных биологических (культурально - морфологических, биохимических, антигенных) свойств, проводили генетические исследования. С этой целью делали смывы с суточных агаровых культур сальмонелл, готовили 2-х миллиардные взвеси культур по оптическому стандарту мутности ГИСК им. Тарасевича, которые использовали для генетических исследований. Штаммы сальмонелл подвергались последующему изучению нуклеотидной последовательности 16S rRNA гена их генома.

Идентификация 6 тестируемых штаммов сальмонелл была осуществлена методом определения нуклеотидной последовательности 16S rRNA гена с последующим сравнительным исследованием структуры 16SrRNA гена бактерий с нуклеотидными последовательностями, содержащимися в международной базе данных Gene Bank.

Выделение ДНК проводили колоночным методом при помощи набора «PureLink Genomic DNA Kits» (*Invitrogen*).

Аmplификация 16S rRNA гена. Реакция ПЦР была выполнена с универсальными праймерами 16SF 190 АТТАГСТАГТАГГТГГГГТАА и 16SR 1100 ТТАСТАГСГАТТССГАТТСА в общем объеме 25 мкл. ПЦР смесь содержала 15 нг. ДНК, 2.5 смеси (Синтол), 10 мкл деионизированной воды, 10 пмоль каждого праймера. Программа ПЦР амплификации включала

денатурацию 94°C в течение 3-х минут; 27 циклов: 94°C – 30 секунд, 60°C- 30 секунд, 72°C – 30 секунд; заключительная элонгация 7 минут при 72°C.

Определение нуклеотидной последовательности. Очистку ПЦР продуктов от несвязавшихся праймеров проводили ферментативным методом, используя, Exonuclease I (Fermentas) и щелочную фосфатазу (*Shrimp Alkaline Phosphatase*, SibEnzyme) [5].

Реакцию секвенирования проводили с применением BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) согласно инструкции производителя, с последующим разделением фрагментов на автоматическом генетическом анализаторе 3500 DNA Analyzer (Applied Biosystems).

Результаты и обсуждение ПЦР программа была выполнена с применением амплификатора Mastercycler Gradient, (Eppendorf). Результаты ПЦР амплификации приведены на рисунке 1.

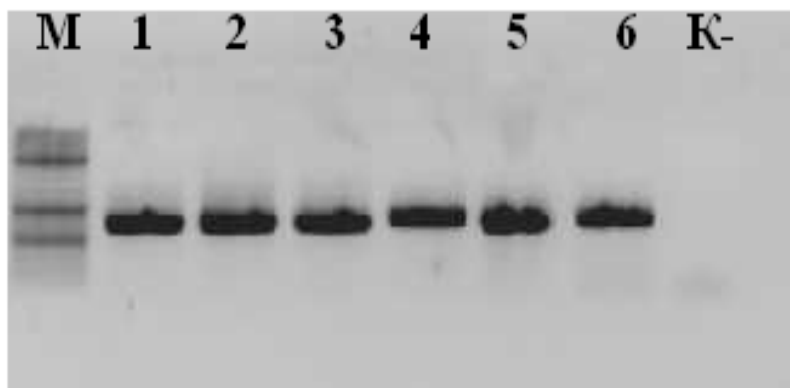


Рисунок 1 - Электрофореграмма продуктов амплификации 16S rRNA гена ДНК с праймерами 16SF 190 и 16SR 1100 в 1 % агарозном геле. (М – маркер молекулярного веса (Fermentas) (100 – 10000 п.н., от 100-1000 шаг 100 п.н.); 1-6 исследуемые продукты амплификации, К- отрицательный контрольный образец).

Как следует из рисунка 1, у всех 6 образцов сальмонелл были амплифицированы специфические фрагменты молекулярной массой около 1100 п.н.

Анализ нуклеотидных последовательностей Нуклеотидные последовательности 16S rRNA гена 6 идентифицируемых штаммов были анализированы и объединены в общую последовательность в программном обеспечении SeqMan (DNASTAR). Затем были удалены концевые фрагменты (нуклеотидные последовательности праймеров, фрагменты, имеющие низкий показатель качества), что позволило нам получить нуклеотидную последовательность протяженностью более 650 п.н., которые были

идентифицированы в GeneBank по алгоритму BLAST. При идентификации отбирались 3 вида, имеющие максимальную идентичность с анализируемыми последовательностями. Нуклеотидные последовательности и результаты идентификации представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Результаты идентификации гена 16S rRNA

Наименование штамма	Последовательность фрагмента 16S r RNA гена	Идентификация нуклеотидных последовательностей в международной базе данных (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) алгоритм BLAST		
		Инвентарный номер GeneBank (Accession number) или коллекционный номер штамма	Наименование штамма	% совпадения
1- Salmonella typhimurium St 27	TACTGGAACGGTGGCTAATACCGCATAAC GTCGCAAGACCAAGAGGGGGACCTTCG GGCCTCTTGCCATCAGATGTGCCAGATG GGATTAGCTTGTGGTGAAGTAACGGCTC ACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGA GAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGA ACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGC AGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAA GCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAA GAAGGCCCTTCGGGTTGTAAGTACTTTCA GCGGGGAGGAAGGTGTTGTGGTTAATAAC CGCAGCAATTGACGTTACCCGCAGAAGAA GCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGC GGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCG GAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGC GGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCCG GGCTCAACCTGGGAAGTGCATTGAAACT GGCAGGCTTGAGTCTTGTAGAGGGGGTA GAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTA GAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAA	NR_074910.1	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium str. LT2 strain LT2; SGSC 1412; ATCC 700720	99%
	GGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTC AGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGG ATTAGATACCCCTGGTAGTCCACGCCGTA ACGATGTCTACTTGGAGGTTGTGCCCTTG AGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAA GTAGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAA GGTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGC CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAA TTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGG	NR_074799.1	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhi str. Ty2	99%
		NR_074985.1	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Enteritidis str. P125109	99%

	TCTTGACATCCACAGAACTTTCCAGAGAT GGACTGGTGCCTTCGGGAACTGTGAGACA GGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGT TGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACG AGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCG ATTAGGTCGGGAACTCAAAGGAGACTGCC AGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATG ACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCA GGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATA CAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAG CGGACCTCATAAAGTGCGTCGTAGTCCGG			
2- Salmonella typhimurium ВГНКИ	TACTGGAACGGTGGCTAATACCGCATAAC GTCGCAAGACCAAAGAGGGGACCTTCG GGCCTCTTGCCATCAGATGTGCCAGATG GGATTAGCTTGTGGTGGAGTAACGGCTC ACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGA GAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGGAG ACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGC AGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAA GCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAA GAAGGCCTTCGGGTTGTAAGTACTTTCA GCGGGGAGGAAGGTGTTGTGGTTAATAAC CGCAGCAATTGACGTTACCCGCAGAAGAA GCACCGGCTAACTCAGAGATGGATTTGTG CCTTCGGGAACTGTGAGACAGGTGCTGCA TGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTGAAATG TTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC CTTATCCTTTGTTGCCAGCGATTAGGTCGG GAACTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAA CTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGT CATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACAC ACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGA AGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTC ATAAAGTGCGT	NR_074985.1	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Enteritidis str. P125109	99%
		NR_074800.1	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Choleraesuis str. SC-B67	99%
		NR_074910.1	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimuriu m str. LT2 strain LT2; SGSC 1412; ATCC 700720	99%

<p>3-Salmonella abortus –ovis 17 NS</p>	<p>GGGGGACCTTCGGGCCTCTTGCCTCAGAG GTGCCCAGAGGGGTGTCGCTTGTGGTGA GGTAACGGCTCACCAAGGCGTCGTTCCCT AGCTGGTCTGTGTGGTTGACCAGCCACAC TGGAAGTGAAGTACGGTCCAGTCTCCTAC GGGAGGCAGCAGTGGGGTTTATTGCACAA TGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGC GTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTA GTACTTTCAGCGGGGAGGAAGGGTGTGT GGTTAATAACCACAGCAAATTGACGTTAC CCGCAGAAAAAGCACCCGGCTAACTCCGT GCCAGCAGCCGCGTAAATACGGAGGGT GCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTA AAGCGCACGCAGGCGGTCTGTCAAGTCGG ATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAA CTGCATTCGAAACTGGCAGGCTTGAGTCT GTAGAAGGGGGGTGGGATTTCCAGGTGTA GCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGA ATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCTGGACA AAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTG GGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTA GTCCACGCCGTAACGATGTCTACTTGGAG GTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAG CTAACGCGTTAAGTAGACCGCCTGGGGgA GTACGGCCGCAAGGTTAAAAC TCAAATGA ATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGA GCATGTGGTTTAATTTCGATGCAACGCGAA GAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACGGA AGTTTTCAGAGATGAGAATGTGCCTTCGG GAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGT CGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTT AAGTCCC GCAACGAGCGCAACCCTTATCC TTTGTGTCAGCGATTAGGTCGGGA ACTC AAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAG GAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATG GCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCT ACAATGGCGCATACAAAGAGAAGTGAGC TCGCGAGAGCAAGCGGACCTC</p>	<p>NR_074800.1</p>	<p>Salmonella enterica subsp. enterica serovar Choleraesuis str. SC-B67 strain</p>	<p>97%</p>
		<p>NR_074899.1</p>	<p>Salmonella enterica subsp. enterica serovar Paratyphi C strain RKS4594</p>	<p>97%</p>
		<p>NR_074935.1</p>	<p>Salmonella enterica subsp. enterica serovar Paratyphi A str. AKU_12601</p>	<p>97%</p>
<p>4-Salmonella dublin 13-20 NS</p>	<p>GAGGGGGATACTACTGGAACGGTGGCTA ATACCGCATAACGTGCAAGACCAAAGA GGGGGACCTTCGGGCCTCTTGCCATCAGA TGTGCCCAGATGGGATTAGCTTGTGGTG AGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATCCC TAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACA CTGGAAGTGAAGACAGGTCCAGACTCCTA CGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCAC AATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCC GCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTA</p>	<p>NR_074800.1</p>	<p>Salmonella enterica subsp. enterica serovar Choleraesuis str. SC-B67 strain</p>	<p>99%</p>

	AAGTACTTTCAGCGGGGAGGAAGGTGTTG TGGTTAATAACCACAGCAATTGACGTTAC CCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTG CCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGC AAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAA GCGCACGCAGGCGGTCTGTCAAGTCGGAT GTGAAATCCCCGGGCTCAACTGGGAACTG CATTCGAAACTGGCAGGCTTGAGTCTTGT AGAGGGGGGTGGAATTCCAGGTGTAGCG GTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATAC CGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAA GACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGG GAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGT CCACGCCGTAACGATGTCTACTTGGAGGT TGTGCCCTTGAGGCGTgGCTTCCGGAGCTA ACGCGTTAAGTAGACCCTGGGAGTAC GGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTG ACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCAT GTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAAC CTTACCTGGTCTTGACATCCACGGAAGTTT TCAGAGATGAGAATGTGCCTTCGGGAACC GTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCA GCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTC CCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGT TGCCAGCGATTAGGTGCGGAACTCAAAGG AGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGG TGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCT TACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAAT GGCGCATACAAAGAGAAGCGAGCTCGCG AGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTGCGTCCG			
		NR_074899.1	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Paratyphi C strain RKS4594	99%
		NR_074935.1	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Paratyphi A str. AKU_12601 strain AKU12601	99%
-Salmonella abortus –equi 7/1	GGAGGGGGTACTACTGGAACGGTGGCTA ATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAAGA GGGGGACCTTCGGGCCTCTTGCCATCAGA TGTGCCCAGATGGGATTAGCTTGTTGGTG AGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATCCC TAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACA CTGGAAGTACTGAGACACGGTCCAGACTCCTA CGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCAC AATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCC GCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTA AAGTACTTTCAGCGGGGAGGAAGGTGTTG TGGTTAATAACCACAGCAATTGACGTTAC CCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTG CCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGC AAGCGTTAATCGGAATTTACTGGGCGTAA AGCGCACGCAGGCGGTCTGTCAAGTCGGA TGTGAAATCCCCGGGCTCAACTGGGAACT GCATTCGAAACTGGCAGGCTTGAGTCTTGT TAGAGGGGGGTGGAATTCCAGGTGTAGCG	NR_074800.1	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Choleraesuis str. SC-B67 strain SC- B67	99%
		NR_074899.1	Salmonella enterica subsp. enterica serovar	99%

	GTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATAC CGGTGGCGAAGGGCGGCCCTGGACAAAG ACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGG AGCAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCC ACGCCGTAAACGATGTCTACTTGGAGGTT GTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTA ACGCGTTAAGTAGACCGCCTGGGGAGTAC GGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTG ACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCAT GTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAAC CTTACCTGGTCTTGACATCCACGGAAGTTT TCAGAGATGAGAATGTGCCTTCGGGAACC GTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCA GCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTC CCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGT TGCCAGCGATTAGGTCGGGAACTCAAAGG AGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGG TGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCT TACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAAT GGCGCATACAAAGAGAAGCGAGCTCGCG AGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTCCGTCG TAGTCC		Paratyphi C strain RKS4594 strain RKS4594	
		NR_074935.1	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Paratyphi A str. AKU_12601	99%
6-Salmonella abortus-equi (контр)	TGGCTAAATAACCGCATAACGTCGCAAGA ACCAAAGAAGGGGTACCTTCGGGCCTCT TGCCATCAGTATGTGCCAGATGGGATTA GCTTGTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAG GCGTCGTTCCCTAGCTGGTCTGAGAGGAT GACCAGCCACACTGGAAGTGGAGACACGGT CCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGG GAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGAT GCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCC TTCGGGTTGTAAGTACTTTCAGCGGGGA GGAAGGTGTTGTGGTTAATAACCGCAGCA ATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGG CTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA CGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTAC TGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGT CAAGTCGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAA CCTGGGAACTGCATTGAAACTGGCAGGC TTGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCC AGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCT GGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCC CCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGA AAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATA CCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTC TACTTGGGAGGTTGTGCCCTTGA	NR_074985.1	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Enteritidis str. P125109 strain	99%
		NR_074935.1	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Paratyphi A str. AKU_12601	99%
		NR_074934.1	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Paratyphi A str. ATCC 9150 strain	99%

С учетом полученных результатов, показанных в таблице 1, были проведены дальнейшие исследования по проверке чистоты представленных штаммов, которые были осуществлены на основе анализа ферограммы нуклеотидной последовательности 16S rRNA гена. Было установлено, что у всех анализируемых штаммов отсутствует смешение сигналов, что свидетельствует об отсутствии в предоставленных культурах посторонних видов бактерий и контаминации посторонней микрофлорой.

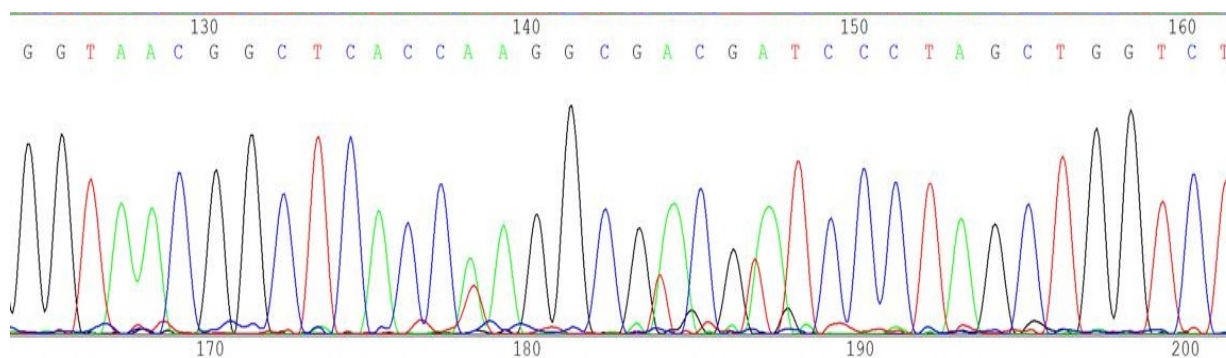


Рисунок 2 - Ферограмма фрагмента нуклеотидной последовательности 16S rRNA гена

В результате проведенных исследований установлено, что все исследуемые штаммы подтвердили свою принадлежность к роду *Salmonella*.

Заключение В результате сравнения технико-экономического уровня выполненной НИР с лучшими достижениями в данной области было установлено, что высокая идентичность нуклеотидной последовательности 16S rRNA гена по сравнению с другими рРНК генами, позволяет использовать его как генетический маркер для идентификации и таксономической классификации бактериальных разновидностей. Молекулярно-генетическая идентификация сальмонелл позволяет сократить время постановки диагноза, повышает достоверность результатов исследований, исключает необходимость приобретения реагентов для микробиологической идентификации культур, может освободить специалистов от рутинных исследований.

Литература

1. Fanning N.G. et al. Genetics // Journal of Virology. - 2009. -Vol.76.-P.15.
2. Калина Г. П. Изменчивость патогенных микроорганизмов. Киев: Государственное медицинское изд-во УССР 1949. – С. 55- 57.
3. Лопухов Л.В., Эйдельштейн М.В. ПЦР в клинической микробиологической диагностике //Лабораторная диагностика.-М., 2000.-№ 3.- 15 с.

4. Capua I. et al. PCR// Acta Trop. -2005.- Vol.1.- P. 83.

5. Werle E., Schneider C., Renner M., Völker M., Fiehn W. Convenient single-step, one tube purification of PCR products for direct sequencing // Nucleic Acids Res. – 1994. – Vol. 22. - P. 4354-4355.

Сведения об авторах:

Мусаева А. К. – доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела вирусологии ТОО «КазНИВИ»

Даугалиева А.Т. - кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории бруцеллеза ТОО «КазНИВИ»

Егорова Н. Н. - кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Түйін

САЛЬМОНЕЛЛЕЗ ҚОЗДЫРҒЫШЫНЫҢ ЭПИЗООТИЯЛЫҚ ЖӘНЕ ЭТАЛОНДЫҚ ШТАММДАРЫН 16S rRNA ГЕНІ БОЙЫНША ГЕНОТИПТЕУ

А.Қ. Мұсаева, А.Т. Дауғалиева, Н.Н. Егорова

«Қазақ ғылыми – зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада сальмонелла өсінділерінің 2 эпизоотиялық (*S. typhimurium* 27, *S. abortus – equi* 7/1) және 4 эталондық (*S. abortus – equi* 841, *S. dublin* 13-20 NS, *S. abortus – ovis* 17 NS, *S. typhimurium* ВГНКИ) штаммдарының 16S rRNA генінің нуклеотидті тізбектерін зерттеудің нәтижелері келтірілген. Жүргізілген зерттеулер бұл қоздырғыштардың *Salmonella* туысына жататынын дәлелдеді.

Кілттік сөздер: сальмонеллалар, штаммдар, ПТР, геннің нуклеотидті тізбегі

Summary

16S rRNA GENE GENOTYPING ENVIRONMENTAL AND MUSEUM OF SALMONELLA STRAINS

A. K. Musaeva, A. T. Daugaliyeva, N. N. Yegorova

LLP «Kazakh Scientific - Research Veterinary Institute»

In this study, the nucleotide sequence of the 16S rRNA gene of 2-epizootic (*S. typhimurium* 27, *S. abortus – equi* 7/1 and the 4 - reference *S. abortus – ovis* 17 NS, *S. dublin* 13-20 NS and *S. abortus - equi* E-841, *S. typhimurium* ВГНКИ) *Salmonella* strains. The results of these studies confirmed the *Salmonella* spp.

Keywords: salmonella, strains, PCR, the nucleotide sequence of the gene

ӘОЖ 619.5

ЖҰҚПАЛЫ БУРСАЛ АУРУЫНА ҚАРСЫ ТІРІ ҚҰРҒАҚ ВАКЦИНАНЫ ДАЙЫНДАУ ЖӘНЕ ОНЫҢ ИММУНОБИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРІН ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ

Б.Ш. Мырзахметова, Л.О. Жантелиева, Л.Б. Кутумбетов

«Қазақ ғылыми - зерттеу ветеринариялық институты» ЖШС

Түйін Мақалада тірі құрғақ жұқпалы бурсал ауруына қарсы вакцинаның иммунобиологиялық қасиеті және дайындалу жолдары көрсетілген. Бұл вакцина балапандарға қауіпсіз және интраназальді қолданғанда иммуногендік белсенділігі қажетті мөлшерде болатыны көрсетілген.

Кілттік сөздер: жұқпалы бурсал ауруы, вакцина, қауіпсіздік, иммуногендік

Кіріспе Жұқпалы бурсал ауруы (ЖБА) құстардың өте кең таралған вирустық жұқпалы ауруы. Үй құстарын аурудан алдын алу үшін вакциналық дәрмектерді қолдану қажет [1]. Құс шаруашылықтарына қажетті отандық вакциналардың болмауынан қазіргі кезде, шет елдік вакциналар қолданылып отыр. Алайда, кейбір мәліметтерге қарағанда шет елдік вакциналық дәрмектер талап етілген сапаға сай емес және бұл препараттың өзіндік құны жоғары болғандықтан сатып алу да қиынға соғып отыр [4].

Сондықтан, осы жұмыстың авторлары ЖБА қарсы вакцина дайындау технологиясы және осының негізінде вакцинаның тәжірибелік сериясын дайындап ұсынды. Бұл мақалада вакциналық препаратты дайындау технологиясы қарастырылып, сол технология бойынша даярланған вакцинаның иммунобиологиялық қасиеттері зерттелінді.

Зерттеу материалдары мен әдістері Зерттеу барысында тірі құрғақ ЖБА қарсы вакцинаның тәжірибелік сериясы зертханалық жағдайда институттың вирусология бөлімінде дайындалды. Аталған серияны дайындау үшін ЖБА

вирусының әлсіретілген штамынан алынған биомасса қолданылды. Алдымен вакциналық вирусты дамушы тауық эмбрионына (ДТЭ) және ДТЭ алынған фибробласттар жасуша өсіндісінде (ФЖӨ) өсірдік. Ол үшін вируспен 5-6 күндік ДТЭ-ң сары уыз қапшығы зақымдалынды. Вирустың белсенділігін жоғарылату үшін аталған екі биологиялық жүйеде ДТЭ мен ФЖӨ 3 пассаж жасалынып, өсірілді.

Вирустың зардаптылығын анықтау үшін әртүрлі жастағы балапандар, бөденелер және қояндар қолданылды. Вирустың зардаптылығын анықтау: вирустың зардаптылығын тауықтардың тері астына вирусты жұқтыру арқылы олардың ауруға шалдығуы және өлуі есепке ала отырып анықталды. Бұл үшін тауықтарды зерттелетін вирустың штамымен тері астына егу арқылы жұқтырамыз, ал екінші топты плацебо тәсілмен егеміз. Плацебо ретінде Хенкс ерітіндісін қолданамыз. Жұқтырылған және бақылау тобындағы тауықтарға күнделікті бақылау жүргіземіз. Зерттелетін вирустың патогендігі жөнінде жұқтырылған топтағы тауықтардың аурушандығымен, аурудың ауырлығын және өлімге ұшырауын ескере отырып, бұл белгілердің бақылау тобындағы тауықтардың арасында болмауын салыстыра отырып жүргіземіз.

Вирустың цитопатогендігін анықтау: вирустың цитопатогендігін *in vitro* да өсірілген торша өсінділеріндегі және олардың қабаттарындағы цитопатогенді өзгерістерді анықтау арқылы белгілейміз. Бұл үшін суспензиялы және бір қабатты алғашқы трипсинделген торша өсіндісі, сонымен қатар 0,05 және 1,5 дм³ мөлшерде матрастарда дайындалған тауық эмбриондарының фибробласттары қолданылады. Матрастардың ішкі беткейінде трипсинделгеннен кейін алынған торша өсінділерін зерттеліп отырған вируспен зақымдадық және әр 6 сағат сайын өсіру динамикасындағы патологиялық өзгерістерді тіркеу үшін микроскопиялық бақылау жүргіздік. Вирустың цитопатогендігін торшаларда және оның ары қарай даму қарқындылығын және патологиялық өзгерістердің толық немесе жоғары дәрежеде дамуын ескере отырып бағалаймыз. Ал, бақылау тобына вируспен зақымдалмаған торша өсінділерін аламыз.

Вирустардың эмбриопатогендігін анықтау: вирустың эмбриопатогендігін 10-12 күндік ДТЭ-дағы жиналған вирус титрін, сонымен қатар жұғу үрдісінің жүруін анықтау бойынша жүргізіледі. Бұл үшін ДТЭ- ң аллантоис қуыстарын зақымдап, оларды 37 °С температурада бақылау тобымен бірге бірнеше күнге инкубациялаймыз. Әр 6-8 сағат сайын ДТЭ өлгенін және тірісін бақылап отырамыз.

Вирустың антигендік белсенділігін анықтау: антигендік белсенділікті вирус жұқтырылған құстардың ағзасында арнайы вирусқа қарсы антидене түзе алу қасиетін ескере отырып анықтаймыз.

Вирус биомассасының стерильдігін анықтау: қоректік орталар, ерітінділер мен вирус биомассасының стерильдігін МЕМСТ 28085 талаптары бойынша анықтаймыз.

Вакцинаның қауіпсіздігі 30 күндік балапандарға егу арқылы анықталады.

Вакцинаның реактогендігін және иммуногендігін балапандарға 0,5 см³ және 1,0 см³ мөлшерде бұлшық етке егу арқылы, егілген балапандарда 10 күннің ішінде жергілікті және жалпы реакцияның көрсеткішін бағалау арқылы анықталады.

Ал вакцинаның иммуногендігін, егілген құстардың қанында арнайы вирусбейтараптаушы антиденелердің барын анықтау бойынша және оларға ЖБА вирусына қарсы тұру қасиетін бағалау бойынша анықталады.

Құрғақ вакцинаның вирусы эмбриональді және өсінділік биомассасының титрі 10^{6,0} ЭИД_{50/см³} / ТЦД_{50/см³} –тан төмен емес, инсулинді флакондарда арнайы қорғағыш ортамен, құрамында сахароза 5%, пептон 4%, желатин 1% қосу арқылы, жеке дара сублимациялық кептіруден өткізілді. Сублимациялық кептіру арнайы «Creodos» қондырғысында жасалды.

Нәтижелерді талқылау Вирусты ДТЭ өсіру нәтижелері 1-кестеде келтірілген. Кестеде келтірілгендей 1 пассажда вирустың титрі 4,67 lg, келесі 2-3 пассажда вирустың титрі өркендеген.

Кесте 1 – ДТЭ-нан алынған ЖБА вирусының биомасса көрсеткіші

Вирус пассажы, №№	ДТЭ саны, дана	Эмбрионның жалпы көлемі, Г	Суспензияның жалпы көлемі, см ³	Контаминанттардың суспензияда болуы	Суспензиядағы вирус титрі, ЭИД _{50/см³}
Бірінші	20	200	500	-	10 ^{4,67}
Екінші	20	200	500	-	10 ^{6,34}
Үшінші	60	600	1 500	-	10 ^{6,17}

Ескерту: «-» - теріс нәтиже

Аталған вирусты ДТЭ фибробласттарында өсіру нәтижелері 2-кестеде көрсетілген. Кестеде көрсетілген нәтижелерден 1 пассажда вирустың титрі 4,17 lg құраса, 2-3 пассажда 5,67-6,34 lg жетті.

Кесте 2 - ТЭФ алынған ЖБА вирусының биомасса көрсеткіші

Вирус пассажы, №№	Матрастағы ТЭФ вирусы, саны	Жалпы жиналған көлем КС, см ³	ӨС контаминанттардың болуы	ӨС вирус титрі, ТЦД _{50/см³}
Бірінші	1	120	-	10 ^{4,17}

Екінші	2	240	-	$10^{5,67}$
Үшінші	3	360	-	$10^{6,34}$
Ескерту: КС - өсінділік сұйық «-» - теріс нәтиже				

Осы кесте нәтижелері бойынша вакцина даярлау үшін эмбриондық және өсінділік вирустың 3ші пассажын қолдандық. Вакцинаны даярлау үшін аталған вирустың үлгісін қорғағыш ортамен араластырып, шыны құтыларға 1 мл құйып, сублимациялық кептіруден өткіземіз. Кепкен вакцинасы бар құтыларды резина тығындармен жауып, алюминий қалпақшалармен бекітеміз. Осы даярланған құрғақ вакцина стерильдігіне, залалсыздығына, иммунобелсенділік қасиеттеріне тексерілді. Кептіру барысында және кептіргеннен кейін вирусты сақтау талаптары анықталды. Ол үшін сублимациялық кептіру жасау алдында және кептірілген вакцинаны 30 мин 56 °С қыздырып титрін анықтадық. Аталған зерттеу нәтижелері 3 кестеде көрсетілген.

Кесте 3 – ЖБА-ң сублимация және кептіргеннен кейінгі титрі

Вирус сынамасы	Вирус титрі, ШБ _{50/см} ³		56 °С қыздыр у	Қыздырған- нан кейінгі вирус титрі ШБ _{50/см} ³	Жалпы вирус кемдігі ШБ _{50/см} ³
	Сублимаци я-ға дейін	Сублима- циядан кейін			
Эмбриональді вирус қорғағышпен	$10^{6,17}$	$10^{5,34}$	30 мин	$10^{4,34}$	$10^{1,83}$
Өсінділік вирус қорғағышпен	$10^{6,34}$	$10^{5,83}$	30 мин	$10^{4,17}$	$10^{2,17}$
Эмбриональді вирус қорғағышсыз	$10^{6,17}$	$10^{5,17}$	30 мин	$10^{2,83}$	$10^{3,34}$

3 - кестедегі нәтижелер вакцинаға қосылған қорғағыш ортаның вирусты жақсы сақтайтынын көрсетеді. Сұйық эмбриональді вакцинаның титрі 6,17 lg болса, кептіргеннен соң 5,37 lg құрады, ал 30 мин 56 °С қыздырғанда оның титрі 4,34 lg болды. Өсінділік вирустан вакцина жасағанда вирустың титрі кептіру және қыздыру барысында аталған шаманың айналасында болды. Қорғағыш ортаны қолданып кептіргенде вирус титрі 1 lg төмендесе, 30 мин қыздырғанда 100 еседен артық титрі төмендейді.

Алынған нәтижелер құрғақ вакцина өндірудің технологиясы тиімді екенін көрсетеді. Құрғақ вакцинаның залалсыздығын 15 балапанға тексердік. Оның ішінде 5 өсінділік вакцинамен 5 эмбриональды вакцинамен мұрын қуысына ектік. 5 балапанға бақылау тобы ретінде физиологиялық ерітінді ектік. Залалсыздығын анықтау үшін балапандарды 2 апта бойы ауру белгілеріне бақыладық. Жүргізілген зерттеулердің нәтижесі 4 -кестеде көрсетілген.

Кесте 4 – Зарарланған және бақылаудағы балапандардың жалпы жағдайы

ЖБА қарсы вакцина	Сынақтағы көрсеткіш - тер	Тәжірибедегі балапандар, бас		Тәжірибедегі көрсеткіштер бағасы		
		Зарарланған	Бақылаудағы	Ауырғаны, бас	Өлгені, бас	Тірі қалғаны, бас
Өсінділік	Залалсыздығы	5	-	0	0	5
Эмбриональді		5	-	0	0	5
Бақылау		-	5	0	0	5

Осы кестеде көрсетілгендей вакцина егілген және егілмеген балапандарда екі аптада ауру белгілері байқалмады және шығынға ұшыраған жоқ. Вакцина балапандар үшін залалсыз.

Вакцинаның иммуногендігі 10 балапанда тексерілді. 5 бас балапан өсінділік вакцинамен, 5 балапан эмбриональды вакцинамен мұрын қуысына 2 тамшы тамыза отырып имундалды. Вакцина егу алдында балапандардан қан алынды. Имундалған балапандардан 21 күн өткен соң, барлық балапандардан қан алынды. Алынған қаннан сарысуын бөліп алып, преципитациялау реакциясының көмегімен қан сарысуындағы ЖБА-ң антиденелері анықталды. Зерттеу нәтижесі 5- кестеде көрсетілген.

Кесте 5 – Зарарланғаннан 21 күннен кейін, қан сарысуындағы ЖБА антидене титрі

ЖБА қарсы вакцина	Зарарланған құс саны, бас	ЖБА вирусына тән антиденелердің титрі
Өсінділік	5	1:8* (1) 1:16 (1) 1:32 (2) 1:64 (1)
Антиденелердің орташа көрсеткіші		1:30,4
Эмбриональді	5	1:16 (2) 1:32 (2) 1:64 (1)
Антиденелердің орташа көрсеткіші		1:32
Ескерту: «*» - қан сарысуының екі есе араластырымды мөлшерінің көрсеткіші; жақшада антидене титрінің \log_2 көрсетіліміндегі титрі		

5-ші кестеде көрсетілгендей өсінділік және эмбриональдық вакцина егілген балапандардың қан сарысуында ЖБА-ң вирусына тән антиденелер анықталды. Олардың орташа титрі өсінділік вакцина 1:30,4 , ал эмбриональдық вакцинада 1:32 болды. Бұл көрсеткіштер имундалған балапандардың ЖБА-нан толық имунді екенін көрсетеді.

Қорытынды Құрастырылған технология бойынша дайындалған өсінділік және эмбриональдық вакцина тауықтарға қауіпсіз және иммуногенді болды. Аталған вакцинаны құс шаруашылығына ендіру үшін зерттеу жұмыстары жалғастырылуда.

Әдебиеттер

1. Бочарников, А.В. Средства специфической профилактики особо опасных болезней птиц [Текст]//Автореферат дисс. докт. – Владимир, 2004. - 47с.

2. Коротецкий, И.С., Богоявленский, А.П., Прилипов, А.Г. и др. Вирус болезни Ньюкасла, выделенный в популяциях домашних птиц на территории Казахстана в 2005 г. Актуальные проблемы микробиологии и вирусологии. Материалы Международной конференции, посвященной к 80-летию академика НАН РК АН А.Н.Илялетдинова. – Алматы. -2009. - С. 260-266.

3. Мырзахметова Б.Ш., Даутпаева З.Ж. Вирусные болезни птиц – один из факторов сдерживания развития птицеводства//Материалы выездного заседания Комитета по аграрным вопросам Мажилиса Парламента РК «Проблемы и перспективы обеспечения ветеринарной безопасности животноводства в Республике Казахстан» - Алматы, 2013 г.

4. Мырзахметова Б.Ш., Даутпаева З.Ж., Кутумбетов Л.Б. Доля стоимости средств специфической профилактики инфекционных болезней в себестоимости продукции птицеводства//Труды КазНИВИ, - Алматы, 2013 г.

Иегерлер туралы мағлұмат:

Мырзахметова Б.Ш. – биология ғылымдарының кандидаты, вирусология бөлімінің жетекші ғылыми қызметкері

Жантелиева Л.О. – вирусология бөлімінің кіші ғылыми қызметкері

Кутумбетов Л.Б. – ветеринария ғылымдарының докторы, доцент, вирусология бөлімінің меңгерушісі

Резюме

РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗГОТОВЛЕНИЯ И ИСПЫТАНИЯ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВАКЦИНЫ ЖИВОЙ СУХОЙ ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОЙ БУРСАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ КУР

Б.Ш. Мырзахметова, Л.О. Жантелиева, Л.Б. Кутумбетов

ТОО «Казахский научно- исследовательский ветеринарный институт»

В статье приведены результаты изготовления и испытания иммунобиологических свойств вакцины живой сухой против инфекционной бурсальной болезни кур. Данная вакцина безопасна для цыплят и обладает достаточной иммуногенной активностью при интраназальном применении.

Ключевые слова: инфекционная бурсальная болезнь, вакцина, безвредность, иммуногенность

Summary

THE RESULTS OF PREPARING AND TESTING IMMUNOBIOLOGICAL PROPERTIES OF DRY ALIVE VACCINE AGAINST CHICKENS INFECTIOUS BURSAL DISEASE

B.Sh.Myrzakhmetova, L.O.Zhantelieva, L.B.Kutumbetov

«Kazakh scientific-research veterinary institute» LLP

In the article given results of preparing and testing immunobiological properties of dry alive vaccine against chickens infectious bursal disease. This vaccine is harmless for chickens and has enough immunological activity in intranasal applying.

Keywords: infectious bursal disease, vaccine, harmless, immunogenety

УДК:619:543.068.8:543

НОВЫЕ МЕТОДЫ ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНОЙ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА МЯСА УБОЙНЫХ ЖИВОТНЫХ

Б.С. Майканов, Ю.А. Балджи, Ж.Ш. Адильбеков

Казахский агротехнический университет им. С.Сейфуллина

Резюме В статье предложены разработанные способы оценки качества и безопасности мяса животных, а именно способы определения полифосфатов и степени свежести мяса, которые могут быть использованы специалистами лабораторий пищевой безопасности и ветеринарно-санитарной экспертизы.

Ключевые слова: качество и безопасность продуктов животноводства, мясо, ветеринарно - санитарная экспертиза, полифосфаты

Введение В Казахстане мясо животных является одним из наиболее употребляемых пищевых продуктов. Казахстанские сельхоз товаропроизводители, согласно данным МСХ, не способны обеспечить на 100% потребности внутреннего рынка, поэтому в республику импортируется мясо разных видов животных и птица, как с ближнего зарубежья, так и с дальнего. Такая продукция, требует особого внимания при проведении оценки ее безопасности. По ранее проведенным нами исследованиям [1] выявлено, что в импортируемом мясе крупного рогатого скота и лошадей содержание токсических элементов превышало ПДК в несколько раз. К примеру, в пробах Австралийской говядины содержание меди превышало предельно допустимую концентрацию в 12,99 раз, фосфора в 36,34, цинка в 102,14, мышьяка в 5,24 раз. Несомненно, такие концентрации меди, цинка и мышьяка опасны и могут нанести непоправимый вред здоровью. Кроме этого, особую опасность и интерес представляет количество фосфора в мясе и мясопродуктах. Значительное увеличение данного элемента связано с добавлением фосфатов, как влагосвязывающих компонентов, что увеличивает массу продукта, кроме этого отрицательно влияет на здоровье человека, так как приводит к уменьшению содержания кальция в организме. Если количество фосфора в пище более чем в 2 раза превышает количество кальция, то образуются растворимые соли кальция, которые вымываются кровью из костной ткани. Кальций поступает в стенки кровеносных сосудов, вызывая их ломкость, а также в ткани почек, что способствует возникновению почечнокаменной болезни [2, 3].

Данная проблема обостряется тем, что в Республике Казахстан не осуществляется должный, достоверный контроль качества и безопасности реализуемой продукции животноводства. В лабораториях ветеринарно-санитарной экспертизы (ЛВСЭ) не всегда и не везде выполняются основные и дополнительные методы исследований животноводческой продукции, согласно «Ветеринарных (ветеринарно-санитарных) правил». Не проводятся исследования на безопасность, а именно на присутствие контаминантов техногенного и биогенного происхождения. Оборудование в основном используется 70-80-х годов, т.е. физически и морально устаревшее. Следовательно, повышение качества проведения ветеринарно-санитарной

оценки безопасности мяса животных доступными и экспресс-методами, является актуальной задачей.

В настоящее время многие имеющиеся методы потеряли актуальность и значимость в сфере их экспрессности, а используемые чаще всего опираются на качественных показателях, таких как изменение цвета, появление осадка и т.д. Эксперт в лаборатории, как правило, ограничен в выборе методик, так как оснащение их большинства оставляет желать лучшего, а также нет выбора в современных, быстрых и результативных методиках.

Материалы и методы исследований Материалом для наших исследований служили 320 проб мяса (говядина, конина, баранина, свинина), отобранные в торговых домах и рынках г. Астана, Кокшетау, Караганды и Петропавловска. Отбор проб проводили согласно ГОСТ Р 51447-99 Мясо и мясные продукты. Методы отбора проб. Усовершенствование существующих и разработку новых методов ветеринарно-санитарной оценки продуктов животноводства проводили на основании органолептических (сенсорных), физико-химических и биологических исследований.

Органолептические, физико-химические исследования проводили согласно Ветеринарных (ветеринарно-санитарных) правил, утвержденных Постановлением Правительства РК от 9 августа 2013 года № 814.

Измерение оптической плотности проводили на вертикальном фотометре третьего поколения «Униплан» АИФР-01.

Результаты и обсуждение В ходе наших исследований стало очевидным что мясо и мясные туши часто содержат излишнюю влагу. Нами в результате проведенных поисковых исследований разработан способ качественного определения влагоудерживающих агентов (полифосфатов) в мясе и мясных продуктах и количественный фотометрический способ определения степени свежести мяса.

Способ качественного определения полифосфатов в мясе и мясных продуктах

Сущность предложенного способа заключается в определении полифосфатов по синему фосформолибденовому комплексу после предварительной обработки пробы (окислением фосфорсодержащих комплексонов или кислым гидролизом полифосфатов). Наличие полифосфатов определяется по положительной реакции, т.е. по интенсивности синего окрашивания вытяжки.

Оценка реакции: синее окрашивание вытяжки – присутствие полифосфатов выше естественного содержания, вытяжка не окрасилась – отсутствие полифосфатов или естественное содержание в мышечной ткани.

Количественный фотометрический способ определения степени свежести мяса

В условиях лабораторий ВСЭ рынков в основном врачами практиками

применяются только органолептические методы, они соответственно являются только качественными. В настоящее время для оценки степени свежести мяса применяют следующие методы: органолептические (внешний вид, консистенция, запах, состояние жира и сухожилий, проба варкой), бактериоскопия мазков-отпечатков, определение летучих жирных кислот (ЛЖК), определение продуктов первичного распада белков в бульоне. Мы задались целью произвести поиск быстрых легко выполнимых количественных способов анализа.

С этой целью, нами проведены экспериментальные исследования по определению степени свежести мяса убойных животных путем измерения оптической плотности водных вытяжек, приготовленных в соотношении 1:4 и 1:10. Оптическую плотность исследуемых вытяжек измеряли на фотометре «Униплан» с использованием фильтра в 450 нм.

В результате проведенных измерений вытяжки свежего мяса, мяса сомнительной свежести и не свежего мяса получены данные, по которым возможно проводить оценку качества мяса, т.е. степень его свежести. Оценка результатов данного способа осуществляется по таблице 1.

Таблица 1 – Оценка степени свежести мяса по оптической плотности вытяжки

Степень свежести	Исследуемая вытяжка	
	1:4	1:10
Мясо свежее	0,4449-0,4858	0,1047-0,1495
Мясо сомнительной свежести	0,5098-0,6549	0,1733-0,5757
Мясо не свежее	0,6869-0,8077	0,4045-0,7033

В результате проведенной биометрической обработки получены усредненные данные, отраженные на рисунке 1. Из рисунка 1 видно, что как в мясной вытяжке приготовленной 1:4, так и в вытяжке приготовленной 1:10 имеются изменения результатов оптической плотности в процессе хранения мяса. Так в первый день исследования, т.е. в свежем мясе оптическая плотность в мясной вытяжке, приготовленной 1:4 составляла 0,4653. На второй день, при хранении мяса при комнатной температуре, имеющее по органолептическим и физико-химическим свойствам, показатели мяса сомнительной свежести, оптическая плотность составляла 0,5799, что больше первого дня на 0,1146. На пятый день, когда исследуемые пробы мяса имели явные признаки не свежего мяса, оптическая плотность вытяжки приготовленной 1:4 составляла 0,7506, что больше, чем на второй день на 0,1707 и в сравнении с первым днем на 0,2853.

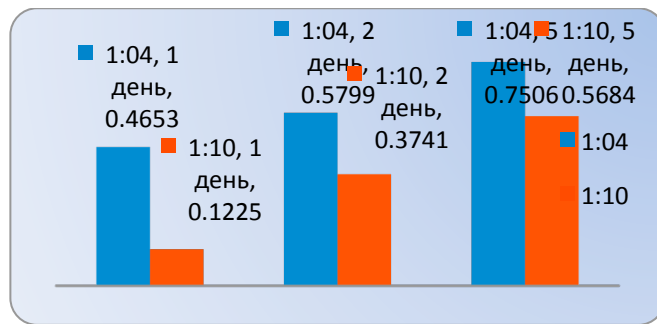


Рисунок 1 – Усредненные результаты определения оптической плотности мясных вытяжек

Таким образом, данный способ определения степени свежести мяса также может быть использован при оценке качества мяса, особенно в спорных случаях, когда одних только органолептических показателей будет недостаточно.

Заключение В результате проведенных исследований, нами предложен способ, позволяющий достоверно определить качественное содержание полифосфатов в мясе и мясных продуктах, который заключается в определении полифосфатов по синему фосформолибденовому комплексу после предварительной обработки пробы (окислением фосфорсодержащих комплексонов) и способ определения степени свежести мяса по изменению оптической плотности мясной вытяжки. На данные способы подготовлены заявки на выдачу инновационных патентов РК.

В настоящее время продолжаются изыскательские исследования по разработке экспресс способов, применимых в условиях лабораторий ветеринарно-санитарной экспертизы рынков для определения качества и безопасности мяса убойных животных.

Данные способы могут, а вернее должны быть использованы при оценке качества и безопасности мяса специалистами лабораторий ветсанэкспертизы и пищевой безопасности.

Литература

1. Майканов Б.С., Балджи Ю.А., Аксеитова А.Б. «Ветеринарно-санитарная оценка качества и безопасности говядины и конины, реализуемой в северном регионе Казахстана». Проблемы теории и практики современной ветеринарной науки. Сборник научных трудов КазНИВИ. Том LIX. 2013. С. 148-154.
2. Гігієна харчування. / Під редакцією В.І.Ципріяна. - К.: Здоров'я, 1999. - С. 91.
3. Пищевая химия. / Под ред. А.П. Нечаева. - СПб.: ГИОРД, 2001. - С. 221.

4. Б.С. Майканов – С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті, ветеринария және мал шаруашылығы технологиясы факультетінің деканы, биология ғылымдарының докторы, профессор,

5. Ю.А. Балджи – С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті, ветеринариялық санитария кафедрасының доценті, ветеринариялық ғылымдарының кандидаты.

Сведения об авторах:

Б.С. Майканов – доктор биологических наук, профессор, декан факультета Ветеринарии и технологии животноводства Казахского агротехнического университета им. С.Сейфуллина,

Ю.А. Балджи – кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры ветеринарной санитарии Казахского агротехнического университета им. С.Сейфуллина,

Ж.Ш. Адильбеков – кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры ветеринарной санитарии Казахского агротехнического университета им. С.Сейфуллина.

Түйін

СОЙЫЛАТЫН МАЛ ЕТІНІҢ САПАСЫНА ВЕТЕРИНАРИЯЛЫҚ - САНИТАРИЯЛЫҚ БАҒА БЕРУДІҢ ЖАҢА ӘДІСТЕРІ

Б.С. Майканов, Ю.А. Балджи, Ж.Ш. Адильбеков

С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті

Мақалада мал етінің сапасы мен қауіпсіздігіне баға берудің әзірленген жаңа тәсілдері ұсынылып отыр, атап айтқанда тағамдық қауіпсіздік және ветеринариялық-санитариялық сараптау зертханаларының мамандарымен қолданылуына болатын мал етінің балаусалығы дәрежесін және құрамындағы полифосфаттарды анықтау тәсілдері.

Кілттік сөздер: мал шаруашылығы өнімдерінің қауіпсіздігі мен сапасы, ет, ветеринарлық-санитарлық сараптау, полифосфаттар

Summary

NEW METHODS OF QUALITY ASSESSMENT OF MEAT SLAUGHTERED ANIMALS

B. Maikanov, Y. Balji, Zh. Adilbekov

S.Seifullin Kazakh Agrotechnical University

The article suggests ways of assessing developed by quality and safety of meat animals, namely, methods for determining the degree of polyphosphates and freshness of meat that can be used by specialists laboratories to food safety and veterinary and sanitary examination.

Keywords: quality and safety of animal products, meat, veterinary and sanitary examination, polyphosphates

УДК: 619:614.31:637.5

ПРОБЛЕМА КОНТАМИНАЦИИ МОЛОКА И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ СОЕДИНЕНИЯМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В АКМОЛИНСКОЙ ОБЛАСТИ

**Б.С. Майканов, Ж.Ш.Адилбеков, Ю.А. Балджи, А. Сарсенбаев, М.
Валиева**

Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина

Резюме В результате проведенного мониторинга по контаминации молока и молочных продуктов соединениями тяжелых металлов в Акмолинской области установлено, что наиболее частые превышения нормы наблюдаются по цинку, меди, мышьяку и реже по свинцу, превышения по кадмию и ртути не установлено. Неблагополучными являются Айыртауский, Зерендинский, Енбекшельдерский районы и г. Степногорск

Ключевые слова: безопасность, качество, соединения тяжелых металлов, молоко, молочные продукты, контаминация

Введение В настоящее время территория Акмолинской области подвергается определенной техногенной нагрузке. Одним из крупных источников загрязнения окружающей среды в данном регионе является АО «Васильковский ГОК» находящееся в Зерендинском районе, добывающее и перерабатывающее золотосодержащие руды. В Енбекшельдерском районе работает опытно-промышленная обогатительная фабрика по переработке золото-барит-полиметаллических руд, месторождения Жаналык (ТОО «Жаналык GOLD»). К таким же опасным районам относится г Степногорск, Акколь, Степняк промышленность которых представлена крупными

промышленными предприятиями которые могут быть источниками загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами [1, 2].

Качество молока и молочных продуктов во многом зависит от экологических условий получения молока. Активная антропогенная деятельность способствует загрязнению природной среды вредными ингредиентами, достигшими критических уровней в большинстве промышленных центров. Техногенный прессинг оказывает непосредственное влияние на состав и свойства молока, поскольку секреторная деятельность молочной железы является составляющей сложного механизма адаптации животных в условиях избыточного поступления вредных веществ. В результате в молоке накапливаются крайне нежелательные микроэлементы, что делает его в некоторых случаях недопустимым для употребления [3, 4, 5].

Распространенность тяжелых металлов в окружающей среде с их неблагоприятным влиянием на организм сельскохозяйственных животных и их продуктивность является актуальной проблемой, прежде всего для районов повышенного техногенного загрязнения.

Исходя из выше изложенного, целью наших исследований явилось проведение мониторинга по контаминации молока и молочных продуктов в Акмолинской области

Материалы и методы исследований Нами для определения уровня контаминации молока и молочных продуктов соединениями тяжелых металлов отбирались пробы молока, творога и сметаны, поступающих в реализацию на продовольственные рынки городов Кокшетау, Степногорск, Щучинск, Степняк и Астана. Всего нами было отобрано для исследований 96 проб вышеназванных продуктов.

Отбор проб молока и молочных продуктов для определения физико-химических и органолептических показателей производили по ГОСТ Р ИСО 707-2010 «Молоко и молочные продукты. Руководство по отбору проб». Определение остаточных количеств соединений тяжелых металлов проводили на вольтамперометрическом анализаторе ГА-Lab.

Результаты и обсуждение В результате проведенных исследований нами были получены следующие данные, представленные в таблице 1.

Таблица 1 - Контаминация соединениями тяжелых металлов молока из Акмолинской области

Районы, n	Элементы, мг/кг					
	Zn	Cd	Hg	Cu	As	Pb
Айыртауский (n=1)	19,682	0,00025	0,00078	0,7413	0,1597	0,0058
Айыртауский (n=5)	18,582 ±0,26	0,00016 ±0,00000	0,00059 ±0,0001	0,5713 ±0,0012	0,0074 ±0,002	0,0024 ±0,0001
Зерендинский	23,341	0,00040	0,00237	0,4551	0,0738	0,2467

(n=2)						
Зерендинский (n=3)	4,696 ±0,001	0,00005 ±0,0000	0,00039 ±0,00001	0,0781 ±0,0002	0,0313 ±0,0014	0,0292 ±0,0012
Енбекшилдер (n=1)	6,448	0,00015	0,00039	0,3418	0,0505	0,0069
Енбекшилдер (n=4)	5,235 ±2,21	0,00012 ±0,0000	0,00123 ±0,0001	0,3413 ±0,021	0,0041 ±0,00012	0,0026 ±0,00014
Бурабайский (n=3)	4,353 ±0,42	0,00018 ±0,0000	0,00041 ±0,0000	0,2563 ±0,024	0,0321 ±0,00014	0,0331 ±0,0012
г Степногорск (n=1)	7,448	0,00032	0,00052	0,0443	0,0612	0,1812
г Степногорск (n=4)	7,432 ±2,12	0,00012 ±0,00001	0,00052 ±0,00002	0,0443 ±0,0026	0,0412 ±0,0012	0,0654 ±0,002
Уалихановски й (n=3)	2,4418 ±0,52	0,00024 ±0,00001	0,00132 ±0,0001	0,0043 ±0,0002	0,0312 ±0,002	0,0325 ±0,0024
Целиноградск ий, (n=3)	2,412 ±0,26	0,00231 ±0,0001	0,00195 ±0,00012	0,0541 ±0,002	0,0412 ±0,002	0,0212 ±0,001
Аккольский, (n=5)	5,312 ±0,6	0,02112 ±0,001	0,0025 ±0,0001	0,0442 ±0,002	0,0023 ±0,00012	0,0614 ±0,0023
Астраханский (n=3)	4,2125 ±0,12	0,0012 ±0,00015	0,0016 ±0,0002	0,0651 ±0,00013	0,0032 ±0,00012	0,0238 ±0,0012
ПДК	5,0	0,03	0,005	0,1	0,05	0,1

Как видно из таблицы 1, установлено превышение предельно допустимых концентраций по цинку практически во всех пробах, за исключением Астраханского, Целиноградского, отдельных проб из Зерендинского района. Причем наибольшее его количество установлено в пробах молока из Айыртауского, Зерендинского района и города Степногорск, где его концентрация соответственно составила 19,682, 23,341 и 7,448 мг/л, при норме 5,0 мг/л, т.е. отмечается превышение ПДК в несколько раз. По содержанию кадмия и ртути превышений нормы не установлено, однако наибольшее накопление этих элементов идет в пробах молока из Аккольского района, где его содержание составило соответственно $0,02112 \pm 0,00012$ мг/л и $0,0025 \pm 0,0001$ мг/л. По содержанию меди превышение допустимых концентраций отмечено в двух пробах молока из пяти исследованных, поступивших из Зерендинского района, его показатель составил в среднем 0,4551 мг/л, при норме 0,1 мг/л, что превышает норму в 4,5 раза. В остальных пробах превышений по данному элементу не обнаружено. По содержанию мышьяка, установлено превышение допустимых концентраций в одной пробе (из шести исследованных) поступившей с Айыртауского района, где он составил 0,1597 мг/л, в двух пробах (из пяти исследованных) с Зерендинского района, где он составил 0,0738 мг/л, в одной пробе (из четырех исследованных) с Енбекшельдерского района, где он составил 0,0505 мг/л и в одной пробе (из пяти исследованных), с г Степногорск, где он составил 0,0612 мг/л, при норме 0,05 мг/л. Заметные превышения предельно допустимых концентраций отмечены в отдельных пробах по содержанию свинца, так в двух пробах молока из Зерендинского

района его количество в среднем составляло 0,2467 мг/л и в одной пробе из г Степногорск его количество составляло 0,1812 мг/кг, при норме 0,1 мг/л.

При исследовании молочных продуктов из данных районов были получены следующие результаты. Установлено, что содержание цинка во всех пробах сметаны и творога превышает норму в несколько раз, за исключением творога из Астраханского района. Превышений нормы по кадмию, свинцу и ртути в исследованных пробах не обнаружено. Отмечены незначительные превышения по содержанию меди в пробах сметаны и творога с Зерендинского района, где оно составляет соответственно 4,15 мг/кг и 5,92 мг/кг, в пробах сметаны с г Степногорск 6,04 мг/кг и в пробах сметаны из Аккольского района 5,95 мг/кг, при норме 4,0 мг/кг. По содержанию мышьяка установлены заметные превышения ПДК в пробах сметаны из Айыртауского района, в пробах творога и сметаны из Зерендинского района, где содержание данного элемента составило соответственно 0,509 мг/кг, 0,306 мг/кг и 0,801 мг/кг, при норме 0,2 мг/кг, что превышает норму в 2 и 4 раза.

Таким образом, неблагополучными по контаминации молока и молочных продуктов соединениями тяжелых металлов являются Айыртауский, Зерендинский, Енбекшельдерский районы и г Степногорск, что возможно связано с тем, что в данных районах наиболее развита металлургическая и золото перерабатывающая промышленность. В лабораториях пищевой безопасности и лабораториях ВСЭ, при поступлении проб молока и молочных продуктов из вышеназванных районов необходимо дополнительно проводить исследование на контаминацию тяжелыми металлами.

Заключение Нами установлено, что в молоке наиболее частые превышения нормы наблюдаются по цинку, меди, мышьяку и реже по свинцу, превышения по кадмию и ртути не установлено. В пробах творога и сметаны накопление выше нормы идет так же по цинку, меди и мышьяку, причем в сметане наблюдаются более высокие концентрации соединений тяжелых металлов, чем в твороге.

Литература

- 1 Информационный бюллетень об экологическом состоянии Акмолинской области. - Кокшетау, 2006 г.-1с.
- 2 Н.И. Ананьев, Ш.А. Исенов, Э.А. Мейрамов «Биоресурсы и экологическое состояние Акмолинской области», Акмола, 1997г. - 62 с.
- 3 Гагарина Л. В. Качество молока и молочных продуктов в техногенной провинции Южного Урала. Выдержки из автореферата диссертации, Уральск, 2004.
- 4 Забегалова Г.Н., Охрименко О.В. Экологические аспекты переработки молочного сырья Вологодской области // Окружающая природная среда и

экологическое образование и воспитание: сборник материалов IV Всероссийской научно-практической конференции. – Пенза. 2004. – С.80-82.;

5 Потороко И.Ю. Научное обоснование и практические аспекты формирования потребительских свойств молочных продуктов, полученных из сырья на территориях техногенного загрязнения // Автореф. дис.... д.т.н. М. - 2012 – 47 с.

Сведения об авторах:

Майканов Б.С. - доктор биологических наук, профессор
Адилбеков Ж.Ш. - кандидат ветеринарных наук, доцент
Балджи Ю.А. - кандидат ветеринарных наук, доцент
Сарсенбаев А., Валиева М. - магистранты

Түйін

АҚМОЛА ОБЛЫСЫНДА АУЫР МЕТАЛЛ ҚОСПАЛАРЫМЕН СҮТ ЖӘНЕ СҮТ ӨНІМДЕРІНІҢ ЛАСТАНУ МӘСЕЛЕЛЕРІ

Б.С. Майканов, Ж.Ш.Адилбеков, Ю.А. Балджи, А. Сарсенбаев, М. Валиева

С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті

Ақмола облысы бойынша сүт және сүт өнімдеріндегі ауыр металл қосылыстарына мониторинг жүргізу нәтижесінде жиі мырыш, мыс күшәлә, сирек түрде қорғасынның нормадан жоғары екендігі белгілі болып ал кадмий мен сынап анықталған жоқ. Айыртау, Зеренді, Еңбекшілдер аудандары мен Степногорск қаласы қолайсыз аймақтар екені белгілі болды.

Кілттік сөздер: қауіпсіздік, сапа, ауыр металл қосылыстары, сүт, сүт өнімдері, контаминация

Summary

PROBLEMS OF CONTAMINATION OF MILK AND MILK PRODUCTS WITH HEAVY METALS IN THE AKMOLA REGION

B. Maikanov, Zh. Adilbekov, Y. Balji, A. Sarsenbaev, M. Valieva

Kazakh Agro Technical University S. Seifullin

As a result of monitoring contamination of milk and milk products with heavy metals Akmola region found that the most frequent excessive body observed for zinc, copper, arsenic and less on lead, cadmium and excess mercury is not installed. Disadvantaged are the Ayrtau, Zerendinsky, Enbeksheldersky areas and Stepnogorsk city.

Keywords: safety, quality, heavy metal compounds, milk, dairy products, contamination

УДК:637.072

ВЕТЕРИНАРНО - САНИТАРНАЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ПЧЕЛИНОГО МЕДА, ПРОИЗВОДИМОГО В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН

Р.Х. Мустафина, Б.С. Майканов

Казахский агротехнический университет им. С.Сейфуллина

Резюме Нами был проведен мониторинг производства и дана ветеринарно-санитарная оценка качества пчелиного меда согласно действующего ГОСТа

Ключевые слова: мед, качество, фальсификация

Введение Пчелиный мед является полезным, многокомпонентным, уникальным продуктом и является альтернативой сахара и сахаросодержащих продуктов, как более здоровый продукт питания [1,2,3].

Главной ценностью его является натуральность и высокие биологические и оздоровительные свойства. Однако полным спектром полезных свойств обладает только качественный, натуральный продукт.

В Республике Казахстан мед производится повсеместно, но основными производителями являются Восточно-Казахстанская, Южно-Казахстанская, Алматинская, Северо-Казахстанская, Жамбылская и Павлодарская области. Однако, в доступной нам литературе, мы не нашли данных о качестве Казахского меда. В связи с чем нами была поставлена цель провести ветеринарно-санитарную оценку пчелиного меда, производимого в республике.

Материалы и методы исследований Для проведения исследований нами в период медосбора 2013 года было отобрано 164 пробы пчелиного меда различного ботанического и географического происхождения. Исследования проводились согласно требованиям ГОСТ 19792-2001. Микроскопию меда проводили при помощи микроскопа Микромед 5.

Результаты и обсуждение В результате проведения мониторинга в различных регионах республики, нами определены основные виды меда в республике: разнотравье – 29,3%, гречиха – 21,3%, цветочный – 12,8%, подсолнух – 9,76%, донник – 9,75%, белая акация - 2,44%, 3,6% - составили в сумме жантачный, кускутный, солодковый виды, производимые в южных регионах республики, остальное – это монофлорные сорта меда (солончаковая астра, василек, мальва, расторопша, иван-чай, василек, эспарцет).

При органолептическом исследовании нами было установлено, что исследуемый мед имел цвет от белого до темно-коричневого, что зависит от ботанического происхождения меда; аромат от слабого, сахарного до ярко выраженного, что зависит от вида меда, натуральности, правильности его хранения; консистенция от жидкой до плотной; вкус от слабого, сахарного до яркого, терпкого.

Через 2-3 месяца после отбора в 7-ми образцах меда наблюдалось расслоение меда на жидкую и плотную части, через 4 месяца в 19-ти, через 7 месяцев в 37 пробах меда (№;164), 12 из которых забродили. При микроскопии, которых был обнаружен рост дрожжей. Однако только в 5-ти образцах наблюдалось повышенное содержание влаги, признак незрелости меда.

Общая кислотность находилась в пределах от 1,2 до 4 см³ NaOH. Только в четырех образцах меда кислотность была ниже 1 см³ NaOH: 0,75 и 0,95 см³ NaOH, что является одним из признаков фальсификации меда и индикатором сниженных бактерицидных свойств.

Диастазная активность колебалась в зависимости от ботанического происхождения меда, наибольшая наблюдалась в гречишном – 32,4±1,7; разнотравье-29,4±1,1; цветочном – 27,7±0,8; доннике- 23,3±0,9; подсолнухе – 21,6±0,7; жантачном – 15,6±0,8; наименьшая в кускутном – 17,3±0,8 единиц Готе.

Зольность меда также имела зависимость от ботанического происхождения. В горном меде – 0,172±0,04, в гречишном – 0,16±0,02, разнотравье – 0,15±0,01; цветочном – 0,15±0,2; подсолнухе – 0,14±0,02;; жантачном – 0,17±0,4; в кускутном – 0,173±0,8; наименьшая в доннике- 0,011±0,3 мг/кг.

Количество инвертированного сахара не зависело от ботанического происхождения меда, в среднем – 72.1±0,2%, в 24 пробах этот показатель был ниже нижней границы нормы 70%, что говорит о фальсификации меда.

В двух пробах меда была обнаружена примесь желатина. Мука и крахмал обнаружены не были.

При микроскопии меда в 59 пробах были обнаружены кристаллы свекловичного сахара (крупные, правильной формы), что является признаком фальсификации меда сахаром. Однако диастазная активность находилась в

пределах допустимой нормы, зольность была снижена только в 3х из них, кислотность в двух, инвертированный сахар в 22 из них.

Закключение В результате проведенных нами исследований, доминирующими сортами меда в республике являются разнотравье, гречишный, цветочный, подсолнух и донник, наименьшее распространение получили васильковый мед, мед с белой акации, иван-чая, мальвы, расторопши.

Исходя из анализа, проведенных нами исследований пришли к заключению, что 36% проб были фальсифицированы сахаром, 7,3% - бродящего меда со сниженными бактерицидными свойствами, 3 % - незрелого меда, в 1,2% - была обнаружена примесь желатина. Что дает нам основание говорить о большом распространении фальсифицированного меда в республике.

Литература

1. Джарвис Д.С. Мед и другие естественные продукты. — Бухарест: Амипондия. 1981. - 217с.
2. Аветисян Г.А., Черевко Ю.А. Пчеловодство. Учебник. - М., 2001. – 244 с.
3. Черевко Ю.А. /Неизученные свойства меда/ Пчеловодство. — 2006. - № 1. - С. 28.

Сведения об авторах:

Мустафина Р. Х. – докторант, Казахский агротехнический университет имени С.Сейфуллина

Майканов Б. С. – доктор биологических наук, профессор, научный руководитель, Казахский агротехнический университет имени С.Сейфуллина

Түйін

**ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНДА ӨНДІРІЛГЕН АРА БАЛЫНЫҢ
САПАСЫНА ВЕТЕРИНАРИЯЛЫҚ - САНИТАРИЯЛЫҚ БАҒА БЕРУ**

Р.Х. Мустафина, Б.С. Майканов

С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті

Қолданыстағы МЕМСТ - ға сәйкес ара балының өндірісіне мониторинг жүргізіліп, сапасына ветеринариялық-санитариялық баға берілді.

Кілттік сөздер: бал, сапа, фальсификация

Summary

VETERINARY - SANITARY ASSESSMENT OF THE QUALITY OF HONEY PRODUCED IN THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

R. H. Mustafina, B. S. Maykanov

Kazakh Agro Technical University named after S.Seifullin

We have monitored the production and done veterinary-sanitary evaluation of the quality of honey, according to the actions of the guests.

Keywords: honey, quality, falsification

УДК:619:616.988:636.1

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЭМФИЗЕМАТОЗНОГО КАРБУНКУЛА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

В. Ю. Сущих, Н. Н. Егорова, Б. Канатов

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приводятся результаты исследования патологического материала от 14 месячного теленка. На основании клинико-эпизоотологических данных, бактериологических исследований от бычка выделена культура *Clostridium chauvoei* – возбудитель эмфизематозного карбункула.

Ключевые слова: эмкар, теленок, микроорганизмы, патологический материал, мышца, инфекция, коллекция культур микроорганизмов

Введение Инфекционные болезни молодняка наносят огромный экономический ущерб животноводству республики. Эмфизематозный карбункул (шумящий) - острая неконтагиозная инфекционная болезнь, характеризующаяся развитием крепитирующих отёков в массивных группах мышц, хромотой и быстрой гибелью животных. Эмфизематозный карбункул характеризуется лихорадкой, развитием крепитирующих поверхностей в отдельных мышцах тела. Заражение происходит алиментарным путем и через поврежденные внешние покровы. Проникновению возбудителя способствуют нарушенные слизистые оболочки рта, воспалительные процессы в желудочно-кишечном тракте, гельминтозы. Вирулентные и токсигенные свойства анаэроба *Clostridium chauvoei* обусловлены продуцированием бета (β) токсина, который имеет свойства некротизирующего, летального токсина [1,2]. Болеет крупный

скот в возрасте от 3 месяцев до 4 лет. Чаще заболевают более упитанные животные, мышцы которых богаты гликогеном, благоприятствующим развитию возбудителя [3]. Источником возбудителя является больное животное, факторам передачи – инфицированные спорами возбудителя почва, корма, пастбища, вода заболоченных стоячих водоемов. Заражение происходит алиментарным путем и через поврежденные кожные покровы. Заболевание эмкаротом наблюдается во все времена года, но наиболее часто в осенне-летний период [4]. В естественных условиях заболевает преимущественно крупный рогатый скот. Племенные животные, особенно мясных пород, более восприимчивы, чем степной и рабочий скот. Независимо от породы повышенной чувствительностью обладают молодые упитанные животные: их мышечная ткань содержит больше гликогена, необходимого для развития микроба [5].

Цель - установление этиологии болезни, выделение и идентификация возбудителя на основании изучения биологических свойств эпизоотической культуры.

Материалы и методы исследований При выполнении работы использовали бактериологические, биохимические методы исследований. Культурально – морфологические свойства пастерелл изучали путем посева проб патологического материала на Китт – Тароцци (МППБ) с добавлением 1% глюкозы [6]. Проводили микроскопию мазков, приготовленных из суточных культур, окрашенных по Граму и простым способом. Вирулентность культуры определяли в опыте на морских свинках путем постановки биопробы. Идентификацию микроорганизмов проводили согласно определителю Берджи [7].

Результаты исследований Для исследования поступил патологический материал от 14 - месячного павшего бычка, принадлежавшему частному фермерскому хозяйству из Жамбылского района Алматинской области. Для исследования были доставлены кусочки сердца, печени, селезенки, лимфатических узлов, легкого, пораженных мышц, тонкого отдела кишечника.

При осмотре мышц отмечались почернение и крепитация, мышцы имели желеобразную консистенцию. Отмечались увеличение региональных лимфатических узлов, имеющих на разрезе темно-красный цвет и очаги кровоизлияний. Легкие отечны и кровенаполнены. Селезенка дряблая и набухшая. На печени имелись некротические очажки. Мышцы темно-красного цвета, пронизаны пузырьками газа. Отмечалось катарально-геморрагическое воспаление тонкого отдела кишечника.

Из печени готовили мазки-отпечатки, окрашивали по Граму. При микроскопии мазков были видны отдельные или попарно лежащие полиморфные (веретенообразные, шаровидные, грушевидные) зернистоокрашенные грамположительные палочки со спорами, которые

располагались центрально или субтерминально. Проведено бактериологическое исследование проб патологического материала. Посевы сделаны из паренхиматозных органов с учетом наибольшей локализации возбудителя эмкара (печень, селезенка, мышца) на среду Китт – Тароцци (МППБ). На вторые сутки в среду добавляли 1% глюкозы. На среде Китт - Тароцци через 24 часа отмечался обильный рост анаэробов в виде сильного помутнения среды. Через 48 часов отмечалось интенсивное газообразование с характерным запахом. Через 3 суток МППБ просветлел, на дно выпал рыхлый беловатый осадок, культура имела запах прогорклого масла. При микроскопии мазков, приготовленных из МППБ, отмечались толстые слегка изогнутые грамположительные подвижные палочки, типичные для *Cl. chauvoei*. Споры бактерий располагаются центрально, субтерминально. Форма спор овальная, споры располагаются свободно. Палочки располагались одиночно, иногда парами. Наблюдалась палочки в виде веретена, лимона, шара из-за споры, располагающейся центрально или субтерминально. Спорообразование начиналось уже через 24 часа, через 48 часов становилось значительным.

Вирулентные свойства *Cl. chauvoei* проверяли путем постановки биопробы на 2 морских свинок массой 350 граммов. Опытным животным вводили глубоко внутримышечно (2 см) по 0,5 мл суточной культуры *Cl. chauvoei* из среды Китт- Тароцци. На вторые сутки (через 18 часов) отмечалась гибель обеих свинок. На месте инъекции у морских свинок отмечался кровянистый выпот и точечные кровоизлияния, кожа плохо отделялась от мышц, подкожная клетчатка отекала, геморрагически инфильтрирована, мышцы темно-красного цвета, сухие, ломкие. Газообразование было незначительным, кишечник не вздут. При вскрытии павших животных отмечались крепитирующие отеки в мышцах задних конечностей, мышцы были темного цвета желеобразной консистенции с характерным запахом, наблюдались патологические изменения в печени и селезенке, брюшная полость заполнена отёчным экссудатом. При посеве проб из мышц, печени, селезенки, кишечника уже через 24 часа отмечался пышный рост кластридий с интенсивным образованием пузырьков газа, в первые сутки отмечалось помутнение, на 2-3 сутки среда светлела, на дно выпадал рыхлый беловатый осадок. Анаэробные культуры обладали неприятным характерным запахом. Из печени павших морских свинок готовили мазки-отпечатки, в которых наблюдались отдельно лежащие грамположительные палочки со спорами. При микроскопии мазков, приготовленных из культуры, выделенной от павших свинок, отмечались грамположительные толстые спорообразующие короткие полиморфные палочки, типичные для *Cl. chauvoei*. Возбудитель эмкара представлен на рисунке 1.

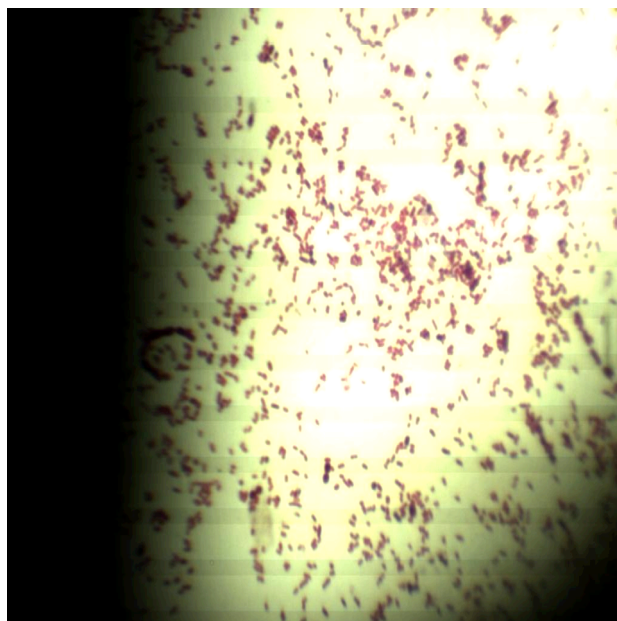


Рисунок 1- Суточная культура *Cl. chauvoei*

На рисунке 1 видны толстые спорообразующие грамположительные палочки, типичные для *Clostridium chauvoei*.

Заключение На основании клинико - эпизоотологических данных, результатов патологоанатомических, бактериологических исследований, и постановки биопробы на морских свинках установлен диагноз и причина гибели 14-месячного бычка. В результате проведенных исследований выделен возбудитель эмфизематозного карбункула крупного рогатого скота *Clostridium chauvoei*. По биологическим свойствам выделенная эпизоотическая культура была идентична коллекционному эталонному штамму В-0039 *Cl. chauvoei* R-15. Выделенная эпизоотическая культура *Clostridium chauvoei*, полученная в результате постановки биопробы от морских свинок, пересеяна на среду Китт – Тароцци. На основании изучения биологических свойств проведена паспортизация *Cl. chauvoei*.

Литература

1. Конопаткин А. А. Эпизоотология и инфекционные болезни сельскохозяйственных животных. М.: Колос, 1984. - С. 261 - 265.
2. Кадымов Р.А. и др. Ветеринарная микробиология. М.: Колос, 1982. - С. 177-180
3. Куриленко А. Н. , Крупальник В. Л. Инфекционные болезни молодняка сельскохозяйственных животных. М.: Колос, 2001. - С.60 - 67.
4. Осидзе Д. Ф. Инфекционные болезни животных. М.: Агропромиздат, 1987. - С.188 - 191.

5. Хайдрих Х.-Д, Грунер И. Болезни крупного рогатого скота. М.: Агропромиздат, 1985. - С.223 - 224.

6. Антонов Б. И. Лабораторные исследования в ветеринарии. М.: Агропромиздат, 1986. - С.175 - 177.

7. Хоулт Дж. Определитель бактерий Берджи. Т. 1, М.: Мир, 1997. - С. 202 - 203, Т.2 , - С. 568.

Сведения об авторах:

Сущих В.Ю. – кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Егорова Н.Н. - кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Канатов Б.К. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Түйін

ІРІ ҚАРА МАЛДЫҢ ҚАРАСАН АУРУЫН БАКТЕРИОЛОГИЯЛЫҚ БАЛАУ

В. Ю. Сущих, Н. Н. Егорова, Б. Қанатов

Мақалада 14 айлық бұзаудың патологиялық материалдарын зерттеудің нәтижелері келтірілген. Клиникалық-эпизоотологиялық, бактериологиялық зерттеулердің нәтижесінде ірі қара малдың эмфизематозды карбункулының қоздырғыштары (*Clostridium chauvoei*) бөлініп алынған.

Кілттік сөздер: қарасан, бұзау, микроорганизмдер, патологиялық материалдар, сан еті, індет, микроорганизмдер тектік қорын сақтау

Summary

THE BACTERIOLOGICAL DIAGNOSTIC OF CLOSTRIDIUM CHAUVOEI OF CATTLE

V. Yu. Suchih, N. N. Yegorova, B. Kanatov

«Kazakh scientific-research veterinary institute» LLP

The results of investigation of pathological material from 14 – month bull are described in article. On base of clinical and epizootically data, bacteriological investigation from animal was separated agent of disease Clostridium chauvoei.

Keywords: gangrene emphysematous, calf, microorganisms, pathological material, muscle, infection, the collection of cultures of microorganisms

УДК 619:616.98:579.851.13Н

ИММУНОГЕННОСТЬ АССОЦИИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ НЕКРОБАКТЕРИОЗА И КОПЫТНОЙ ГНИЛИ ЖИВОТНЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛИОКСИДОНИЯ

В.Ю. Сущих, Б. Канатов

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме Применение полиоксидония в качестве иммуoadъюванта при изготовлении ассоциированной вакцины против некробактериоза и копытной гнили животных способствует положительному адекватному иммунному ответу, выражающемуся в стабильной динамике агглютинирующих антител до максимальных титров, как у крупного, так и у мелкого рогатого скота.

Ключевые слова: некробактериоз, копытная гниль, вакцина, адъювант, полиоксидоний, иммуногенность

Введение Многочисленные эксперименты показали, что наиболее эффективным, безопасным и экономически оправданным средством профилактики инфекционных болезней является вакцинация.

Современная вакцинопрофилактика ориентирована на создание субъединичных вакцин на основе рекомбинантных и химически очищенных высокоиммуногенных протективных антигенов. В целом, современные достижения иммунологии и вакцинологии, в частности, развитие технологий фармацевтической индустрии, интеграция исследователей разных стран в сфере контроля инфекционных болезней позволили вывести на новый уровень разработку и производство вакцинных препаратов [1,2].

Известно, что снижение антигенной нагрузки в вакцинирующей дозе обеспечивает максимальный профиль безопасности препарата. Антигены с адъювантом образуют комплекс, который стимулирует гуморальное и клеточное звенья иммунитета. Это приводит к образованию специфических к

протективным белкам антител, отвечающих за защиту от болезни, и повышает общую резистентность организма к инфекции.

Для стимуляции иммунного ответа в настоящее время предложена группа адьювантов - неспецифических стимуляторов иммунитета, применение которых в составе субъединичных вакцин позволяет значительно усилить гуморальный и клеточный ответ, а также снизить антигенную нагрузку на макроорганизм [2,3].

Однако, большинство классических адьювантов, демонстрирующих значительное усиление клеточного и гуморального звеньев иммунитета при иммунизации биомоделей, не рекомендуются к использованию ввиду токсичности компонентов, входящих в их состав.

В настоящее время многие животноводческие комплексы России и Казахстана для специфической профилактики некробактериоза и копытной гнили животных систематически применяют вакцины против данных болезней.

Учитывая положительный опыт, как собственных исследований, так и ученых из сопредельных стран (Россия, Белоруссия) применения инактивированных вакцин против анаэробных инфекций, и в частности против некробактериоза и копытной гнили животных, нами были проведены дальнейшие эксперименты по разработке вакцинного препарата с использованием иммуноадьюванта полиоксидония.

Материалы и методы исследований Культивирование анаэробных микроорганизмов проводили по общепринятой методике. Так, рассев предварительно изученных и отобранных микроорганизмов проводили раздельно на жидких питательных средах для анаэробных микроорганизмов (мясо-пептонный печеночный бульон под вазелиновым маслом и среда из панкреотических гидролизатов казеина, мяса и дрожжей).

Культивирование возбудителя *F. nodosus* на жидких средах было возможно на мясопептонном печеночном бульоне под вазелиновым маслом только при добавлении в него 0,1% агара.

Длительность культивирования возбудителей на каждом этапе пересевов составляла 24-48 часов при температуре + 37 °С и показателях рН 7,6-7,8.

Инактивирование выросших культур осуществляли раствором формалина в количестве 15% от объема бакмассы в течение 15 суток.

Для повышения иммуногенной активности инактивированной ассоциированной вакцины против некробактериоза и копытной гнили животных были изучены два адьюванта в сравнительном аспекте - раствор геля гидрата окиси алюминия (ГОА) и относительно новый адьювант, обладающий иммуностимулирующими свойствами - полиоксидоний.

ГОА традиционно применяют в производстве вакцин. Благодаря высокой способности к сорбции он выполняет функцию антигенного депо, а также неспецифически усиливает фагоцитоз [1,3].

Полиоксидоний представляет собой N-оксидированное производное полиэтиленпиперазина с высокой молекулярной массой. Полиоксидоний не обладает антигенными свойствами, не оказывает аллергизирующего, мутагенного и канцерогенного действия. Введение антигена в сочетании с полиоксидонием обеспечивает высокий гуморальный ответ даже у низкорезагирующих особей [3,4].

Результаты исследований Учитывая ранее полученные данные, сорбцию полученных комплексных антигенов проводили 6%-ным раствором геля ГОА в количестве 20% от объема, т.к. данные параметры являются наиболее оптимальными.

Учитывая опыт применения полиоксидония в качестве иммуoadъюванта при производстве других бактериальных вакцин, нами была взята оптимальная рекомендуемая пропорция соотношения антигена и полимера 1:1 [5].

После составления вариантов ассоциированных вакцин с различными адъювантами были проведены подробные предварительные исследования в лабораторных условиях. После получения положительных результатов препараты были апробированы в условиях производства.

Клинические исследования безопасности и иммуногенности инактивированной ассоциированной вакцины против некробактериоза и копытной гнили проводили в крестьянском хозяйстве Алматинской области в опытах на крупном рогатом скоте.

Дизайн исследования: рандомизированное, контролируемое сравнительное в параллельных группах.

Для проведения опыта были сформированы две опытные группы по 100 голов в каждой. Вакцину вводили клинически здоровым дойным коровам подкожно в дозе 5,0 мл в среднюю треть шеи однократно.

Иммуногенную активность опытных вакцин оценивали в сравнительном аспекте по титрам агглютинирующих антител в сыворотке крови иммунизированных животных. При этом динамику нарастания антител после вакцинации контролировали через определенные промежутки времени, а именно 14-21-90-120 суток и 6 месяцев.

Парные сыворотки опытных животных, взятые до и через указанные промежутки после вакцинации, исследовали с помощью стандартной методики в реакции агглютинации (РА).

Постановка РА включала следующие этапы: подготовка сывороток, подготовка антигенов для РА и постановка самой реакции. Сыворотки титровали, начиная с разведения 1:2, в качестве антигенов использовали предварительно подготовленные инактивированные суточные культуры возбудителей.

В обеих экспериментальных группах в сыворотках крови привитых животных регистрировали статистически достоверное нарастание титров антител.

По всем анализируемым критериям не наблюдалось статистически достоверной разницы в иммунном ответе на введение вакцины. Результаты опыта представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Иммуногенная активность вакцин, содержащих различные адьюванты

Наименование вакцины/ Опытные животные	Сроки исследования, сут.				
	15	30	60	120	180
	Титры антител к <i>Fus. necrophorum</i>				
Вакцина + ГОА Крупный рогатый скот	1:32- 1:64	1:64 - 1:128	1:64 - 1:128	1:32- 1:64	1:16-1:32
Вакцина + ПО Крупный рогатый скот	1:32- 1:64	1:128-1:256	1:64 - 1:128	1:32- 1:64	1:32-1:64
	Титры антител к <i>F. nodosus</i>				
Вакцина + ГОА Мелкий рогатый скот	1:16- 1:32	1:32-1:64	1:32-1:64	1:16-1:32	1:8-1:16
Вакцина + ПО Мелкий рогатый скот	1:32- 1:64	1:64-1:128	1:64 - 1:128	1:32- 1:64	1:16-1:32

Как видно из данных, представленных в таблице 1, иммунизация обоими видами ассоциированных вакцин способствовало стабильной положительной динамике антителообразованию, как у крупного, так и у мелкого рогатого скота, и сохраняло их на протяжении всего периода исследований (6 месяцев).

Следует отметить, что при оценке потенциальной эффективности вакцин против анаэробных инфекций титры антител не менее чем 1:8-1:16 считают защитным.

При использовании вакцины, содержащей в своем составе в качестве адьюванта - полиоксидоний, отмечалось образование более высоких титров антител 1:64 - 1:128, а у крупного рогатого скота даже до 1:128-1:256 и позволяло сохранять эти показатели более длительный период, до 120-180 суток.

Иммунизация животных препаратом, содержащим гель гидрата окиси алюминия, также способствовало активному иммунному ответу, но антитела выявлялись в более низких титрах. Так, и у крупного и у мелкого рогатого скота агглютинирующие титры к обоим возбудителям в начале и в конце

эксперимента были в пределах 1:32-1:64, а максимальный показатель не превышал предела 1:64 - 1:128. При этом, у мелкого рогатого скота отмечалось их значительное снижение к концу эксперимента до уровня 1:8-1:16.

Изучение частоты местных и общих реакций, проведенное в рамках данного исследования, показало, что опытные вакцины являются безвредными и обладают низкой реактогенностью.

Заключение Проведенные клинические испытания ассоциированной вакцины против некробактериоза и копытной гнили животных, содержащей в качестве адьюванта гели гидрата окиси алюминия или полиоксидоний, показали, что препараты обладали всеми критериями качественного вакцинного препарата - безвредностью, слабой реактогенностью и высокой иммуногенной активностью.

Иммунизация вакциной, содержащей в качестве иммуноадьюванта полиоксидоний, позволила добиться нарастания агглютинирующих антител, как у крупного, так и у мелкого рогатого скота в максимальных титрах и на более длительный поствакцинальный период.

Литература

1 Петров Р.В., Хаитов Р.М., Некрасов А.В. Полиоксидоний – иммуномодулятор последнего поколения: итоги трехлетнего клинического применения /Аллергия, астма и клиническая иммунология. М. 1999. – № 3. – С. 3-6.

2 Хаитов Р.М. Разработка и создание нового поколения конъюгированных полимер-антигенных и синтетических вакцин и иммуногенов. Наука и техника. М. 2013. - № 9. - С. 29-36.

3 Ляпина А.М., Полянина Т.И., Ульянова О.В. Применение полиоксидония для получения специфических антител к бактериальным антигенам/Медицина М., 2012. - № 5. – С. 34-37.

4 Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Матвеева Ж.В. Получение кроличьего иммуноглобулина с применением культурального антигена и полиоксидония. М. Биотехнология. 2013. С. 78-82.

5 Берестецкая Т.З., Голубинский Е.П., Урбанович Л.Я. Способ получения конъюгированных вакцин против холеры. Патент РФ № 2021817,- 7 с.

Сведения об авторах:

Суших В.Ю. – кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Канатов Б.К. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Түйін

МАЛДЫҢ НЕКРОБАКТЕРИОЗ ЖӘНЕ ТҰЯҚ ШІРІМЕСІНЕ ҚАРСЫ ҚОСПАРЛАНҒАН ПОЛИОКСИДОНИЙ ҚОЛДАНЫЛҒАН ВАКЦИНАНЫҢ ИММУНОГЕНДІЛІГІ

В.Ю. Сущих, Б. Канатов

Мақалада малдың некробактериоз және тұяқ шірімесіне қарсы қоспарланған вакцина дайындау барысында, адьювант ретінде полиоксидоний қолданылған вакцинаның иммуногенділігін зерттеудің нәтижелері көрсетілген. Ол вакцинаның иммуногенділігін күшейтіп, агглютиндік антиденің титрін барынша көтерген.

Кілттік сөздер: бақайкұрт (некробактериоз), тұяқ шірімесі, вакцина, адьювант, полиоксидоний, иммуногендік

Summary

IMMUNOGENICITY OF THE ASSOCIATED VACCINE AGAINST NECROBACILLOSIS AND HOOFED DECAY OF ANIMALS WITH USE A POLYOXIDONIUM

V. Y. Suchih, B. Kanatov

«Kazakh scientific-research veterinary institute» LLP

Results of application are given in article polyoxidoniums quality of immunoadjuvant at production of an associated vaccine against necrobacillosis and hoofed decay of animals. It promotes the affirmative adequate immune answer which is expressing in stable dynamics of agglutinating antibodies to the maximum credits, as at large, and at small cattle.

Keywords: nekrobakterioz, hoofed decay, vaccine, adjuvant, polyoxidonium, immunogenicity

УДК 619.619:616.982.15

ДЕЙСТВИЕ АНТИБИОТИКОВ НА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ НЕКРОБАКТЕРИОЗА И КОПЫТНОЙ ГНИЛИ

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме Антибактериальное действие стрептомицина, ампициллина и окситетрациклина на анаэробные микроорганизмы при комбинированном их применении повышается в 2-5 раз по сравнению с использованием монопрепаратов.

Ключевые слова: антибиотик, чувствительность, анаэробы, эффективность

Введение В современной химиотерапии бактериальных инфекций как у человека, так и у животных, ведущее место занимают антибиотики, их полусинтетические и синтетические аналоги.

Открытие антибиотиков явилось началом нового этапа развития как медицины, так и ветеринарии, эффективно используемых для лечения инфекционных заболеваний большой группы соединений с различным механизмом действия и спектром антибактериальной активности.

Сегодня известно и описано более 6000 антибиотиков, из них применение в медицине и ветеринарии нашли около 50. Так, наиболее широко используют β -лактамы (пенициллины и цефалоспорины), макролиды (эритромицин, азитромицин и др.), аминогликозиды (стрептомицин, канамицин, гентамицин, и др.), тетрациклины, полипептиды (бацитрацин, полимиксины и др.), полиены (нистатин, амфотерицин В и др.), стероиды (фузидин) и др. [1].

Антибиотики классифицируют в зависимости от происхождения, химического строения, спектра действия. Для ветеринарной практики важным показателем к применению того или иного препарата является спектр действия - круг микроорганизмов, в отношении которых активен данный антибиотик.

По механизму действия антибиотики можно разделить на: 1) нарушающие процесс образования и функции оболочек микроорганизма, 2) нарушающие синтез рибонуклеиновых и дезоксирибонуклеиновых кислот и белка микробной клетки [1, 2].

Лечебная ценность антибиотиков (при наличии чувствительности к нему возбудителя заболевания) во многом зависит от характера всасывания антибиотика и распределения препарата в организме, а также от путей и динамики его выведения из организма. Большое значение в создании максимальной концентрации в том или ином органе и ткани имеет метод введения препарата.

Однако, при всех положительных характеристиках применение антибиотиков вызывает различные побочные явления как у человека, так и у животных.

Особого внимания заслуживает появление многочисленных устойчивых к антибиотикам форм микроорганизмов, что связано с чрезмерным и зачастую неоправданным их применением.

Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам развивается избирательно. Важным фактором является возникновение устойчивых микробов одновременно к нескольким антибиотикам (полирезистентность, перекрестная лекарственная устойчивость) [3].

Поэтому, в последние годы при заболеваниях, вызванных устойчивыми формами микроорганизмов, рекомендуются новые препараты или комбинированное лечение несколькими антибиотиками.

При лечении анаэробных инфекций, в том числе некробактериоза и копытной гнили, в большинстве случаев показана антибактериальная терапия, которая сочетается с хирургическим вмешательством - удаление нежизнеспособных тканей, дренаж гнойно-некротических очагов с последующей местной обработкой раны.

В целом, сложность лечения данных болезней связана также с тем, что анаэробные инфекции являются полимикробными или вызываются смешанной анаэробно-аэробной микрофлорой [4,5].

Ранее проведенные опыты на аэробных микроорганизмах показали, что комбинированное действие антибиотиков во много раз превосходит антибиотический эффект препаратов, применяемых в отдельности, а за счет уменьшения доз препаратов понижается их токсичность.

В связи с этим целью нашей работы явилось исследование чувствительности анаэробных микроорганизмов к действию антибактериальных препаратов различного происхождения и их комбинированному действию.

Материалы и методы исследований В процессе работы изучали действия антибиотиков – ампициллина натриевой соль (представитель группы пенициллинов), окситетрациклина и стрептомицина в различных их сочетаниях на возбудителей анаэробных инфекций.

В качестве анаэробных культур в опыте были использованы вирулентные эпизоотические культуры *Fus. necrophorum* и *F. nodosus*, выделенные от больных животных в хозяйствах Алматинской области.

В опыте изучали антибиотики различных групп как при моно-применении, так и при их сочетании: стрептомицин с ампициллином, стрептомицин с окситетрациклином и окситетрациклин с ампициллином.

Изучение чувствительности вышеуказанных микроорганизмов проводили на анаэробных жидких питательных средах классическим методом, т.е. двукратными серийными разведениями.

Результаты и обсуждение Результаты опытов представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Антибактериальное действие антибиотиков на *Fus. necrophorum* и *F. nodosus*

Антибиотики	Концентрация антибиотиков, ЕД/мл									
	2,4	1,2	0,6	0,3	0,15	0,07	0,04	0,02	0,01	0,005
<i>Fus. necrophorum</i>										
Стрептомицин			+							
Ампициллин				+						
Окситетрациклин					+					
Ампициллин +0,3 ЕД/мл стрептомицина						+				
Стрептомицин + 0,01 ЕД/мл окситетрациклина							+			
Окситетрациклин + 0,07 ЕД/мл ампициллин								+		
<i>F. nodosus</i>										
Стрептомицин		+								
Ампициллин			+							
Окситетрациклин				+						
Ампициллин +0,3 ЕД/мл стрептомицина							+			
Стрептомицин + 0,01 ЕД/мл окситетрациклина							+			
Окситетрациклин + 0,07 ЕД/мл Ампициллин							+			
Примечание: «---» - отсутствие роста, «+» - наличие роста										

Как видно из данных таблицы, антибактериальное действие ампициллина в сочетании со стрептомицином, было значительно выше, чем каждого препарата в отдельности. Так, при раздельном применении антибиотиков рост возбудителей угнетался ампициллином в концентрации 0,3 ЕД/мл и 0,6 ЕД/мл, соответственно, а стрептомицином 0,6 и 1,2 ЕД/мл, соответственно. При комбинированном применении данных препаратов отсутствие роста вышеуказанных микроорганизмов отмечали при 0,07 ЕД/мл и 0,04 ЕД/мл, соответственно, т.е. одновременное применение пенициллина со стрептомицином усиливает эффект каждого антибиотика в 3-5 раз.

Эффективной оказалась комбинация стрептомицина с окситетрациклином. В комбинированном препарате для угнетения роста обеих культур было достаточно 0,04 ЕД/мл. При использовании раздельно

стрептомицина эти показатели не превышали 0,6 ЕД/мл и 1,2 ЕД/мл, а окситетрациклина и 0,15 ЕД/мл и 0,3 ЕД/мл, соответственно.

Активное антибактериальное действие на изучаемые микроорганизмы оказывал препарат, комбинированный из окситетрациклина и ампициллина, т.к. ингибирование роста отмечали в концентрациях 0,02 ЕД/мл и 0,04 ЕД/мл соответственно. При использовании монопрепаратов из окситетрациклина и пенициллина эти показатели были в 2-4 раза выше.

Заключение Таким образом, антибактериальное действие стрептомицина, ампициллина и окситетрациклина на анаэробные микроорганизмы, а именно на *Fus. necrophorum* и *F. nodosus*, значительно повышается при комбинированном их применении, т.е. отмечается синергидный эффект.

Литература

- 1 Комаровский Д.А., Антибиотики. М., 2011., 182 с.
- 2 Ключников С.О., Болдырев В.Б. Применение макролидов в современных условиях//Русский медицинский журнал. М. 2014. – № 3. – С. 22-25.
- 3 Боро Р., Кастилио Ж. Д., Генеольт Л. Проблема антибиотико-резистентности//Ветеринар – № 2.– С. 28 – 34.
- 4 Соловьева О. В. Рациональные подходы к антибиотикотерапии у животных при хирургических вмешательствах.//Российский ветеринарный журнал.– 2006.– № 1.– С. 35 – 40.
- 5 Ванин С. В., Комплексное лечение гнойно-некротических поражений тканей пальцев у крупного рогатого скота//Автореф. к. вет. н.-2002., 164 с.

Сведения об авторах:

Суших В.Ю. – кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Канатов Б.К. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Түйін

НЕКРОБАКТЕРИОЗ ЖӘНЕ ТҮЯҚ ШІРІМЕСІНІҢ ҚОЗДЫРҒЫШТАРЫНА АНТИБИОТИКТЕРДІҢ ӘСЕРІ

В.Ю. Суших, Б.К. Канатов

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Стрептомициннің, ампициллиннің және окситетрациклиннің әрқайсысын жеке қолданғаннан гөрі оларды анаэробты микроорганизмдерге қарсы кешенді қолдану, олардың микробтарға қарсы әсерін 2-5 есе күшейтеді.

Кілттік сөздер: антибиотик, сезімталдық, анаэробтар, тиімділік

Summary

ACTION OF ANTIBIOTICS ON CAUSATIVE AGENTS OF NECROBACILLOSIS AND HOOFED DECAY

V.Y. Suchih, B. K. Kanatov

«Kazakh scientific-research veterinary institute» LLP

Antibacterial effect of streptomycin, ampicillin and oxytetracyclinium on anaerobic microorganisms at combined their application increases by 2-5 times in comparison with use of monopreparations.

Keywords: antibiotic, sensitivity, anaerobe, efficiency

УДК 61:05-16/186

РАЗРАБОТКА ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ СВИНИНЫ

Ш.Т. Сарбаканова, Л.С. Аубекерова, М.Ю. Минаев, Б.К. Курманов

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приведены результаты исследований по конструированию олигонуклеотидных праймеров для идентификации ДНК свиньи (*Sus scrofa*).

Ключевые слова: ген цитохрома В, ПЦР РВ, TaqMan зонд, свинина, мясные продукты

Введение Обеспечение населения Казахстана высококачественной и безопасной продовольственной продукцией является одной из главных задач нашей страны.

После перехода к рыночной экономике выросло количество мясоперерабатывающих предприятий в нашей стране и это привело к ослаблению контроля качества и безопасности мясных продуктов и, как

следствие, к увеличению риска реализации на потребительском рынке недоброкачественных и даже фальсифицированных товаров, не соответствующих требованиям, установленным нормативными и техническими документами, что представляет серьезную угрозу здоровью населения [2,6].

Важное место в оценке качества мясопродуктов занимает контроль за соблюдением научно обоснованных рецептур и определение сырьевого состава готовых продуктов [1,3,4].

Для исключения из торговли недоброкачественной и фальсифицированной продукции необходимо разработать объективный метод идентификации видовой принадлежности мяса, мясных и растительных ингредиентов, в том числе входящих в состав готовых мясных продуктов, соответствующий передовому уровню науки и техники.

Наиболее перспективным для решения данной задачи является метод, основанный на ДНК-диагностике, а именно метод полимеразной цепной реакции с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени (ПЦР - РВ).

Целью нашей работы является разработать метод контроля качества мясной продукции, основанный на видовом определении ДНК свиньи домашней (*Sus scrofa*) с помощью оригинальных специфических олигонуклеотидных праймеров.

Материалы и методы исследований Детальный анализ митохондриальной и ядерной ДНК изучаемых биологических объектов и поиск их нуклеотидных последовательностей проводили по генетической базе Национального центра биотехнологической информации США (англ. National Center for Biotechnological Information, NCBI), которая находится в открытом доступе в сети Интернет (<http://ncbi.nlm.nih.gov/>).

Анализ выбранных нуклеотидных последовательностей на вариабельность и поиск консервативных участков, необходимых для выбора праймеров проводили с помощью компьютерных программ CLC Sequence Viewer и Primer Express 2 (Applied Biosystems). Специфичность выбранных праймеров теоретически изучали с помощью интерактивной системы BLAST on-line (www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast) [5].

Результаты и обсуждение На основе данных научно-технической литературы и собственных исследований в качестве ДНК-секвенса была выбрана мтДНК. Основанием в пользу мтДНК служила, во-первых, ее многокопийность, количество копий мтДНК составляет 1000-8000 копий на клетку, превышая тем самым количество копий ядерной ДНК в несколько раз. Во-вторых, выраженная изменчивость мтДНК, скорость эволюции которой превышает таковую для яДНК в 10-20 раз, обеспечивая тем самым внутри- и межвидовой полиморфизм.

При помощи международной генетической базы данных NCBI, был проведен детальный анализ свиньи домашней, как по мтДНК, так и по яДНК.

В первую очередь, с целью подтверждения теоретического обоснования выбора мтДНК, как перспективной матрицы для дизайна праймеров, была исследована разрешающая способность ядерных генов. Для этого в программе CLC Sequence Viewer было проведено сравнение ядерного гена миостатина и митохондриального гена цитохрома В свиньи. По итогам данной теоретической проверки были получены результаты, которые свидетельствуют о том, что в отличие от генов яДНК нуклеотидная последовательность генома мтДНК позволяет проводить видовую дифференциацию животных.

В результате анализа из приведенных программой вариантов были выбраны праймеры, включая зонд, отвечающие всем требованиям и наиболее оптимальные для целей идентификации видовой принадлежности мяса и мясных ингредиентов в составе пищевых продуктов.

Теоретически специфичность дизайна праймеров была проверена в режиме on-line при помощи компьютерной программы BLAST. Фрагмент гена цитохрома В, на котором находится участок нуклеотидной последовательности длиной 113 п.н., ограниченный форвард и реверс праймером был сравнен с представленными в генетической базе данных нуклеотидными последовательностями различных пород, кроссов и гибридов видов животных. Дизайн праймеров и зонда для идентификации ДНК свиньи представлен в таблице 1.

Таблица 1 - Дизайн праймеров для идентификации ДНК свиньи

5'-3' последовательность	Т плавления, °С	GC, %	Длина, нп
Forward primer Ggcttttcgctcgacaagaac	61	55	20
Reverse primer Ctgcgagggcggtaatgat	59	61	19
Taqman Accctcacacgattcttcgcctttcactttatc	68	53	33

Из таблицы 1 видно, что представленные последовательности Taqman зонда, а также прямого и обратного праймеров для определения ДНК свиньи по характеристикам: длине, содержанию GC оснований и температуре плавления соответствуют требованиям, предъявляемым к олигонуклеотидным праймерам, используемым для ПЦР.

На рисунке 1, в качестве примера, представлен результат сравнения интересующего нас фрагмента гена цитохрома В с сиквенсом мтДНК подвида «Домашняя свинья» из генетической базы данных.

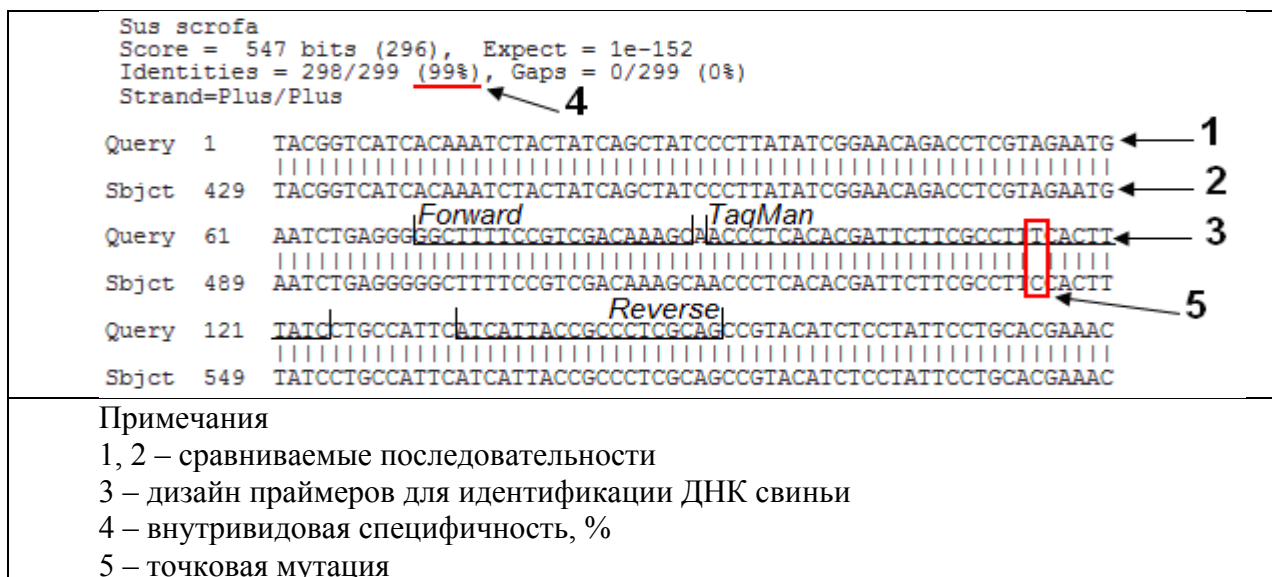


Рисунок 1 - Нуклеотидная последовательность праймеров на участке гена цитохрома В мтДНК подвида «Домашняя свинья»

Как видно из рисунка 1, в зоне нуклеотидной последовательности зонда присутствует замена одного нуклеотида по классу транзиции. Такие генные, или точковые, мутации могут встречаться часто, не приводя к изменениям смыслового кодона. Также данная замена основания не влияет на температуру отжига праймеров и на эффективность амплификации.

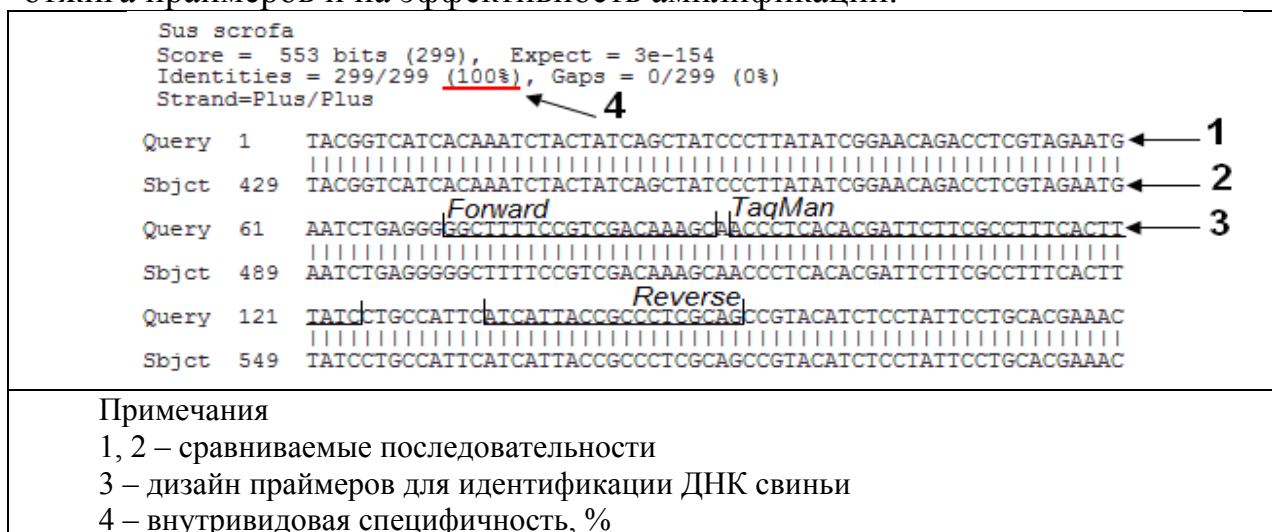


Рисунок 2 - Нуклеотидная последовательность праймеров на участке гена цитохрома В подвида «Домашняя свинья»

На рисунке 2 представлен результат сравнения с нуклеотидной последовательностью гена цитохрома В другого сиквенса мтДНК подвида «Домашняя свинья» из генетической базы данных, показавшего уже 100 % специфичность.

Заключение Таким образом, на основании компьютерного анализа нуклеотидных последовательностей генов митохондриальной и ядерной ДНК свиньи были выбраны гены-мишени, определены их консервативные участки и были сконструированы оригинальные видоспецифические праймеры для идентификации ДНК свиньи.

Литература

1. Боровиков М.Ф., Швец О.М., Кириллов А.К. Определение видовой принадлежности мяса животных // Методическое пособие. М.: А.М. Багро, 1998.-34 с.
2. Ветров В.С., Коваленко И.А., Шалушкова Л.П. Переработка и хранение сельскохозяйственной продукции// Мат. общего собрания Академии аграрных наук респ. Беларусь «Аграрная наука на рубеже XXI века». - Минск, 2000. С. 293-298.
3. Езерская Е.Я. Анализ видовой принадлежности мяса и мясопродуктов // Ветеринария, № 6. М., 2001. - С.45.
4. Кабанова Е.М. Определение видовой принадлежности мяса домашних и диких животных // Автореф. дисс. Чебоксары, 1999. - 23 с.
5. Бутвиловский А.В., Барковский Е.В., Бутиловский В.Э. Сравнительная характеристика вариантов NCBI blast-анализа ряда митохондриальных ферментов различных животных. – Минск: БГМУ, 2006. – № 3(17). – 6 с.
6. Козлова Т.А. К вопросу безопасности и контроля качества мясного сырья и мясных продуктов / г. Орел, РФ, 2012.- 6 с.

Сведения об авторах:

Сарбаканова Ш.Т. - кандидат биологических наук, заведующая лабораторией пищевой безопасности ТОО «КазНИВИ»

Аубекерова Л.С. - кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой безопасности ТОО «КазНИВИ»

Минаев М.Ю. – кандидат технических наук, заведующий лабораторией гигиены производства и микробиологии, ГНУ ВНИИМП им. В.М.Горбатого

Курманов Б.К. – PhD, старший научный сотрудник лаборатории пищевой безопасности ТОО «КазНИВИ»

Түйін

ШОШҚА ЕТІН АНЫҚТАУ ҮШІН ҚОЛДАНЫЛАТЫН ОЛИГОНУКЛЕОТИДТІ ПРАЙМЕРЛЕР ЖАСАУ ӘДІСІ

Ш.Т. Сарбаканова, Л.С.Аубекерова, М.Ю. Минаев, Б.К. Курманов

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада шошқа ДНҚ-ның (*Sus scrofa*) анықтау үшін қолданылатын олигонуклеотидті праймерлерін жасау бойынша зерттеу нәтижелері келтірілген.

Кілттік сөздер: цитохром В гені, НУ ПТР, ТаqMan зонд, шошқа еті, ет өнімдері

Summary

DEVELOPMENT OF THE OLIGONUCLEOTIDE PRIMERS FOR PORK IDENTIFICATION

Sh.T. Sarbakanova, L.S. Aubekerova. M. Y. Minaev. B.K. Kurmanov

«Kazakh Scientific-Research Veterinary Institute» LLP

The article presents the results of research on designing oligonucleotide primers for DNA identification pig (*Sus scrofa*).

Keywords: cytochrome b gene, PCR-RT, Tagman probe, pork, meat products

УДК 575:577.21.636.08.212

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОРГАНИЗМОВ, СОДЕРЖАЩИХСЯ В КОРМАХ, НА БИОХИМИЧЕСКИЕ И ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС ТРЕТЬЕГО ПОКОЛЕНИЯ

Ш.Т. Сарбаканова, З.А. Латыпова, М.Ж. Кенжебаева, К.Т. Касымова

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приводятся результаты изучения действия соевого шрота, содержащего 5% генетически модифицированную сою, на биохимические и гематологические показатели лабораторных белых крыс третьего поколения (F3).

Ключевые слова: ГМ соевый шрот, крысы, биохимия, гематология

Введение Негативное влияние генетически модифицированных организмов (ГМО) на здоровье людей и животных показано учеными многих стран мира [1,2,3,4]. По данным ветеринарно-санитарных служб Голландии, Швейцарии, Дании, агрокомпаний и специалистов Медицинского Совета Великобритании употребление нового вида ГМ-кукурузного зерна, в котором в 2-3 раза повышено содержание белка, может со временем необратимо изменить иммунную систему людей и животных, спровоцировать онкологические и нервные заболевания. Группа ученых под руководством Жиля-Эрика Сералини из Каенского университета провела серию экспериментов на крысах, которые употребляли в течение двух лет в пищу кукурузу сорта NK603, устойчивую к гербициду Roundup. Результаты показали, что у самцов крыс в 2,5-5,5 раза чаще, чем у животных контрольной группы встречались случаи поражений печени и в четыре раза чаще – случаи рака, у самок опытных групп, наблюдался рост опухолей молочных желез [1].

Также, известным ученым Арпадом Пуштаем из Университета Абердина (Великобритания) было обнаружено, что кормление крыс ГМ картофелем с геном лектина луковиц подснежника в течение 10 дней приводило к угнетению иммунной системы, уменьшению веса внутренних органов и патологическим изменениям в них (разрушалась печень, изменялись зубная железа и селезенка) по сравнению с крысами, которые питались обычным картофелем [2].

Итальянские ученые М. Malatesta с соавторами проверяли влияние ГМ-сои, устойчивой к гербициду Roundup, на мышей. Патологические изменения были обнаружены в печени, поджелудочной железе и семенниках у подопытных мышей [3].

В связи с вышеизложенным является актуальным детальное и всестороннее исследование воздействия ГМО на жизнедеятельность организма и его систем. Одной из таких важнейших систем является кровь. Находясь в тесном соприкосновении с тканями, кровь обладает всеми реактивными свойствами тканей, по изменению состава крови (клеточного или биохимического) можно судить о наличии патологического процесса, о состоянии и функционировании организма в целом [5].

Таким образом, целью исследования стало изучение гематологического и биохимического состава крови лабораторных крыс третьего поколения (F3), в рацион которых был включен корм, содержащий генетически модифицированную сою.

Материалы и методы исследований Исследования выполнены на третьем поколении крыс (F3). Гематологические исследования проводились на автоматическом гематологическом анализаторе MS4/3 (ветеринарный набор), биохимические – на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Screen master с использованием реагентов фирмы «Vital». Все разведения и расчеты определяли согласно инструкции для каждого набора.

Результаты и обсуждение Объектом исследований служила кровь и сыворотка крови от беременных самок F3 из опытной и контрольной групп. Результаты исследований представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1 - Биохимические показатели сыворотки крови лабораторных крыс

Показатели	Контроль	Опыт
	n-5 M±m	n-5 M±m
Общий белок г/л	65,4±0,6	58,5±0,8
Кальций ммоль/л	2,2±0,02	2,4±0,04
Калий ммоль/л	5,4±0,4	6,0±0,04
Фосфор ммоль/л	1,6±0,5	2,2±0,3
Магний ммоль/л	4,5±0,03	6,1±0,04

Как видно из таблицы 1, содержание белка в опытной группе составило 58,5±0,8 г/л, у контрольной группы 65,4±0,6 г/л. Количество кальция для опытных животных составило 2,4±0,04 ммоль/л и 2,2±0,02 ммоль/л для контроля.

В крови крыс опытной группы количество калия (6,0±0,04ммоль/л), фосфора (2,2±0,3 ммоль/л) и магния (6,1±0,04 ммоль/л) были выше, чем в контрольной группе 5,4±0,4 ммоль/л, 1,6±0,5 ммоль/л и 4,5±0,03 ммоль/л.

Таблица 2 - Гематологические показатели крови лабораторных крыс

Показатели	Контроль	Опыт
	n-5 M±m	n-5 M±m
Лейкоциты * 10 ⁹ /л	6,02±1,2	2,72±1,7
Лимфоциты %	94,5±0,2	85,3±0,4
Моноциты %	3,8±2	5,2±3
Гранулоциты %	1,7±1,6	9,5±3,4
Эритроциты *10 ¹² /л	7,44±1,3	3,45±1,5
Гемоглобин г/л	12,9±0,06	5,9±0,05
Гематокрит %	9,3±0,03	10,0±0,06
Средний объем эритроцитов ф/л	42,1±4,5	61,9±4,3

Среднее содержание гемоглобина в эритроцитах п/г	17,3±2	17,1±2,25
Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах г/л	30,6±1,4	27,6±1,9
Тромбоциты* 10 ⁹ /л	694±124	391±147

Данные таблицы 2 свидетельствуют о некоторых отличиях в гематологических показателях крови животных опытных групп по сравнению с контрольными. Так, количество лейкоцитов и эритроцитов снижено в крови опытной группы $2,72 \pm 1,7$ и $3,45 \pm 1,5$, остальные показатели в пределах физиологической нормы для крыс. Так, количество лимфоцитов, моноцитов, эритроцитов, гемоглобина, гематокрита, средний объём эритроцитов, среднее содержание гемоглобина в эритроцитах, средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах, число тромбоцитов, как у контроля, так и в опытной группе не выходили за пределы нормы для данного вида и физиологического состояния животных.

Заключение Полученные данные биохимических и гематологических исследований указывают на некоторые изменения в клеточном составе крови беременных самок крыс F3 (понижено содержание лейкоцитов и эритроцитов) и различия в содержании макроэлементов у опытной группы, в рацион которой ежедневно входил ГМ корм.

Литература

1. Сералини Ж.Э. с соавт. Долгосрочная токсичность гербицида Раундап и Roundup-толерантной генетически модифицированной кукурузы // Пищевая и химическая токсикология, 2012, Т. 50, вып. 11. – С. 4221-4231.
2. Pusztai A., Report of Project Coordinator on data produced at the Rowett Research Institute. SOAEFD flexible Fund Project RO 818. 22 October 1998.
3. Malatesta M., Biggiogera M., Manuali E. et al. Structural analysis of pancreatic acinar cells nuclei from mice fed on genetically modified soybean // Eur J. Histochem, 2003. - v. 47:385-388.
4. www.biosafety.ru
5. Гринипун Л.Д. Большие эозинофилы крови и их клиничко-диагностическое значение. - М., 1962. - 151с.

Сведения об авторах:

Сарбаканова Ш.Т. - кандидат биологических наук, заведующая лабораторией пищевой безопасности ТОО «КазНИВИ»

Латыпова З.А. - кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой безопасности ТОО «КазНИВИ»

Кенжебаева М.Ж. - младший научный сотрудник лаборатории пищевой безопасности ТОО «КазНИВИ»

Касымова К.Т. - магистр ветеринарии, младший научный сотрудник лаборатории пищевой безопасности ТОО «КазНИВИ»

Түйін

Ш.Т. Сарбаканова, З.А. Латыпова, М.Ж. Кенжебаева, К.Т. Касымова

АЗЫҚТАРДЫҢ ҚҰРАМЫНДАҒЫ ГЕНДІК ТҮРЛЕНДІРІЛГЕН АҒЗАЛАРДЫҢ ЗЕРТХАНАЛЫҚ ЕГЕУҚҰЙРЫҚТАРДЫҢ ҮШІНШІ ҰРПАҒЫНЫҢ ГЕМАТОЛОГИЯЛЫҚ ЖӘНЕ БИОХИМИЯЛЫҚ КӨРСЕТКІШТЕРІНЕ ӘСЕРІ

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада құрамында 5%-дық генетикалық модификацияланған соясы бар соя шротының зертханалық ақ егеуқұйрықтар үшінші ұрпағына (F3) гематологиялық және биохимиялық әсерін зерттеу нәтижелері келтірілген.

Кілттік сөздер: гендік модификацияланған соя шроты, егеуқұйрықтар, биохимия, гематология

Summary

Sh.T. Sarbakanova, Z.A. Latypova, M.Zh. Kenzhebaeva, K.T. Kasymova

STUDY THE INFLUENCE OF GMO CONTAINED IN ANIMAL FEED ON BIOCHEMICAL AND HEMATOLOGICAL INDICES OF RATS IN THE THIRD GENERATION

«Kazakh Scientific-Research Veterinary Institute» LLP

In this article given results of the influence of 5% genetically modified soybean on the hematological and biochemical indices laboratory rats in the third generation.

Keywords: genetically modified soybeans, rats, biochemistry, hematology

РАЗРАБОТКА СПОСОБА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДИОКСИНОВ В КОРМАХ НА ОСНОВЕ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА

Ш.Т. Сарбаканова, З.А. Латыпова, Л.С. Аубекерова

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье изложен метод определения диоксинов в кормах, на основе биолюминесцентных бактерий *Photobacterium phosphoreum* В-0273 разработанный в лаборатории пищевой безопасности ТОО «КазНИВИ».

Ключевые слова: люминесценция, диоксины, *Photobacterium phosphoreum*, корма

Введение Диоксины оказывают неблагоприятные эффекты на все формы живой материи – от бактерий до теплокровных. Эти ксенобиотики проявляют целую гамму токсических эффектов, реализующихся по разнообразным механизмам [1,2,3].

Они не подвергаются естественной деградации в среде обитания человека и в нем самом, аккумулируются в основном в жировых тканях живых организмов, накапливаясь и поднимаясь вверх по цепи питания. На самом верху этой цепи находится человек, и около 90 % диоксинов поступает к нему с животной пищей [4,5].

Для определения диоксинов используются так называемые тандем-приборы, сочетающие принципы методов газожидкостной хроматографии и масс-спектрометрии. Стоимость каждого такого определения достигает 1-3 тысячи долларов США. В связи с этим разработка отечественного экспресс-теста на основе светящихся бактерий является актуальной задачей.

Материалы и методы исследований Для решения поставленных задач использовались микробиологические методы культивирования бактерий, биохимические методы [6,7]. Отбор проб проводили соответственно ГОСТ Р 51447-99, ГОСТ 27262-87. Измерение биолюминесценции проводили на люминесцентном спектрометре Perkin Elmer LS55 (США).

Результаты и обсуждение Для определения зависимости интенсивности люминесценции от количества бактерий в фотометрическую кювету добавляют 4,0 см³ 3%-го раствора хлорида натрия, измеряют показатель биолюминесценции для получения базовой линии в качестве нулевого показателя. Готовят тест-систему из суточной культуры *Photobacterium phosphoreum* В-0273. В пробирку с суточной культурой добавляют 3 см³ 3%

раствора натрия хлорида, тщательно ресуспендируют для максимального намыва (выхода) бактерий. Далее микропипеткой добавляют строго определенное количество (шаг по 20 мкл) биолюминесцентных бактерий из заранее приготовленного концентрата (3 млрд клеток в см³). Максимальный показатель прибора по интенсивности (I=1000) принимают за 100%. Максимальный уровень люминесценции наблюдается при использовании бактерий в объеме 260 мкл суспензии, что соответствует концентрации 10⁸ клеток в кювете люминометра (объем кюветы 4,0 см³).

Для проведения анализа используют биолюминесцентную систему - клеточную суспензию культуры бактерии *Photobacterium phosphoreum* В-0273. Концентрация бактерий доводится до 3-4 млрд клеток в см³ по эталонному бактериальному стандарту мутности.

Далее определяют влияние диоксина на люминесценцию бактерии *Photobacterium phosphoreum* В-0273. С этой целью в кювету с суспензией бактерии *Photobacterium phosphoreum* В-0273, концентрация которых составляет 10⁸ клеток, добавляют 10 мкл раствора диоксина с концентрацией 10⁻¹¹ г/л или диоксинсодержащий образец, выделенный из кормов для животных. Затем измеряют люминесценцию. При добавлении диоксина наблюдается резкое падение интенсивности свечения, которое достигает минимума в течение 5-8 минут.

Используя полученные данные, рассчитывают индекс токсичности диоксина по формуле:

$$ИТ = [(I_k - I_o) / I_k] \cdot 100 \% , \text{ где}$$

ИТ - индекс токсичности;

I_o - интенсивность свечения в анализируемой пробе;

I_k - интенсивность свечения в контрольной пробе.

Закключение Заявляемый способ определения диоксинов в кормах на основе биолюминесцентного анализа является чувствительным, может обнаружить следы диоксинов, отличается высокой информативностью, при этом время проведения анализа составляет в среднем 30 минут.

Использование разработанного способа определения диоксинов в кормах на основе биолюминесцентного анализа позволит существенно упростить процедуру анализа, сократить время и затраты при тестировании кормов на содержание диоксинов.

Литература

1. Аргунов, М.Н. Диоксины (полихлордибензодиоксины, ПХДД) // Ветеринарная токсикология с основами экологии. СПб.: Издательство «Лань», 2007. - С.313-320.
2. Exposito, M. Dioxins // Cincinnati: US EPA 600/2-8.-197. - 1980. - November. - 351 p.
3. Епифанцев, А.В. Диоксины: отдаленные медицинские последствия воздействия на здоровье населения // Вестник российской военно-медицинской академии, Санкт-Петербург, 2008. - 159 с.
4. Ильязов, Р.Г. Загрязнение среды обитания диоксинами и другими органическими токсикантами // Адаптация агроэкосферы к условиям техногенеза. Казань, 2006.- С.46-50.
5. Новиков, В.А. Диоксины: источники загрязнения, опасность, предупреждение отравлений // Ветеринария. - 2004-№5 -С. 51-55.
6. Гительзон И.И., Родичева Э.К., Медведева С.Е. и др. Светящиеся бактерии. - Новосибирск: Наука. СО. -1984. -275с.;
7. Застенская И.А. и др. Определение полихлорированных дибензо-п-диоксинов и дибензофуранов в мясных, молочных, рыбных продуктах, а также в кормах методом хромато-масс-спектрометрии. Инструкция по применению. – Минск. -2005. – 27 с.

Сведения об авторах:

Сарбаканова Ш.Т. - кандидат биологических наук, заведующая лабораторией пищевой безопасности ТОО «КазНИВИ»

Латыпова З.А. - кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой безопасности ТОО «КазНИВИ»

Аубекерова Л.С. – кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой безопасности ТОО «КазНИВИ»

Түйін

БИОЛЮМИНЕСЦЕНТТІ ТАЛДАУ НЕГІЗІНДЕ АЗЫҚТАР ҚҰРАМЫНДАҒЫ ДИОКСИНДЕРДІ АНЫҚТАУ ӘДІСІН ЖАСАУ

Ш.Т. Сарбаканова, З.А. Латыпова, Л.С. Аубекерова

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада «ҚазҒЗВИ» ЖШС, тағам қауіпсіздігі зертханасында Photobacterium phosphoreum B-0273 бактериясын қолдана отырып жасалған азықтардағы диоксиндерді анықтау әдісі келтірілген.

Кілттік сөздер: люминесценция, диоксиндер, Photobacterium phosphoreum, азықтар

Summary

Sh.T. Sarbakanova, Z.A. Latypova, Aubekerova L.S.

DEVELOPMENT OF THE WAY OF DEFINITION OF DIOXINE IN STERNS ON THE BASIS OF THE BIOLUMINESCENT ANALYSIS

«Kazakh Scientific-Research Veterinary Institute» LLP

In article is submitted the method of definition of dioxine in sterns, on the basis of bioluminescent bacteria of Photobacterium phosphoreum B-0273 developed in laboratory of food safety of «KazSRVI» LLP.

Keywords: luminescence, dioxine, Photobacterium phosphoreum, stern

УДК 639.31.04+639.2.09

ПЦР-ПДРФ АНАЛИЗ ДНК СУДАКА

Ш.Т. Сарбаканова, К.Т. Касымова, Г.А. Шалахметова

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приведены результаты изучения ДНК судака с помощью ПЦР-ПДРФ анализа. Выявлены ДНК-фрагменты, которые при дальнейшем исследовании могут служить видоспецифическими маркерами для этого вида рыб.

Ключевые слова: судак, ДНК, ген цитохрома В, полиморфизм длин рестрикционных фрагментов

Введение ПЦР-ПДРФ анализ широко используется в генетических исследованиях популяций, так как наличие в геноме исследуемого организма рестрикционного фрагмента ДНК определенной длины является отличительным генетическим маркером и одновременно фенотипическим признаком, тесно связанным с генотипом организма. Анализ полиморфизма длины

рестрикционных фрагментов проводится в несколько этапов: выделение геномной ДНК, постановка полимеразной цепной реакции со специфическим праймером на определенный ген, секвенирование этого фрагмента, рестрикция подобранной специфической эндонуклеазой и электрофоретическое разделение полученных рестрикционных фрагментов ДНК в агарозном или полиакриламидном геле. Если сайты рестрикции данной эндонуклеазы присутствуют во фрагменте ДНК, то будет выявлено два или больше мелких отрезков ДНК, соответственно наличию сайтов рестрикции. При отсутствии рестрикции, то есть расщепления, на электрофореграммах будет выявляться большой фрагмент ДНК. Исходя из этого, целью исследований было провести ПЦР-ПДРФ анализ ДНК судака с определением маркерных рестрикционных фрагментов ДНК.

Материалы и методы исследований Выделение и последующую очистку ДНК проводили методом абсорбции на колонках (PALL) [1] с контролем качества выделения на спектофотометре SPECTRAMax PLUS 384. ДНК хранили при температуре ниже 20°C до использования. Амплификацию и последующее секвенирование проводили с использованием универсальных праймеров на цитохром В митохондриальной ДНК: GluFish (прямой праймер) – ААССАССgTTgTTATТСААСТАСАА и THR-Fish (обратный праймер) – АССТССgATCTTCggATTАСААgАСС с ДНК судака и берша (для сравнения с судаком).

ПЦР-реакции содержали около 100 нг ДНК и проводились в объеме 15 мкл [70 mM Трис-НСl (рН 8.3), 16,6 mM (NH₄)₂SO₄, 2 или 3 mM MgCl₂, по 100 мкМ каждого дезоксирибонуклеозидтрифосфата, по 1,5 пкМ каждого из праймеров, 1 ед. SolarTaq-полимеразы]. Амплификацию проводили по следующей схеме: предварительная денатурация ДНК: 95 °С – 10 мин, синтез ПЦР-продуктов (30 циклов): плавление – 94 °С – 20 сек, отжиг праймеров – 54 °С – 40 сек, синтез ДНК – 72 °С – 60 сек, окончательная достройка цепей: 72 °С – 10 мин [2].

Результат амплификации проверялся методом электрофореза в агарозном геле с окрашиванием бромистым этидием [3]. Секвенирование Cyt В митохондриальной ДНК проводилось с тех же праймеров в обоих направлениях на ABI PRIZM 3100 с набором BigDye v1.1 с последующим анализом и выравниванием последовательностей с помощью биоинформационного пакета программ LaserGene 6.0 [4].

Результаты и обсуждение На генетические исследования были отобраны 25 проб из судака, выловленного в озере Балхаш, из которых были выделены и очищены ДНК (рисунок 1).

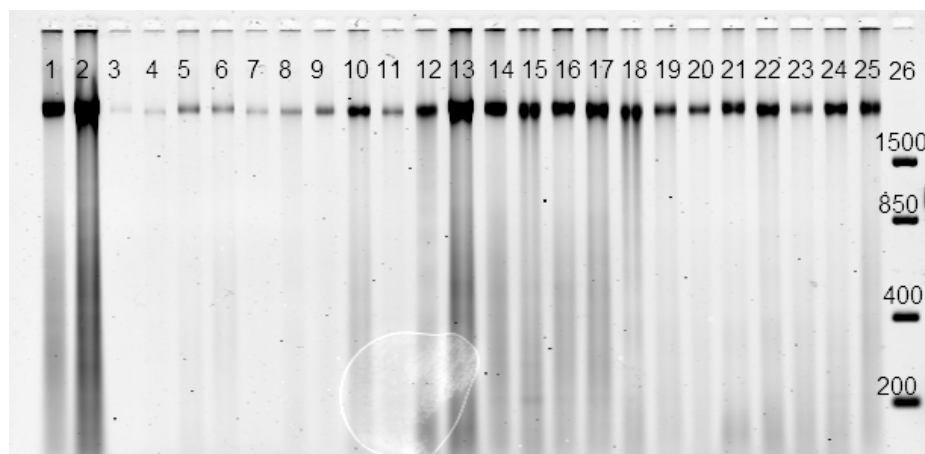


Рисунок 1 - ДНК проб судака озера Балхаш

В результате исследований получена последовательность по гену цитохрома В (Cyt В) в 450 пар оснований митохондриальной ДНК у исследованных проб ДНК. Полиморфизм по нуклеотидной последовательности гена цитохрома В в исследованных выборках судака выловленных в западной и восточной частях Балхаша не обнаружен, все последовательности являются идентичными. Ранее немецкими учеными было показано наличие двух митотипов судака, один из которых был преобладающим для судака в Европе [5].

Однако, выявлено 5 точечных мутаций в виде замены одного нуклеотида на другой в последовательности гена цитохрома В у берша (VOL) при сравнении с судаком (STI): слева направо – 11 (G на C), 29 (C на T), 47(G на C), 77 (C на T), и 107 (C на T) позиции (рисунок 2).

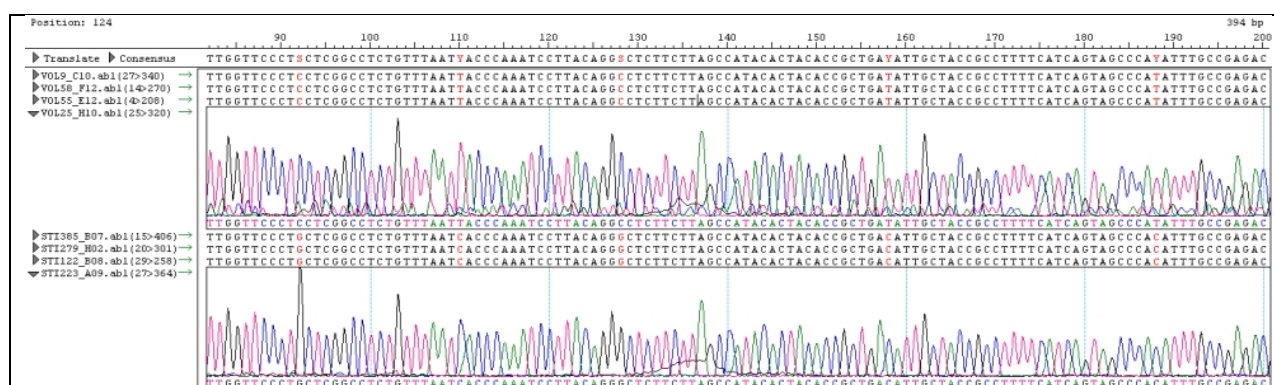


Рисунок 2 - Последовательности гена Cyt В мтДНК судака и берша

На рисунке 2 отмечены пять точечных мутаций. После секвенирования последовательности гена Cyt В и выявления точечных мутаций между бершом и судаком, полученные последовательности были проанализированы на наличие

дифференцирующих сайтов рестрикции для 30 известных рестриктаз, и выявлены две рестриктазы: *Hae*III и *Tsp*509I, имеющие сайты рестрикции, модифицированные однонуклеотидными заменами.

Рестриктаза *Hae*III имеет сайт расщепления: 5'...GG↓CC...3'
3'...CC↓GG...5'

Рестриктаза *Tsp*509I расщепляет в сайте: 5'...AA↓TT...3'
3'...TT↓AA...5'

На агарозном электрофорезе были получены результаты рестрикции в виде набора фрагментов различной длины, в соответствии с наличием или отсутствием сайтов рестрикции и четко различающийся у судака и берша (рисунок 4).

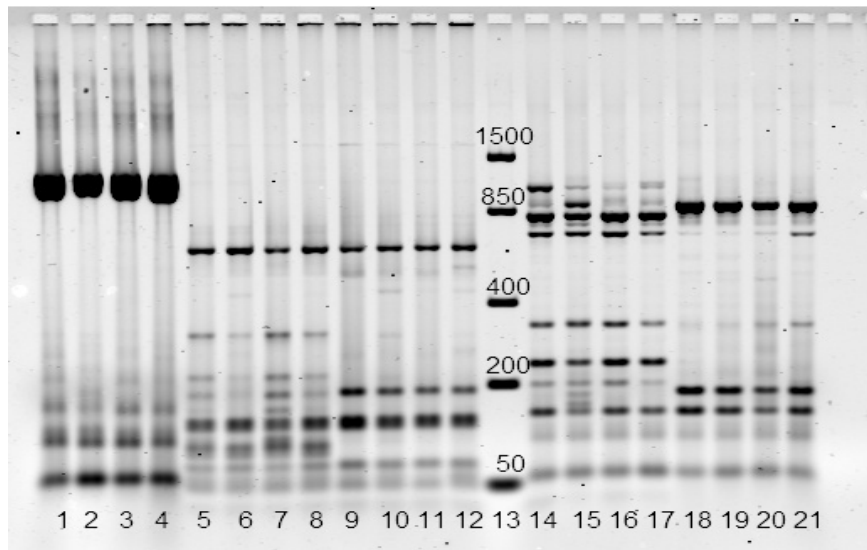


Рисунок 4 - ПЦР-ПДРФ анализ судака и берша

На рисунке 4 показано: 1,2 - ПЦР продукт гена *Cyt B* судака до рестрикции; 3,4- ПЦР продукт гена *Cyt B* берша до рестрикции; 5-8 – ДНК фрагменты берша и 9-12 – ДНК фрагменты судака после рестрикции рестриктазой *Tsp*509I; 13 – маркер молекулярных масс; 14-17 – ДНК фрагменты берша и 18-21 – ДНК фрагменты судака после рестрикции рестриктазой *Hae*III.

Из рисунка 4 видно, что электрофореграммы фрагментов ДНК после ПЦР-ПДРФ анализа у судака и берша отличаются между собой. После рестрикции ферментом *Hae* III в верхней части спектра у судака отсутствуют, а у берша выявляются ДНК фрагменты размером около 700, 800 и 320 пар нуклеотидов. После рестрикции ферментом *Tsp*509I у судака выявляется фрагмент величиной около 190 пар нуклеотидов, отсутствующий у берша.

Заключение Таким образом, в результате ПЦР-ПДРФ анализа ДНК судака и берша выявлены ДНК-фрагменты, которые при дальнейшем

исследования могут служить видоспецифическими маркерами для этих видов рыб.

Литература

1. Ivanova N.V., deWaard J., Hebert P.D.N. An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA // *Molecular Ecology Notes*. V.6. P.998–1002.
2. Mullis K., Faloona F., Scharf S. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. // *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 1986. v.5. P.263-273.
3. Маниатис Т., Фритч Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование М.: Мир, 1984. С. 159-172.
4. Sevilla R.G., Diez A., Norén M. et al. Primers and polymerase chain reaction conditions for DNA barcoding teleost fish based on the mitochondrial cytochrome b and nuclear rhodopsin genes // *Molecular Ecology Notes*. 2007. V.7. №5. P.730-734.
5. Kohlmann K., Louati M., Kersten P. et al. Detection of two major cytochrome b lineages in pike-perch, *Sander lucioperca*, and first data on their distribution in European populations // *Environmental biotechnology*. 2013. V.9 (1). P.1-5.

Сведения об авторах:

Сарбаканова Ш.Т. - кандидат биологических наук, заведующая лабораторией пищевой безопасности ТОО «КазНИВИ»

Шалахметова Г.А. - кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории пищевой безопасности ТОО «КазНИВИ»

Касымова К.Т. - магистр ветеринарных наук, младший научный сотрудник лаборатории пищевой безопасности ТОО «КазНИВИ»

Түйін

КӨКСЕРКЕНІҢ ДНҚ-ЫН ПТР-РФҰП КӨМЕГІМЕН ТАЛДАУ

Ш.Т. Сарбаканова, К.Т. Касымова, Г.А. Шалахметова

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада ПТР-РФҰП талдау көмегімен көксеркенің ДНҚ-ын зерттеу нәтижелері келтірілген. Анықталған ДНҚ-фрагменттерін ары қарай балықтың осы түріне тән маркерлер ретінде пайдалануға болады.

Кілттік сөздер: көксерке, ДНК, цитохрома В гені, рестрикциялық фрагменттердің ұзындығының полиморфизмі

Summary

PCR-RFLP ANALYSIS OF PIKE-PERCH DNA

Sh.T. Sarbakanova, K.T.Kasimova, G.A. Shalachmetova
«Kazakh Scientific-Research Veterinary Institute» LLP

In the article presents the results of PCR-RFLP analysis of the pike-perch DNA. Identified DNA fragments can serve as a species-specific markers for further study.

Keywords: pike-perch, DNA, cytochrome b gene, restriction fragment length polymorphism

УДК 636.082.13:57.089.3

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ПРОВЕДЕНИЯ ПЦР ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ГМО РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Ш.Т. Сарбаканова, Н.С.Омарбек

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приведены результаты по отработке условий проведения полимеразной цепной реакции с двумя парами праймеров для определения генетически модифицированных организмов растительного происхождения.

Ключевые слова: праймер, генетическая модификация, идентификация

Введение Современные методы идентификации генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения основаны на обычной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР - РВ) или на ассиметричной ПЦР с последующей гибридизацией продуктов реакции на биологическом микрочипе. Последний метод одновременно устанавливает наличие или отсутствие в анализируемой пробе не менее пяти различных трансгенных последовательностей ДНК и требуют специального дорогостоящего оборудования и реактивов. Все тест-наборы для определения ГМО приобретаются за рубежом. В связи с этим, разработка новых

и совершенствование существующих методов обнаружения ГМО в кормах для животных и продуктах растительного происхождения, является необходимой и востребованной темой в свете необходимости установления контроля за оборотом продукции, содержащей ГМО в Казахстане. Разработка высокоэффективных диагностических методов для выявления трансгенных организмов в пищевых продуктах, продовольственном сырье, кормах для животных является одной из актуальнейших задач отечественной биотехнологии [1].

Материалы и методы исследований Молекулярно – генетические исследования выполнены по общепринятым методикам. Выделение ДНК проводили экспресс-методом с использованием реагента PrepMan Ultra (США). Выход суммы нуклеиновых кислот и качество их очистки определяли по оптическим характеристикам. Препараты разбавляли в 100 раз бидистиллированной водой и измеряли экстинкцию при длинах волн 260 и 280 нм на спектрофотометре СФ-46. Измерение поглощения раствора при длине волны 260 нм позволяет рассчитать концентрацию нуклеиновой кислоты в пробе. Отношение D_{260}/D_{280} позволяет судить о чистоте нуклеиновой кислоты. Чистые препараты ДНК и РНК имеют отношение D_{260}/D_{280} , равное 1,8 и 2,0 соответственно. Если препарат содержит примесь белка или фенола, то это отношение значительно меньше значений, указанных выше и точное измерение количества нуклеиновой кислоты в данном случае невозможно [2]. Полимеразную цепную реакцию проводили по методу (Мюллиса, 1983) [3].

Результаты и обсуждение Для первичного скрининга ГМО в кормах и животноводческой продукции отобраны 2 наиболее перспективных праймера: праймер на регуляторную 35S промоторную область генетической модификации, характерную для подавляющего большинства ГМО, и на растительную ДНК в качестве внутреннего контроля ПЦР, представляющего matK праймер – ДНК маркер хлоропластов растений.

Известно, что для идентификации ДНК растительного происхождения используются ДНК-маркеры хлоропластной ДНК в отличие от митохондриальной ДНК, используемой для штрихкодирования животных, что связано с низким уровнем изменчивости хлоропластной ДНК в растениях [4, 5]. Для детекции растительных материалов или продуктов и кормов для животных на их основе использован matK праймер хлоропластной ДНК растения *Pinus thunbergii* (Сосна Тунберга). Праймер matK является универсальным праймером для амплификации ДНК некодирующего района хлоропластов большой таксономической области различных видов растений. Он используется в качестве маркера в популяционной биологии, при изучении эволюции растений, внутри и межвидовой филогении [6].

ПЦР во многом аналогична естественному процессу репликации ДНК, с той разницей, что продуктом реакции является новая одинарная цепь вместо

двойной. Перед началом реакции с помощью нагревания добиваются денатурации - расплетания цепей исходного образца ДНК. Как и естественная репликация, рост цепи при ПЦР начинается с праймера - короткого, но вместе с тем уникального, заранее синтезированного, фрагмента каждой цепи на ее 5'-ом конце, который станет началом новой цепи, растущей в направлении 3'-го конца. Для реакции используются специальные термостойкие полимеразы, способные сохранить активность при повышенной температуре. Целью ПЦР является увеличение количества ДНК в миллионы раз, чего добиваются многократным повторением циклов, каждый из которых дает увеличение количества в два раза.

Чтобы избежать испарения реакционной смеси в пробирку добавляют вазелиновое масло, которое закипает только при высокой температуре, что не требуется в амплификаторе с подогревающейся крышкой.

Выход ПЦР-реакции увеличивается при добавлении фермента пирофосфатазы, которая катализирует гидролиз пирофосфата, ингибирующего полимеразную цепную реакцию и побочного продукта реакции, до ортофосфата.

Температура плавления (T_m) комплекса праймер-матрица является важнейшей характеристикой праймеров. Это температура, при которой половина ДНК-матриц образует комплекс с олигонуклеотидным праймером. Упрощенный расчет оптимальной температуры отжига праймера: $T_m = [(A+T) \times 2 \text{ }^\circ\text{C}] + [(G+C) \times 4 \text{ }^\circ\text{C}]$ (если суммарная длина олигонуклеотида не превышает 20 оснований) $T_m = 22 + 1.46([2 \times (G+C)] + (A+T))$ (если суммарная длина олигонуклеотида составляет 20-30 оснований).

При неверном выборе длины и нуклеотидного состава праймера или температуры отжига могут образоваться частично комплементарные комплексы с другими участками матричной ДНК, что приведет к синтезу неспецифических продуктов. Область отжига праймеров должна находиться вне зон мутаций, делеций или инсерций в пределах видовой или иной, взятой в качестве критерия при выборе праймеров, специфичности. При попадании на такую зону, отжига праймеров происходить не будет, и как следствие - ложноотрицательный результат. Верхний предел температуры плавления ограничен оптимумом температуры действия полимеразы, активность которой падает при превышении $80 \text{ }^\circ\text{C}$.

С использованием отобранных праймеров отработаны условия проведения полимеразной цепной реакции. Оптимальная концентрация праймеров - 1 мМ, dDNTP – четырех вида дезоксинуклеозидтрифосфатов до 0,2 мМ, добавляли Tag полимеразу до 5 единиц активности, концентрация Mg Cl_2 , необходимого для работы полимеразы, составила от 1,0 до 4,0 мМ. Так как количество неспецифических продуктов реакции увеличивается при повышении концентрации ионов Mg^{2+} , использовали концентрацию 1 мМ.

Отработаны температурные режимы проведения ПЦР: денатурация ДНК проводилась при температуре 94 °С. При нагревании ДНК-матрицы до температуры 94-96 °С разрушаются водородные связи между цепями ДНК.

Когда цепи ДНК расходятся, для связывания праймеров с одноцепочечной матрицей температуру снижают – эта стадия называется отжигом праймеров. Температура отжига зависит от состава праймеров и обычно выбирается на 4-5 °С ниже их температуры плавления. Время стадии – 0,5-2 мин. Неправильный выбор температуры отжига приводит к плохому связыванию с матрицей (при завышенной температуре) или к связыванию в неверном месте и появлению неспецифических продуктов (при заниженной температуре). При гибридизации праймеры присоединяются комплементарно к соответствующим последовательностям на границе специфического участка ДНК матрицы, выбранного для амплификации.

Далее происходит наращивание цепи при помощи фермента термостабильной ДНК-полимеразы, которая реплицирует матричную цепь, используя праймер в качестве затравки. Эта стадия называется элонгацией. Температура элонгации зависит от используемой полимеразы. Время элонгации зависит от типа ДНК-полимеразы и от длины амплифицируемого фрагмента. Обычно время элонгации принимают равным одной минуте на каждую тысячу пар оснований. После окончания всех циклов часто проводят дополнительную стадию финальной элонгации, чтобы достроить все одноцепочечные фрагменты. Эта стадия длится 7-10 мин.

Проведена отработка и определены температурные режимы проведения амплификации и количество циклов амплификации (таблица 1).

Таблица 1 - Параметры проведения ПЦР

Этапы амплификации	Режим амплификации		Процесс	Число циклов
	Температура, °С	Время, с		
1	94	300	Денатурация ДНК	1
2	94	20	Денатурация ДНК	35
	60-68	40	Отжиг праймеров	
	72	60	Синтез ДНК	
3	72	300	Финальная элонгация	1

Как видно из таблицы 1, для лучшего связывания праймеров с матричной ДНК использовали градиент температур отжига праймеров от 60 °С до 68 °С. Денатурацию ДНК проводили при 94 °С в течение 5 минут. На стадии элонгации нами была использована Таг полимеразы, которая активна при

оптимальной температуре равной 72 °С. Досинтез цепей проводили при температуре 72 °С в течение 5 минут. Денатурация ДНК и доращивание цепи осуществлялись за один цикл амплификации, а полимеразная цепная реакция проводилась в 35 циклов.

Заключение Таким образом, в результате проведенной работы отработаны условия проведения ПЦР анализа с праймерами для первичного качественного скрининга на обнаружение ГМИ растительного происхождения в кормах, кормовых добавках и в животноводческой продукции.

Литература

1. Волошина П.В., Яцышина С.Б., Сорокина Е.Ю., Тутельян В.А., Шипулин, Г.А. Разработка и совершенствование наборов реагентов для мониторинга ГМО в продуктах питания // Мет. указ. 2010.
2. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии М.:Мир, 1984.- 480с.
3. Mullis K., Faloona F., Scharf S. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction: Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.1986.v.5.P.263-273.
4. Шнеер В.С. ДНК-штрихкодирование видов животных и растений – способ их молекулярной идентификации и изучения биоразнообразия // Журнал общей биологии, 2009. № 4. С. 296-315.
5. Heinze B. A database of PCR primers for the chloroplasts genomes of higher plants // 1991.V.17.Issue 5. P. 1105-1109.
6. Taberlet P., Gielly L., Pautou G., Bouvet J. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA // Plant Methods, 2007.3:4 doi: 10 1186/1746-4811. P. 3-4.

Сведения об авторах:

Сарбаканова Ш.Т. - кандидат биологических наук, заведующая лабораторией пищевой безопасности ТОО «КазНИВИ»

Омарбек Н.С. - младший научный сотрудник лаборатории пищевой безопасности ТОО «КазНИВИ»

Түйін

ӨСІМДІК ТЕКТІ ГЕНДІК ТҮРЛЕНДІРІЛГЕН АҒЗАЛАРДЫ АНЫҚТАУ
ҮШІН ПТР ӨТКІЗУДІҢ ШАРТТАРЫН ЖАСАУ

Ш.Т. Сарбаканова, Н.С.Омарбек

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада өсімдік текті гендік түрлендірілген ағзаларды анықтау үшін екі тең праймер арқылы полимеразды тізбекті реакцияны өткізудің шарттарын жасау нәтижелері келтірілген.

Кілттік сөздер: праймерлер, генетикалық түрлендіру, анықтау

Summary

OPTIMIZATION OF PCR CONDITIONS FOR IDENTIFICATION OF PLANT ORIGIN GMO

Sh.T. Sarbakanova, N.S. Omarbek

"Kazakh Scientific Research Veterinary Institute" LLP

This article present the results to simulate the conditions of the polymerase chain reaction with two pair primers to identify genetically modified organisms of plant origin.

Keywords: primer, genetic modification, identification

УДК 619:614.484

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОТХОДОВ РИСОПЕРЕРАБОТКИ В КАЧЕСТВЕ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА

**К.А. Тургенбаев, М.Ш. Искаков, М.Б. Базарбаев, Ю.И. Сухарников,
К. Нурлан, Г. Адильбекова**

ТОО «Казаский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приведены результаты исследований бактерицидной активности композиции Ришел-Плюс по отношению к E.coli и St.aureus.

Ключевые слова: дезинфекция, микроорганизмы, Ришел-Плюс, E.coli, St. aureus

Введение В Казахстане всегда остро стоял вопрос о производстве дезинфицирующих средств для объектов ветеринарно-санитарного надзора. В лаборатории туберкулеза с 2010 по 2012 годы (включительно) проводились научно-исследовательские работы по возможности использования в качестве дезинфицирующего средства органического продукта полученного путем пиролиза рисовой шелухи (Ришел). Испытуемый препарат получают из отходов рисопереработки - рисовой шелухи, которая ежегодно накапливается в Казахстане в объеме около 90 тыс. тонн, а во всем мире - около 200 млн. тонн ежегодно и большая их часть не находит применения, складывается в отвалах или просто сжигается на полях, нанося вред окружающей среде. В Алматы создано опытное производство по переработке рисовой шелухи с получением около 80 кг в сутки конденсата указанного состава и в настоящее время прорабатывается вопрос о создании промышленного производства. В состав раствора Ришел входят фенольная фракция (39 мкг/мл), спирторастворимые вещества (78-156 мкг/мл) и кислотная фракция (156 мкг/мл), которые обладают выраженной бактерицидной и фунгицидной активностью.

Материалы и методы исследований В качестве тестовых культур использовали кишечную палочку, как наиболее устойчивый вид кишечной группы бактерий (штамм 1275), золотистый стафилококк, как наиболее устойчивый вид кокковой группы микробов (штамм 209Р). Для определения антимикробной активности препаратов в стерильные чашки Петри с питательной средой вносили 1 мл 2 млрд взвеси (в физиологическом растворе хлорида натрия) агаровой культуры микроорганизмов *E.coli*, шт. 1275 и *St.aureus*, шт. 209Р. Через 20-30 минут на поверхности засеянной среды пинцетом накладывали стандартные бумажные диски пропитанные испытуемыми антимикробными препаратами на расстоянии 2 см друг от друга. После выдерживания в термостате при 37°C в течении 18-24 часов учитывали результаты по размерам зоны отсутствия роста микроорганизмов вокруг дисков. Результат оценивали как устойчивый (микроорганизм устойчив к действию препарата), когда зона отсутствия роста не превышала 10 мм:

- малочувствительный - 11-14 мм;
- чувствительный - 15-25 мм;
- высокочувствительный - более 25 мм.

Бактерицидную активность Ришел-плюс определяли в соответствии с методическими указаниями «О порядке испытания новых дезинфицирующих средств для ветеринарной практики» (1987 г). Для этого на стерильные тест-объекты (дерево, кирпич, плитка) наносили смывы односуточных агаровых культур *E.coli* и *St. aureus* в смеси со стерильным навозом из расчета 0,2 г на 100 см² тест-объекта, чтобы на 1 см² площади тест-объекта приходилось 20 млн микробных тел. После этого тест-объекты в стерильных условиях оставляли на 18-20 часов для высыхания. Далее раствор Ришел-Плюс от 1% до 7%-ной

концентрации наносили на тест-объекты с помощью пульверизатора, из расчета 5мл на 100 см². Затем через 1 час, 3 часа и 6 часов стерильным ватным тампоном смывали пробы с поверхностей тест-объектов и исследовали на наличие тест-микробов. В качестве контроля контаминированные тест - объекты обрабатывали стерильной водой.

Результаты и обсуждение По результатам проведенных исследований в условиях лаборатории и лабораторно-производственных опытов нами установлено, что 10% раствор органического продукта пиролиза рисовой шелухи обладает бактерицидным, бактериостатическим действием к микобактериям, и позволяет рекомендовать препарат «РИШЕЛ» для обеззараживания в неблагополучных по туберкулезу животноводческих помещениях и других объектов ветеринарного надзора.

В последующем перед исполнителями была поставлена задача по повышению бактерицидных свойств препарата Ришел путем добавления в него одно или несколько активно действующих веществ. При изучении научной литературы показано, что фенолы в смеси с серной кислотой и мыльно-фенольные растворы обладают высокой бактерицидной активностью и их можно использовать для дезинфекции животноводческих помещений.

Нами были проведены исследования по определению чувствительности к раствору Ришел в сочетании с технической серной кислотой и к мыльно-ришеловому раствору. На основании проведенных опытов установили, что Ришел в сочетании с технической серной кислотой обладал более выраженными бактерицидными свойствами. Для повышения смачиваемости и поверхностного натяжения к раствору было добавлено еще и ПАВ. В качестве ПАВ использовали катселл по ТУ 9392-001-38482013-2011 (алкилдиметилбензиламмония хлорид). Полученная композиция состояла из трех действующих веществ: фенольная фракция - Ришел, техническая серная кислота и алкилдиметилбензиламмония хлорид (катселл), которые в комплексе обладают более выраженными бактерицидными свойствами, чем в отдельности. В составе Ришел, наиболее активной является фракция фенолов (39 мкг/мл), далее следуют спирторастворимые вещества (78-156 мкг/мл) и меньше их – кислотная фракция (156 мкг/мл). Техническая серная кислота 93% ГОСТ 2184-77 – в смеси с фенольной группой обладает более сильными дезинфицирующими свойствами. Алкилдиметилбензиламмония хлорид (катселл) является катионным средством, обладающим стерилизующим и бактерицидным средством, эффективным против широкого спектра грамположительных бактерий, а при высокой концентрации также против некоторых грамотрицательных бактерий. Молекулы алкил-диметил-бензил-аммония хлорида расщепляются в водном растворе в гидрофобические катионы, ответственные за его моющие и эмульсионные свойства, в водном растворе его содержится до 50%. В таблице 1 показаны результаты, полученные

при определении чувствительности композиции из Ришел в сочетании с технической серной кислотой и ПАВ (Ришел-Плюс) по отношению к тест-микроорганизмам (*E.coli* и *St. aureus*).

Таблица 1 – Результаты чувствительности к тест-микроорганизмам дезинфицирующей композиции Ришел-Плюс (Ришел, техническая серная кислота и ПАВ)

Наименование препарата	Диаметр зоны задержки роста микроорганизмов, мм									
	Концентрация препарата, %									
	<i>E.coli</i>					<i>St. aureus</i>				
	0,1	0,5	1,0	1,5	2,0	0,1	0,5	1,0	1,5	2,0
Ришел-Плюс	15-17	16-19	22-25	25-28	27-30	10-12	12-15	16-19	20-23	25-27
Ришел	10-11	12-14	15-16	16-17	18-20	5 - 7	8 - 10	10-12	13-15	16-18
Техническая серная кислота	7 – 8	9-10	10-11	12-14	15-17	-	5-6	7-8	10-11	12-14
Катселл (ПАВ)	5-6	7-8	9-10	10-11	11-12	-	-	5-6	6-7	8-10
Контроль	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Из таблицы видно 1, что при концентрации Ришел - Плюс в 0,1% задержка роста *E.coli* составила от 15 до 17 мм (чувствительна) и малочувствительна к *St. aureus* 209. Задержку зоны роста *E.coli* более 25 мм (высокочувствительный) мы наблюдали при концентрации от 1,0% и выше. Задержку зоны роста *St. aureus* более 25 мм (высокочувствительный) мы наблюдали при концентрации растворов 2,0% и выше. При составлении композиции Ришел - Плюс использовались различные соотношения, но наиболее оптимальным соотношением было 35:30:35 %.

В таблице 2 показаны результаты по бактерицидной активности композиции Ришел-Плюс по отношению к *E.coli* и *St.aureus*. Для этого на стерильные тест-объекты (дерево, кирпич, плитка) наносили смывы односуточных агаровых культур *E.coli* и *St. aureus* в смеси со стерильным навозом из расчета 0,2 г на 100 см² тест-объекта, чтобы на 1 см² площади тест-объекта приходилось 20 млн микробных тел. После этого тест-объекты в стерильных условиях оставляли на 18-20 часов для высыхания. Далее раствор Ришел-Плюс от 1% до 7%-ной концентрации наносили на тест-объекты с помощью пульверизатора, из расчета 5мл на 100 см². Затем через 1 час, 3 часа и 6 часов стерильным ватным тампоном брали пробы с поверхностей тест-объектов и исследовали на наличие тест-микробов. В качестве контроля контаминированные тест - объекты обрабатывали стерильной водой.

Таблица 2 - Результаты исследования препарата на устойчивость к тест-культурам E.coli и St. aureus

Концентрация препарата, %	Бактерицидная активность Ришел-Плюс					
	E.coli			St.aureus		
	Экспозиция, час			Экспозиция, час		
	1	3	6	1	3	6
1,0	+	+	+	+	+	+
2,0	+	+	+	+	+	+
3,0	+	+	-	+	+	+
4,0	-	-	-	+	-	-
5,0	-	-	-	-	-	-
6,0	-	-	-	-	-	-
7,0	-	-	-	-	-	-
Контроль	+	+	+	+	+	+

В результате опыта было установлено, что E.coli проявила устойчивость к концентрации препарата 3%, а к тест-культуре St. aureus в концентрации 4%. Таким образом, профилактическую дезинфекцию поверхностей объектов ветеринарно-санитарного надзора можно проводить при влажной дезинфекции 4%-ной концентрацией при норме расхода 0,3 л/м² и экспозиции до 3 часов. При обработке элементов из пористых материалов (дерево, бетон, кирпич и т.д.) норму расхода увеличивают до 0,6 л/м² при экспозиции до 3 часов.

Вынужденную (текущую и заключительную дезинфекцию) поверхностей объектов ветеринарно-санитарного надзора при бруцеллезе можно проводить при влажной дезинфекции 5%-ной концентрацией при норме расхода 0,5 л/м² и экспозиции до 3 часов. При туберкулезе - 6%-ной концентрацией при норме расхода 0,5 л/м² и экспозиции 3 часа.

Заключение Результаты исследований показывают, что композицию Ришел-Плюс можно использовать для профилактической дезинфекции в концентрации 4% и с экспозиции 3 часа, а также заключительную дезинфекцию при бруцеллезе 5% и туберкулезе 6% с экспозицией 3 часа.

Сведения об авторах:

Тургенбаев К.А. - доктор ветеринарных наук, профессор, зав. отделом бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Искаков М.Ш. - кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Базарбаев М.Б. – доктор ветеринарных наук, директор Карагандинской НИВС

Сухарников Ю.И. - доктор технических наук, главный научный сотрудник РГП «НЦ КПИМС РК»

Нурлан К. – младший научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Адилбекова Г. - младший научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Түйін

КҮРІШ ӨНДЕУІНІҢ ҚАЛДЫҚТАРЫН ДЕЗИНФЕКЦИЯЛЫҚ ЗАТ РЕТІНДЕ ҚОЛДАНУДЫҢ МҮМКІНДІГІН БАҒАЛАУ

К.А. Тургенбаев, М.Ш. Искаков, М.Б. Базарбаев, Ю.И. Сухарников, К. Нурлан,
Г. Адильбекова

«Қазақ ғылыми – зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада Ришел-Плюс композициясының *E.coli* мен *St.aureus*-ке бактериялық белсенділігі және сезімталдық көрсеткіштерінің зерттеу нәтижелері келтірілген.

Кілттік сөздер: дезинфекция, микроорганизмдер, Ришел-Плюс, *E.coli*, *St. aureus*

Summary

EVALUATION THE POSSIBILITY OF CONSUMING WASTE OF RECYCLING RICE AS A DISINFECTIONING MEANS

K.A. Turgenbaev, M.Sh. Iskakov, M.B. Basarbaev, J.I. Suharnikov, K. Nurlan,
G. Adilbekova

«Kazakh scientific-research veterinary institute» LLP

In this article given the results of studies on the sensitivity and the bactericidal activity of the composition of Richel-Plus in relation to *E.coli* and *St.aureus*.

Keywords: disinfection, microorganisms, Richelieu Plus, *E. coli*, *St. aureus*

УДК: 619:616.982.211.:636.2

СОКРАЩЕНИЕ СРОКОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКОБАКТЕРИЙ

Резюме В статье представлены результаты по выделению промежуточных форм микобактерий туберкулеза из диагностического материала.

Ключевые слова: микобактерии туберкулеза, дормантные формы, питательные среды

Введение По данным Всемирной организации здравоохранения, в 1998 году от туберкулеза умерли 3 млн. человек (включая 100 тыс. детей). Если ситуация не изменится, то к 2020 году более 1 млрд. человек будут инфицированы, 200 млн. заболеют и 70 млн. человек умрут от туберкулеза. В Казахстане заболеваемость людей туберкулезом все еще имеет место, хотя из года в год наблюдается тенденция к снижению абсолютного числа больных людей. Так с 2001 по 2010 годы число вновь выявленных больных туберкулезом людей снизилось с 23355 до 14325 человек. Положение усугубляется тем, что возбудитель туберкулеза приспосабливается к созданным для его подавления антибиотикам. Современные лекарства оказывают все меньшее сопротивление новым, мутировавшим формам бактерий. Единственный надежный способ противостоять туберкулезу - обнаружить его на начальной стадии. Однако проблема ранней диагностики весьма сложна, поскольку бактерии туберкулеза способны долгое время находиться в "спящей" (латентной) форме, а такие бактерии практически невозможно обнаружить традиционными методами. Характерной особенностью таких форм является их «некультивируемость», т.е. неспособность образовывать колонии на плотных питательных средах или размножаться в жидкой среде. Согласно литературным данным, при проведении электронно-микроскопических исследований по изучению взаимодействия возбудителя туберкулеза и фагоцитов после их контаминации, помимо микобактерий обычной морфологии были обнаружены в цитоплазме фагоцитов единичные ультрамелкие формы микобактерий туберкулеза. Сегодня ученые полагают, что каждый третий человек - носитель туберкулезной инфекции. Болезнетворные микобактерии способны многие годы находиться в организме, никак себя не проявляя себя. Однако стоит иммунитету по каким-то причинам ослабеть, как они могут "проснуться", и болезнь начнет стремительно прогрессировать. Именно поэтому таким принципиально важным шагом в борьбе с туберкулезом станет метод выявления "спящих форм" микобактерий туберкулеза.

Материалы и методы исследований Разработка метода выявления микобактерий в начальных стадиях развития или находящихся в «спящем» состоянии позволит в сжатые сроки ставить диагноз на туберкулез

бактериологическим методом, что позволит принимать эффективные и своевременные меры по нераспространению и купированию инфекции. Применение разработанного способа культивирования позволит сократить сроки постановки диагноза на туберкулез с 60 - 90 суток до 10 - 15 суток, автоматизировать и унифицировать процесс исследования.

Применяемые в настоящее время методы диагностики туберкулеза весьма трудоемки и недостаточно информативны. Возникает необходимость разработки новых методов диагностики туберкулеза у животных, позволяющих за короткое время установить диагноз. Актуальность исследования заключается в том, что она позволяет с высокой достоверностью устанавливать диагноз в сжатые сроки, определяя видовую принадлежность получаемых микобактериальных культур. При этом также имеется возможность выделять дефектные по клеточной стенке или утратившие ее варианты – L-формы микобактерий туберкулеза, способные реверсировать в исходный бактериальный вид с восстановлением свойственной возбудителю вирулентности. Это позволяет проводить диагностику латентного микробоносительства животных.

Нами проведен посев 25 проб патологического материала, взятого от крупного рогатого скота из хозяйств ТОО «Приреченское», Денисовского района Костанайской области.

Культивирование и выделение микобактерий из проб биоматериала проводилось общепринятым и разрабатываемым методами на питательные среды. Посевной материал подвергали предпосевной обработке по общепринятому методу (Аликаевой) и высевали для контроля на среду Левенштейна-Йенсена.

Для предкультивирования отмытую физиологическим раствором суспензию биоматериала после предпосевной обработки вносили по 1 см³ в пробирки со средой Школьниковой, которые выдерживали в термостате при 37⁰С в течение 1 сут. Затем, используя пастеровскую пипетку, посевной материал вместе с жидкой средой Школьниковой пересевали по 0,25- 0,5 см³ в 3-5 пробирок с мясо-пептонным агаром (МПА).

При этом первичный рост культур микобактерий наблюдали уже на 3-4 день. На 5-е сутки просмотра обнаруживали сплошной рост беловатых, прозрачных восковидных колоний. Рост патогенных микобактерий на разработанной среде появлялся на 4-5 сутки, тогда как на среде Левенштейна-Йенсена рост культур патогенных микобактерий наблюдался на 30 сутки.

Результаты исследований В результате проведенных исследований с применением предкультивирования посевов диагноз на туберкулез был установлен в 25 случаях в срок от 5 до 10 суток. С использованием культурального метода диагноз на туберкулез подтвержден в 26 случаях, причем первоначальный рост культур микобактерий туберкулеза на плотной

питательной среде Гельберга был обнаружен только на 28 сутки. При микроскопии микобактериальные клетки были обнаружены в 16 случаях. Данные приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты исследования биологического материала с применением различных методов диагностики туберкулеза в Костанайской области

№№ проб	Вид исследования и срок получения результата (сут.)		
	Микроскопия	Предкультивирование	Культуральное исследование
1	2	3	4
1	+	<i>M. bovis</i> (6 сут.)	<i>M. bovis</i> (28 сут.)
2	+	<i>M. scrofulaceum</i> (6 сут.)	колонии желто-оранжевого цвета (12 сут.)
3	—	<i>M. bovis</i> (5 сут.)	<i>M. bovis</i> (29 сут.)
4	—	<i>M. bovis</i> (7 сут.)	<i>M. bovis</i> (28 сут.)
5	—	<i>M. bovis</i> (5 сут.)	<i>M. bovis</i> (30 сут.)
6	+	<i>M. phlei</i> (3 сут.)	бледные колонии (3 сут.)
7	—	<i>M. bovis</i> (4 сут.)	<i>M. bovis</i> (30 сут.)
8	—	<i>M. bovis</i> (6 сут.)	<i>M. bovis</i> (31 сут.)
9	+	<i>M. bovis</i> (8 сут.)	<i>M. bovis</i> (29 сут.)
10	+	<i>M. kansasii</i> (4 сут.)	бледные колонии, на свету начинают желтеть (11 сут.)
11	—	<i>M. bovis</i> (8 сут.)	<i>M. bovis</i> (28 сут.)
12	—	<i>M. scrofulaceum</i> (4 сут.)	колонии желто-оранжевого цвета (11 сут.)
13	—	<i>M. phlei</i> (3 сут.)	бледные колонии (5 сут.)
14	—	<i>M. phlei</i> (3 сут.)	бледные колонии (4 сут.)
15	+	<i>M. bovis</i> (8 сут.)	<i>M. bovis</i> (28 сут.)
16	—	—	—
17	+	—	колонии желто-оранжевого цвета (9 сут.)

18	—	M. bovis (4 сут.)	M. bovis (30 сут.)
19	—	—	—
20	—	—	—
21	—	M. bovis (3 сут.)	M. bovis (28 сут.)
22	—	M. bovis (4 сут.)	M. bovis (30 сут.)
23	—	M. bovis (5 сут.)	M. bovis (29 сут.)
24	—	—	—
25	+	M. bovis (4 сут.)	M. bovis (30 сут.)
26	—	M. bovis (7 сут.)	M. bovis (28 сут.)
27	+	M. bovis (7 сут.)	M. bovis (30 сут.)

Из данных таблицы 1 видно, что совпадение результатов диагностики с применением метода предкультивирования посевов по отношению к культуральному методу составило 96,15%. При этом скорость получения результатов диагностики оказалась гораздо выше. Микроскопия же в 15 случаях не дала результатов – вероятно, вследствие недостаточной концентрации микобактерий в исследуемых образцах. Из приведенных данных можно заключить, что достоверность результатов исследования методом предкультивирования посевов оказалась достаточно высокой благодаря более полному выявлению больных животных и бактерионосителей по сравнению с традиционными методами.

Литература

1. В кн. Тургенбаев К.А. Диагностика туберкулеза животных, 142 с., Алматы, 2001г.
2. Тургенбаев К.А., Сырым Н.С., Плазун А.А., Сарсенова Г.Т., Досанова А.К. Сравнительная оценка среды ВКГ при диагностике экспериментального туберкулеза / Биотехнология в Казахстане: проблемы и перспективы инновационного развития. Международная научно-практическая конференция посвященная 50-летию НИИ проблем биологической безопасности. Алматы, 2008 - С.417- 422.
3. Инновационный патент РК, № 23493. Способ предпосевого культивирования микобактерий туберкулеза /Тургенбаев, К.А., Сырым, Н.С., Тамгабаева, С., Досанова, А.К., Бюл. № 12. – 3 с.

Сведения об авторах:

Тургенбаев К.А.– доктор ветеринарных наук, зав. отделом бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Тамгабаева С.– кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Шаймбетова А.К. - кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Борсынбаева А.М. – магистр ветеринарии, PhD докторант Казахского национального аграрного университета

Түйін

МИКОБАКТЕРИЯЛАРДЫҢ АЛҒАШҚЫ ДАМУ КЕЗЕҢДЕРІНДЕ ӨСІП ЖЕТІЛУІН ТАБУ ӘДІСТЕРІН ЖЕТІЛДІРУ

Тургенбаев, С. Тамгабаева, К.А. А.К. Шаймбетова, А. М. Борсынбаева

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада, микобактериялардың алғашқы даму кезеңдерінде өсіп жетілуін табу әдістерін жетілдірудің жолдары келтірілген.

Кілттік сөздер: туберкулез микобактериясы, дормант түрі, қоректік орталар

Summary

IMPROVEMENT OF METHODS FOR DIAGNOSIS OF TB ANIMALS

K.A. Turgenbaev, S. Tamgabaeva, A. Shaimbetova, A.M. Borsynbaeva

«Kazakh scientific-research veterinary institute» LLP

The paper presents methods for improving the diagnosis of tuberculosis animals.

Keywords: L-forms, immunoassay analysis, mycobacteria

РАЗРАБОТКА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

К.А. Тургенбаев, С. Тамгабаева

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приводятся результаты по конъюгации белков коллоидным золотом для иммунохроматографического анализа.

Ключевые слова: туберкулез, микроорганизмы, инфекция, ИХА

Введение Выявление и выделение из стад больных животных является одним из основных мероприятий при оздоровлении неблагополучных по туберкулезу хозяйств. Диагностика туберкулеза у крупного рогатого скота часто бывает сложной и представляет большие трудности, особенно при установлении в хозяйстве первичного диагноза. Поэтому в ветеринарной практике используют несколько методов диагностики туберкулеза: клинический, аллергический, серологический, бактериологический и иммунобиологические методы [1,2].

Диагностическая ценность каждого метода в отдельности зависит от стадии болезни, ее форм, реактивности организма и других факторов. Поэтому в практике используются одновременно несколько методов диагностики туберкулеза крупного рогатого скота, особенно для первичного установления диагноза в хозяйстве.

Диагностика методом ИФА предусматривает использование очищенных специфических антигенов. Но, при выпуске тестов в промышленных масштабах остро встает проблема получения высокоочищенных антигенов в препаративном количестве. Ведутся исследования по получению антигенов обеспечивающих не только повышение специфичности, чувствительности и экспрессности диагностики [3,4].

Учитывая распространение туберкулезной инфекции в животноводческих хозяйствах нашей страны, которая наносит большой экономический ущерб и растущую тенденцию завоза высокопродуктивных животных из-за рубежа, ветеринарная служба должна быть обеспечена современным и доступным по цене тестом, позволяющим ставить диагноз достоверно и в короткие сроки.

Для качественного улучшения тест-систем, предназначенных для диагностики туберкулеза крупного рогатого скота, актуальным становится выбор антигена и антител, от качества которых зависит эффективность диагностики.

Поэтому наши исследования будут направлены на разработку и изыскание более совершенных методов комплексной диагностики и оздоровления, неблагополучных по туберкулезу хозяйств и совершенствование мероприятий по сохранению благополучия стада по этой инфекции.

Материалы и методы исследований Для приготовления специфических антигенов важное значение имеет способ культивирования музейных штаммов микобактерий. Для освежения и поддержания вирулентности, культуры, хранящиеся в отделе туберкулеза, пассировали через организм морских свинок весом 350 - 400 г, которых заражали внутримышечно в область бедра. Выделенную культуру от павших морских свинок выращивали на поверхности жидкой питательной среде Сотона в течение 45 сут, обезвреживали стерилизацией в течение 90 мин при 1 атм., бактериальную массу отделяли фильтрованием. Готовили взвесь микобактерий в 40 см³ дистиллированной воды в концентрации 60 мг/мл, помещали в специальный сосуд с принудительным водяным охлаждением и разрушали в поле ультразвуковых волн при чистоте колебаний 22 кГц и экспозиции 10 мин на аппарате УЗДН-А. Полученную суспензию центрифугировали в течение 30 мин при 8 000 об/мин, осадок отделяли. Концентрацию белка в надосадочной жидкости доводили до 1 мг/см³.

Иммунизацию кроликов проводили с применением неполного адьюванта Фрейнда по разработанной в отделе методике. После завершения циклов иммунизации была проведена оценка активности и специфичности полученных из крови подопытных животных гипериммунных сывороток путем постановки РП на агаровом геле. В результате титр антител в сыворотке крови достиг до 1:64.

Конъюгаты коллоидного золота с белками (и иными биоспецифическими зондами) становится все более перспективными маркерами в иммунохимических и молекулярно-генетических исследованиях биологических объектов с использованием методов световой и электронной микроскопии.

Результаты исследований Для осаждения гамма-глобулина 36,6 г сульфат аммония растворяли в 100 мл дистиллированной воде на магнитной мешалке. После этого брали 5 мл гипериммунной сыворотки и добавляли 2,5 мл сульфат аммония и на 30 минут ставили магнитную мешалку. Полученный препарат содержал примеси бета- и альфа-глобулиновых фракции. Для получения более очищенного гамма-глобулина, без примесей других белков проводили трех-разовое переосаждение. После третьего осаждения осадок растворяли в физиологическом растворе, взятом в объеме, равном 1/10 исходного объема сыворотки. Пробу еще раз пропускали через колонки РД-10 и «сефакрил S-400. В результате были получены очищенные препараты иммуноглобулинов.

Для получения конъюгата коллоидного золота с антителами, специфичными к *Mycobacterium bovis*, рН коллоидного золота доводили до 8,5 с помощью 1% раствора карбоната калия (K_2CO_3). Брали 200 мкл очищенного гамма-глобулина, в концентрации 1 мг/мл (АТ) по каплям добавляли к 98 мл коллоидного золота до концентрации 20 мкл/мл. Оставили на 10 минут для полного растворения. Блокировали добавлением в 1 мл 1%-го бычьего сывороточного «альбумин» (БСА) на 30 минут. Центрифугировали 1200 об/мин. в течение 30 минут. Супернатант сливали, осадок ресуспензировали.

При изучении взаимодействия коллоидного золота с антигенами установлено, что при соответствующих значениях рН и концентрации белков происходит нековалентное и электростатичное связывание молекул белков с гранулами золота. Полученные конъюгаты коллоидного золота с белками стабильны, молекулы белков сохраняли биологические свойства.

Концентрацию конъюгата проверяли по методу Брэдфорд. Для этого в лунки 96 луночного планшета вносили по 50 мкл PBS^{-1k} . В 1 лунку ряда вносили 50 мкл (0,05 мл) исследуемого образца и титровали на 2 ряда. В первую лунку третьего ряда вносили 50 мкл 1% БСА и также титровали на 2 ряда. Во все лунки вносили по 50 мкл реактива Брэдфорд (коричневый цвет) и подчитывали концентрацию белка. В результате реакции установлено, что 1 мл конъюгата содержит 10 мг белка.

Заключение Антиген для тест-системы ИХА по определению антител к *Mycobacterium bovis* в сыворотке, плазме или крови животных получали по методике, разработанной ранее в лаборатории туберкулеза.

Накопление бактериальной массы штаммов микобактерий бычьего вида осуществляли на питательной среде Сотона.

Для иммунизации использованы антигены, приготовленные с добавлением неполного адьюванта Фрейнда. Общий объем сыворотки крови, полученной от каждой группы подопытных кроликов, составил 20 – 30 см³. Всего в опыте было использовано 4 кролика. После завершения циклов иммунизации была проведена оценка активности и специфичности полученных из крови подопытных животных гипериммунных сывороток путем постановки РП на агаровом геле.

В результате проведенных исследований установлено, что все пробы гипериммунных сывороток крови проявили высокую активность и специфичность по отношению к гомологичным антигенам.

При изучении взаимодействия коллоидного золота с антигенами установлено, что при соответствующих значениях рН и концентрации белков происходили нековалентное и электростатичное связывание молекул белков с гранулами золота. Полученные конъюгаты коллоидного золота с белками получились стабильны, молекулы белков сохраняли биологические свойства.

Литература

1. Тургенбаев К.А. Диагностика туберкулеза животных. – Алматы, 2001. – С. 93.
2. Шаров А.Н., Ерошенко Л.А., Суханов И.П. и др. Эффективность методов прижизненной диагностики туберкулеза // Ветеринария. – 2000. – № 2. – С. 16 – 18.
3. Ходун Л.М., Цунская Н.И., Владимирский М.А. и др. Иммуноферментный анализ для диагностики туберкулеза животных: (Приготовление реагентов тест-системы и методики постановки реакции): методические рекомендации. – Омск, 1990. – 13 с.
4. Лысенко А.П., Карпова Г.А., Агеева Т.Н. Специфичность антигенов *Mycobacterium bovis* при диагностике туберкулеза крупного рогатого скота в ИФА // Ветеринария. – 1992, № 3. – С. 22 – 24.

Сведения об авторах:

Тургенбаев К.А. – доктор ветеринарных наук, зав. отделом бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Тамгабаева С. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Түйін

ТУБЕРКУЛЕЗДІ БАЛАУҒА АРНАЛҒАН ИММУНОХРОМАТОГРАФИЯЛЫҚ
ТАЛДАУДЫ ДАЙЫНДАУ

К.А. Тургенбаев, С. Тамгабаева

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада иммунохроматографиялық талдау бойынша зерттеудің нәтижелері келтірілген.

Кілттік сөздер: туберкулез, штаммдар, микроорганизмдер, инфекция, ИХА

Summary

DEVELOP IMMUNOASSAY ANALYSIS FOR DIAGNOSIS TUBERCULOSIS OF ANIMAL

K.A. Turgenbaev, S. Tamgabaeva

«Kazakh scientific-research veterinary institute» LLP

In the article presents the results of develop immunoassay analysis.

Keywords: tuberculosis, microorganisms, infection, ИНА

УДК 619:616.79:636.4.:631.12

ЭПИЗОТОЛОГИЯ И КЛИНИКО - МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА В СВИНОВОДЧЕСКИХ ХОЗЯЙСТВАХ АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ

М.В. Телелева

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье рассматриваются эпизоотология и клинико-морфологическая характеристика сальмонеллеза в свиноводческих комплексах ПСЗ «Бекон» Талгарского района и ТОО «ЖК Караой» Илийского района Алматинской области. Установлено, что сальмонеллез в свиноводческих комплексах чаще регистрируется при неблагоприятных условиях кормления и содержания животных. Болезнь у поросят протекает в острой, подострой и хронической формах.

Ключевые слова: сальмонеллез, эпизоотология; клинико-морфологическая характеристика, свиньи, свиноводческие комплексы

Введение Массовое возникновение и широкое распространение болезней органов пищеварения и дыхания у молодняка сельскохозяйственных животных обусловлены воздействием целого ряда этиологических факторов. Большое значение в возникновении инфекционных болезней играют предрасполагающие факторы: неполноценное кормление, хронические интоксикации, спровоцированные токсинами грибов и гельминтов в результате поедания пораженных кормов и нарушением параметров микроклимата. Часто нерациональное использование антибактериальных средств способствует выработке резистентности у возбудителей и изменению их антигенных свойств.

Среди молодняка сельскохозяйственных животных сальмонеллез имеет широкое распространение и наносит большой экономический ущерб свиноводству [1, 2,3].

Для эффективной профилактики сальмонеллеза поросят необходима разработка прижизненной экспресс-диагностики заболевания позволяющей в короткое время установить этиологию болезни [4,5,6,7]. Изучение распространения, этиологии, клинического проявления, патологоанатомических изменений необходимо также для дифференциальной диагностики незаразных и заразных болезней. Сальмонеллезом болеют поросята отъемного возраста.

Задачей настоящего исследования являлось изучение эпизоотологии и клинико-морфологической характеристики сальмонеллеза в свиноводческих хозяйствах промышленного типа Алматинской области (ПСЗ «Бекон» и ТОО ЖК «Караой»).

Материалы и методы Диагностику болезни осуществляли комплексно на основании анализа эпизоотологических данных по записям в журналах отчетности, клинических симптомов, патологоанатомических изменений и результатов бактериологического, гематологического) исследования.

Результаты и обсуждение При проведении исследований установлено, что сальмонеллез у поросят в свиноводческих комплексах чаще регистрировался при неблагоприятных условиях кормления и содержания животных: дефиците протеина, аминокислот, витаминов, липидов, углеводов, микро- и макроэлементов, повышенном содержании аммиака, углекислоты, сероводорода, влаги, при низкой температуре, скученности, гельминтозах и вирусных болезнях, отсутствии надежной вентиляции, планомерной дезинфекции, дезинсекции, и дератизации. Источником возбудителя болезни являлись свиньи — бактерионосители и бактериовыделители, а также больные и переболевшие поросята. Большое значение в распространении болезни имела контаминация сальмонеллами корма, почвы, воды, предметов ухода за животными, подстилки, кормушек, сточных вод и навоза при нарушении условий гигиены кормления и содержания поросят. Болезнь у поросят протекала в острой, подострой и хронической формах. Острую форму течения в основном регистрировали у поросят отъемного периода у 10 поросят 45-50 дневного возраста. Болезнь характеризовалась отсутствием аппетита, угнетением, повышением температуры тела до 41—42 °С. При наблюдении отмечали, что поросята обычно зарывались в подстилку, сучивались, с трудом поднимались для приема корма и воды. При клиническом обследовании больных животных отмечали гиперемию и цианоз конъюнктивы, понос, фекалии светло-желтого цвета, часто с примесью слизи и крови, со зловонным запахом, очаговые покраснения на коже и синюшность в области живота, ушей и паха. Часто поросята погибали в течение недели, а у некоторых болезнь принимала подострое или хроническое течение.

При подостром течении наблюдали лихорадку с колебаниями температуры тела от 39 до 40,3°C, понос зачастую сменялся запором. Поросята больше лежали, корм не принимали или поедали неохотно, развивалась кахексия, а вследствие застойной гиперемии появлялось посинение кожи в области ушей, пяточка, промежности. При затяжном течении развивалась пневмония с проявлениями одышки, кашля, учащения дыхания. При таком течении болезни гибель поросят в хозяйствах достигала 70% от количества заболевших животных, а в среднем гибель составляла 30—40%. При длительном хроническом течении сальмонеллеза в хозяйствах клинические признаки болезни нарастали медленно. Сначала наблюдали появление диареи, потерю эластичности и складчатость кожи, образование струпьев. Поросята теряли массу тела, отставали в росте от сверстников. Кроме этого, у них наблюдали признаки пневмонии с проявлениями одышки, кашля, учащения дыхания, хрипов, слизистых истечений из носовых ходов.

Сальмонеллез в подострой форме течения продолжался у поросят в течение 1,5—3 мес. и приводил к истощению и гибели или выбраковке поросят. При вскрытии павших поросят, погибших в первые дни болезни, наблюдали увеличение селезенки, лимфатических узлов, особенно мезентеральных (при этом они были розового или серовато-красного цвета). У поросят более длительно болевших слизистые оболочки желудка и кишечника были гиперемированны, припухлые, геморрагически воспаленные, местами наблюдались точечные или диффузные кровоизлияния. При хроническом и подостром течении изменения регистрировали главным образом в кишечнике, лимфатических узлах и легких. Слизистая оболочка толстого отдела кишечника была в состоянии фибринозного воспаления и покрыта серо-желтыми и грязно-зелеными сухими пленками. При снятии таких пленок под ними наблюдали язвы. Некроз слизистой оболочки кишечника проявлялся в виде творожного распада солитарных фолликул, на месте которых образовывались язвы. В отдельных случаях при вскрытии устанавливали катаральное или катарально-геморрагическое воспаление органов брюшной полости, особенно в тощей, подвздошной и реже в прямой и слепой кишках. В мезентеральных, портальных, реже в бронхиальных и средостенных лимфоузлах отмечали серозное, реже геморрагическое воспаление. Селезенка была часто увеличена, упругая, края притуплены, сине-красного цвета. На слизистых оболочках желудочно-кишечного тракта, эпикарде, плевре, почках были точечные кровоизлияния, а в печени - некрозы. В легких наблюдали изменения, характерные для лобулярной, острой, катарально-гнойной и реже крупозной пневмонии. Иногда отмечали серозно-фибринозный плеврит. При хроническом течении отмечали гиперплазию пейеровых бляшек, язвенно - дифтеритическое поражение слизистой оболочки кишечника, а в печени, селезенке и почках — наличие гранулем.

Были исследованы сыворотки крови поросят, больных острой формой сальмонеллеза с биофабричными сальмонеллезным антигеном в пробирочной реакции агглютинации. Положительная РА отмечалась у всех 8 выявленных поросят, титры составили от 1:800- 1:600.

При исследовании в РА сывороток крови от 5 поросят (заморышей) с симптомами хронической формы сальмонеллеза антитела регистрировались у всех животных в диагностических титрах 1:400 – 1:800.

При бактериологических исследованиях фекалий поросят больных острой формой сальмонеллеза, культура *S.cholerae suis* была установлена в 100 % случаев. От 5 поросят (заморышей) так же высевалась культура *S.cholerae suis*. Идентификацию выделенных культур проводили путем посева на дифференциально-диагностические среды (Эндо, висмут сульфитный агар), а также постановкой РА на стекле с поливалентной и монорецепторной сальманеллезной сывороткой производства г. Санкт-Петербург института сывороток. Положительная реакция РА отмечалось с поливалентной и монорецепторной сывороткой (О-7) группы С, что свидетельствует о принадлежности вирулентных культур к *S.cholerae suis*. Таким образом. Во всех случаях возбудителем сальмонеллеза поросят явилась *S.cholerae suis*.

Проведенные исследования крови и сыворотки крови больных и вынужденно убитых поросят с диагностической целью, а также патматериал от павших животных с подозрением на сальмонеллез и другие инфекционные и незаразные болезни показали, что в хозяйствах наблюдается сложная этиологическая структура болезней. В частности: в свиноводческих хозяйствах ПСЗ «Бекон» Талгарского района и ТОО ЖК «Караой» Илийского района Алматинской области статистически установлено, что кроме сальмонеллеза, подтвержденного в 85%, диагностирован хламидиоз в 30% случаев, энтеровирусный гастроэнтерит — в 15,0%, трансмиссивный гастроэнтерит — в 40% и ротавирусная инфекция в 25,0% случаев, а также установлена циркуляция вирусов репродуктивно-респираторного синдрома свиней и парвовирусной инфекции свиней (ПВИС) в 80% и 90% случаев соответственно. Выделенный возбудитель сальмонеллеза был типирован и отнесен к *S.cholerae suis*, соответственно, в 94% и 6% случаев.

Представленные данные еще раз подтверждают, что факторные болезни у животных редко протекают как моноинфекции: обыкновенно они диагностируются как смешанные и вызываются двумя этиологическими агентами бактериальной, вирусной и хламидийной природы.

Заключение Таким образом, сальмонеллез у поросят в свиноводческих комплексах чаще регистрировали при неблагоприятных условиях кормления и содержания животных. Источником возбудителя болезни являлись свиньи — бактерионосители - больные и переболевшие поросята. Болезнь у поросят протекала в острой, подострой и хронической формах. При вскрытии павших

поросят, погибших в первые дни болезни, наблюдали увеличение селезенки, лимфатических узлов, особенно мезентеральных (при этом они были розового или серовато-красного цвета). При более длительном течении болезни слизистые оболочки желудка и кишечника были гиперемированные, припухлые, геморрагически воспаленные, местами наблюдались точечные или диффузные кровоизлияния. При хроническом и подостром течении болезни изменения регистрировали главным образом в кишечнике, лимфатических узлах и легких. Сальмонеллез поросят следует дифференцировать от колибактериоза, дизентерии и чумы.

Литература

1. P.A. Anufriev¹, P.A. Parshin¹, S.M. Suleymanov², V. I. Parshina
Epizootology and clinic - morphological characteristics salmonellosis in pig farms. [Текст]. Peoples' Friendship University of Russia. Т. 2. 28 - 35 p.
2. Сидоров М.А. Сальмонеллез на комплексах // Свиноводство. - 1991. - № 3. - С. 29.
3. Шахов А.Г., Ануфриев А.И. и др. Желудочно-кишечные болезни поросят / Экологоадаптационная стратегия защиты здоровья и продуктивности животных в современных условиях. [Текст]. - Воронеж, 2001. - С. 155 - 176.
4. Куриленко А.И. с соавт. "Бактериальные и вирусные болезни молодняка сельскохозяйственных животных" [Текст]. М., "Колос", 2005. - С. 29
5. Шахов А.Г., Ануфриев А.И. и др. Желудочно-кишечные болезни поросят [Текст] Эколого-адаптационная стратегия защиты здоровья и продуктивности животных в современных условиях. - Воронеж, 2001. - С. 155 - 176.
6. Джупина С.И. Факторные инфекционные болезни животных. [Текст]. Ветеринария, 2002. - №3.
7. Дробышева Ф. И. Повышение резистентности и сохранности поросят-отъемышей [Текст] / Ф.И. Дробышева // Свиноводство. - 2003.- №3.- С. 24 - 25.

Сведения об авторе:

Телелева М.В. - кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Түйін

АЛМАТЫ ОБЛЫСЫНДАҒЫ ШОШҚА ШАРУАШЫЛЫҚТАРЫНДАҒЫ
САЛЬМОНЕЛЛЕЗ АУРУЫНЫҢ ЭПИЗОТОЛОГИЯСЫ ЖӘНЕ
КЛИНИКАЛЫҚ-МОРФОЛОГИЯЛЫҚ СИПАТТАМАСЫ

М.В. Телеляева

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты»

Мақалада шошқа шаруашылықтарындағы сальмонеллез ауруының эпизоотологиясы және клиникалық-морфологиялық сипаттамасы қаралған. Сальмонеллез ауруының шошқа шаруашылықтарында көбіне оларды жеткіліксіз азықтандырғанда және бағып-күтуі нашарлағанда көп кездесетіні көрсетілген. Торайлардың ауруы жіті, жітілей және созылмалы түрде кездеседі.

Кілттік сөздер: сальмонеллез, эпизоотология, клиникалық морфологиялық баяндамасы, торайлар, шошқалар шаруашылық комплексы

Summary

EPIZOOTOLOGY AND CLINIC-MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS
SALMONELLOSIS IN PIG FARMS OF ALMATY REGION.

M.V.Telelyeva

«Kazakh scientific-research veterinary institute» LLP

We studied epizootology and clinical-morphological characteristics of salmonella in pig farms. Salmonella in pig farms often recorded under adverse conditions of feeding and housing of animals. The disease in pigs took place in acute, sub-acute and chronic forms.

Keywords: salmonellosis, epizootology, clinical-morphological characteristic, pigs, pig-breeding complexes

ӘОЖ 619:616.79:636.:631.12

**ШОШҚАЛАРДЫҢ ЦИРКОВИРУС АУРУЫНЫҢ КЛИНИКАЛЫҚ
БЕЛГІЛЕРІНІҢ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІ ЖӘНЕ ОНЫҢ АЛДЫН АЛУ
ШАРАЛАРЫ**

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Түйін Мақалада Алматы облысындағы шошқа шаруашылықтарындағы шошқалардың цирковирус ауруының клиникалық және патоморфологиялық ерекшеліктерінің деректері келтірілген және шығу себептері анықталған.

Кілттік сөздер: шошқалардың цирковирустік індеті, клиникалық белгілері, патологиялық өзгерістер, балау

Кіріспе Шошқалардың цирковирус ауруы (ШЦА) – шошқалардың індеттік ауруы, негізінен, енесінен ажыратылған торайлар ауырады, қоздырғышы цирковирус, және олардың өсуінің тежеліп, терісінің жарақатталып, тыныс алу жолдарының зақымдануымен сипатталады. Вирус қоздырғышы *Circoviridae* тобына жатады. Залалсыз ШЦА-1 және лимфа ұлпасының торшасында көбейетін залалды ШЦА-2 қоздырғышы бар. ШЦА-2 қоздырғышы сыртқы ортаның әсеріне өте шыдамды, иммундік жүйенің торшаларында көбейеді, мал организмінде лимфа бездерінде, альвеолярлық макрофагтарда, талақта шоғырланады. Соңғы кезде ШЦА антигендік және басқада қасиеттері бойынша бір-біріне қатты ұқсайтын 2 топша түрі: ШЦА - 2 а және ШЦА – 2 б анықталынды (1,2). Цирковирус вирустарға арналған дезинфектанттардың әсеріне өте төзімді вирустардың бірі. Жиырма төрт сағат бойы қолданылған формальдегид вирустің белсенділігін жоя алмады. Қоюлығы 10% йод ерітіндісі текқана 2 сағаттан кейін, ал 1% глутар альдегиді 20 минутта әсер етеді. 5 % фенол ерітіндісінің әсеріне 37° температурада, 2 сағатқа шыдайды. 80° С температурада 15 минут бойы қыздыру вирусті өлтірмейді, ол үшін тағы 10 минут қайнату керек.

Материалдар және әдістер Ауру Алматы облысының барлық шошқа шаруашылықтарында таралған. Инфекция көзі, барлық экскреттерімен және секреттерімен қоршаған ортаға вирус бөлетін барлық жастағы шошқалар болып табылады. Бірақ індеттің тууына бір ғана вирустың болуы жеткіліксіз, бұған көптеген факторлар себепші болуы керек және бұл індет шошқа шаруашылықтарына көп экономикалық шығын әкеледі. Эпизоотиялық ахуал бойынша, ШЦА-2 Қазақстанда, әсіресе Алматы облысының барлық шошқа шаруашылықтарында жиі кездеседі. Бірақ кейбір шаруашылықтарда аурудың клиникалық белгілері білінбей, кейбіреуінде аздап білінсе, басқа шаруашылықтарда 30 - 50% дейін торайларды шығынға ұшыратады.

Нәтиже мен тұжырымдау Біз зерттеу жүргізген Алматы облысының екі МК «Қараой» ЖШС және АШЗ «Бекон» шошқа шаруашылықтарында ШЦА-2 енесінен ажыратылған торайлардың (топтарға бөлініп, вакцинация, азықтарда микотоксиндердің болуы, көп бас торайларды тар жерде ұстау, ветеринарлық-

санитарлық талаптардың өрескел бұзылуы, 60-күнге толғанша көп инъекциялық дәрі-дәрмек, витаминдер егу және т. б. жағдайларға ұшырап стресс болған) жиі ауыратынын анықтадық. Аурудың негізгі клиникалық белгілері – торайлар өсуден қалып, сау торайлармен салыстырғанда кішкентай болып көрінеді, азыққа тәбеттері тартпай, бұзылып топқа бірігеді, терілері сұр түске боялады. Теріде ұсақ дақтар пайда болып, іш және құйрық жақтарында қосылып үлкен дақтарға айналады, респираторлық синдром дамиды. Бұндай клиника микотоксикоздар кең тараған және ветеринарлық-санитарлық талаптардың өрескел бұзылған шошқа кешендерінде кездеседі. Ал талаптарға сай шошқа кешендерінде бұл індет басқа жағынан көрініс береді. Кейбір жеке торайларда конъюнктивит, құлақ ұштарының жалпы некрозға ұшырауы байқалады (1 сурет).



Сурет 1 - Конъюнктивит және құлақ ұштарының некрозы

Каннибализм деп балау қойылады. Текқана кейбір жасы үлкен торайларда (60-70 күндік) терінің некрозды васкулиті дамуы мүмкін. Бұндай шаруашылықтарда торайлардың жалпы шығыны 8-15% аспайды. Паталогоанатомиялық өзгерістер: өлекселер өте арық болып, анемия байқалады, сарғыштау не сұр түсті, теріде дақтар және жара қабықтары бар (2 сурет).



Сурет 2 - Геморрагиялық некрозды васкулит

Қан тамырларының қабырғаларының қабынуының нәтижесінде дақ пайда болып, терінің некрозды васкулитіне әкеп соғады. Кейбір жеке дақтарды жақсылап қарағанда, олардың дәл ортасында некроз нүктесі көрінеді. Тіліп қарағанда лейкозбен ауыратын сиырларға тән барлық лимфа бездерінің ұлғайып, лимфа ұлпаларының зақымдалып, шырынды сұр-сары түске боялғанын көреміз (3 сурет). Бұдан әрі індет кең таралып, ауру дендегенде бұл ұлпалар мәрмәр (мрамор) түске боялады (4 сурет). Әсіресе шап бездерінің үлкеюі жиі кездеседі (5 сурет). Кейбір жағдайларда олар тіпті гематомаға ұқсайды (6 сурет).



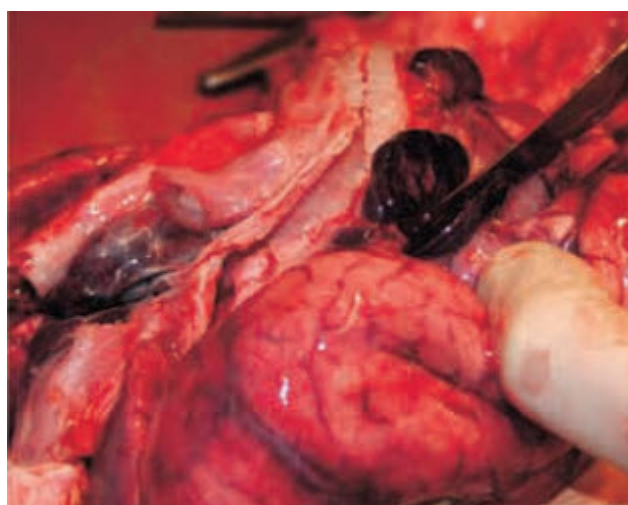
Сурет 3 – Шоғырланған лимфаденит



Сурет 4 – Ішмай бездерінің ұлғаюы



Сурет 5 – Шап бездерінің ұлғаюы және олардың қан талауы



Сурет 6 – Өкпе ісігі және геморрагияға ұшыраған бездер

Ауру алғаш басталғанда өкпе алдымен ісінеді, сосын ауру ошақтары тығыздалып, ұстағанда консистенциясы қатты болып білінеді, аурудың

салдарын қосымша микрофлоралардың залалдығы анықтайды. Әдетте талақ ұлғайған, кейде ісінген және қабынған, «септикалық» түрге айналған (7 сурет).



Сурет 7 – Шошқа цирковирусындағы талақтың қабынуы

Кейде шошқаның классикалық обасына ұқсас талақта шеттерінде, не жеке талшықтарға ұқсаған некроз ошақтары байқалуы мүмкін (8 сурет).



Сурет 8 - Шошқа цирковирусындағы талақтың некрозы

Бүйректердің ұлғаюы, оларда қан құйылып, тіпті геморрагиялық инфаркт болуы мүмкін. Бұндай көрініс шошқаның классикалық және африкалық обасына ұқсас, сондықтан бұл жағдайды есте ұстау нақты балау қойғанда өте қажет. Бұл ерекше жұқпалы індеттерді шошқа цирковирусымен шатастырмау керек. Сондықтан балауды кешенді түрде: клиникалық көріністің, эпизоотологиялық мәліметтердің, патоморфологиялық әдістердің негізінде қояды. Европалық талап бойынша өлген торайларда терінің некрозды васкулиті және лимфа бездерінің ұлғаюы бұл шаруашылықта ШЦА-2 бар екендігіне және иммунизация жасауға болатындығына жеткілікті. Клиникалық көрініссіз және патологиялық анатомиясыз тек қана ШЦА-2 қоздырғышын бөлу негізінде балау қоюға болмайды. ШЦА-2 қоздырғышын ауру малдардан бөлу КТР (ШЦА-2) қоюмен расталынады. Европалық Одақ территориясында ШЦА-2

бар екендігін иммуногистохимия және цитологиялық гибридизация әдістерін қолдану арқылы анықтайды. Біздің елімізде бұл әдістер қажетті құрал-жабдықтардың болмауына байланысты қолданылмайды. Дұрыс балау қоюға қосымша жұқпалы аурулар кедергі келтіреді (гемофилездік полисерозит, пастереллез). Сондықтан әрқашан бүкіл лимфа бездерінің, әсіресе шап бездерінің ұлғаюына көңіл бөлу керек. Өйткені бұндай өзгерістер полисерозит, пастереллез ауруларында болмайды.

Осы індеттің алдын алу жолдарына: барлық стрестік факторлардың әсерін азайту не жоқ қылу; қолданылатын азықтарды қатаң түрде микотоксиндерге тексеру; аса жоспарлы түрде болмаса торайларға вакцинация жасамау (әсіресе тірі вакцинамен). Алматы облысындағы шошқа шаруашылықтарында шошқалардың цирковирус ауруының алдын алу үшін Ресейде дайындалған ұлпалық белсенді емес (инактивті) вакцина қолданылады.

Қорытынды Сонымен алдын алу шараларын уақытында дұрыс балау қою мен торайлардың өсіп-өнуін қатаң бақылауды, медикаментоздық дәрі-дәрмектерді, шошқа өсіру технологиясын жетістірумен ұштастыру арқылы шошқалардың цирковирус ауруының алдын алуға болады.

Литература

1. Капустин В.Н., Лысый В.Г. Свинные цирковирусы//. Рац Вет Информ. - 2006. - № 4.
2. Орлянкин Б.Г., Алипер Т.И., Непоклонов Е.А. Инфекционные респираторные болезни свиней // Ветеринария.- 2006.
3. Джупина С.И. Факторные инфекционные болезни животных // Ветеринария. - 2002. - № 3.
4. Сатина Т.А. Цирковирусные инфекции свиней. Обзор литературы. Владимир: ФГУ ВНИИЗЖ. - 2003. - 101с.

Иегер туралы мағлұмат:

Телелева М.В. - ветеринария ғылымының кандидаты, ЖШС «Қазақ ҒЗВИ» бактериология бөлімінің аға ғылыми қызметкері

Резюме

ПРОЯВЛЕНИЯ ЦИРКОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ СВИНЕЙ И ЕЕ СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА

М.В. Телелева

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Изучены особенности клинического и патологоанатомического проявления цирковиральной инфекции у свиней в хозяйствах Алматинской области. Установлены причинно - следственные механизмы возникновения заболевания.

Ключевые слова: цирковиральная болезнь свиней, клинические признаки, патологоанатомические особенности, диагностика

Summary

CIRCOVIRUS IN THE FARMS OF ALMATY REGION

M.V. Telelyayeva

«Kazakh scientific - research veterinary institute » LLP

In the article are presented the basic epizootological, clinical and pathomorphological special features of the circovirus of pigs in the industrial complexes.

Keywords: circovirus, epizootiology, clinical signs, pathologic changes, diagnostics, measures

УДК 619:637.07-574.21

ВЕТЕРИНАРНО - САНИТАРНАЯ ОЦЕНКА МЯСА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДАХ ОГЛУШЕНИЯ

Р.К.Туякова, С.К.Коканов, Б.М. Мустафин

Костанайский государственный университет имени Ахмета Байтурсынова
«Костанайская научно – исследовательская ветеринарная станция» филиал
ТОО «КазНИВИ»

Резюме По результатам исследований установлено, что система индивидуального способа оглушения крупного рогатого скота с помощью пневматического устройства позволяет избежать стресса, это приводит к нормальным процессам созревания мяса, что задерживает рост и распространение микрофлоры и предохраняет его от преждевременной порчи.

Ключевые слова: убойный пункт, бактериальная обсемененность, рН мяса, ветеринарно - санитарная оценка, методы оглушения, убойный выход

Введение Важным условием продовольственной безопасности Республики Казахстан является производство достаточных по объему, доброкачественных, экологически безвредных и полноценных продуктов питания животного происхождения.

В последнее время в Казахстане наблюдается значительный рост интереса многих мясоперерабатывающих предприятий к совершенствованию своих производственных мощностей по убою и первичной обработке скота. Этот интерес обусловлен несколькими объективными причинами, среди которых в первую очередь можно выделить такие как: сильно изношенные и устаревшие основные фонды большинства крупных убойных предприятий, которые были построены несколько десятилетий назад и сегодня требуют коренной или полной замены; наметившаяся тенденция к росту производства отечественного мясного сырья, необходимость повышения, производительности труда и снижения затрат за счет внедрения новых технологий убоя и первичной обработки. В нашей стране говядины производится на 30-40 % меньше, чем во многих странах с интенсивно развитым животноводством, также при убое происходят большие необоснованные потери мясной продукции животных. Многие предприятия в США имеют производительность по убою крупного рогатого скота до нескольких сот голов в час, с практически полностью автоматизированными процессами транспортировки, оглушения, распиловки на полутуши и др.

В Республике Казахстан и, в частности, в Костанайской области при убое скота применяется групповой метод оглушения с использованием электрического стека. В связи с этим целью данных исследований явилось проведение ветеринарно-санитарной оценки мяса крупного рогатого скота на убойных пунктах Костанайского района убитого с использованием различных методов оглушения.

Материалы и методы исследований В ходе исследования нами проведен анализ предприятий Костанайского района, занимающихся убоем сельскохозяйственных животных. Ветеринарно-санитарную оценку мяса проводили по физико - химическим и микробиологическим показателям. Материалом для ветеринарно-санитарных исследований послужили 22871 туши на 6 убойных пунктах Костанайского района. Нами проведена сравнительная ветеринарно - санитарная оценка 50 туш крупного рогатого скота на убойном пункте «Карасу-Ет», где животных оглушают, применяя систему с выскакивающим штоком под воздействием воздушного давления, пробивающим черепную кость животного. Время оглушения крупного

рогатого скота считалось с момента касания электрическим стеклом или пневматического устройства затылочной области животного.

Результаты исследований На территории Костанайского района функционирует семь предприятий, занимающихся убоем сельскохозяйственных животных. Практически все из них построены несколько десятилетий назад и работают на устаревшем оборудовании. Кризис агропромышленного сектора и распад хозяйственных связей привел к прекращению производства многих видов оборудования и практически полному отсутствию разработки и внедрения в производство новых технологий убоя. В результате производственно - технологический процесс убоя и первичной обработки туш животных на большинстве предприятий Костанайской области в данное время требует коренной реконструкции и внедрения современных технологий. В области запущен инвестиционный проект мясоперерабатывающего предприятия ТОО «Карасу Ет» с убойным пунктом мощностью 40 -60 голов за смену, оборудованный современными линиями убоя сельскохозяйственных животных произведенного немецкой фирмой «Шаллер».

Предприятие полностью оснащено необходимым оборудованием для убоя сельскохозяйственных животных, имеются две отдельные технологические линии, что позволяет проводить одновременный убой разных видов сельскохозяйственных животных; при проведении процедуры оглушения используется пневматическое устройство с выскакивающим под воздействием воздушного давления штоком, пробивающего черепную кость животного. При проведении анализа нами выявлены несколько значительных преимуществ мясоперерабатывающего предприятия ТОО «Карасу Ет». Оглушение с помощью пневматического устройства позволяет сократить срок оглушения в 3 раза по сравнению с традиционным методом с помощью электрического стека. Устраняется соприкосновение животных друг с другом, таким образом устраняется стрессовая ситуация и увеличивается убойный выход на 0,3 %, снижается потери массы во время суточного охлаждения на 0,6 % и масса удаленных обрезей в три раза. Таким образом, оглушение животных с помощью пневматического устройства снижает степень отрицательного влияния убоя на животных, а поэтому способствует уменьшению истинных потерь мяса на 1,7 %.

Оглушение животных в более жестких режимах с применением электрического стека приводит к снижению рН парного мяса до 5,9 единиц, т.е. сразу же после убоя в парном мясе создается кислая среда, что является нежелательным показателем для нормального классического созревания мяса. Уменьшение рН в парном мясе через 40 – 60 минут после убоя ниже 6,0 единиц, свидетельствует о том, что животные перед убоем подвергались стрессу и поэтому произошло нарушение физико- химических процессов.

В мясе, полученном от здоровых и не подвергшихся стрессу животных содержится меньше микрофлоры, оно лучше хранится, чем мясо, полученное от больных, утомленных транспортировкой животных. В мясо последних проникает большее количество экзогенных и эндогенных микроорганизмов и появляются благоприятные условия для протеолитических и липолитических процессов во время его хранения и переработки. Нами установлено, что в парных мышцах бычков, оглушенных разными способами, количество бактериальных колоний составило соответственно 330,0 и 332,0 колоний (таблица 1).

Таблица 1 - Показатели бактериальной обсеменности мяса к.р.с. в зависимости от способа оглушения

Показатели	Мясо скота, забитого после оглушения пневматическим устройством	Мясо скота, забитого после оглушения электрическим стеком
Количество бактериальных колоний в парных мышцах	330,6+6,0	332,0+5,0
Количество бактериальных колоний после 30-дневного хранения	3700,0+121	786,0+9,0

Как видно из таблицы 1, при 30-дневном хранении количество бактериальных колоний в толще мышц первой группы увеличилось с 330,6 до 3700,0 (в 11,2 раза), а в мясе второй группы с 332,0 до 786,0 (в 2,4 раза). После 30-дневного хранения в морозильной камере мясо скота, убитого после оглушения электрическим стеком было в 4,7 раза меньше обсеменено микрофлорой по сравнению с мясом скота, убитого после оглушения пневматическим устройством.

Таким образом, сравнительное изучение бактериальной обсеменности мяса крупного рогатого скота, оглушенного электростеком и оглушенного пневматическим устройством показало, что при убое с оглушением электростеком из-за отсутствия достаточного количества молочной кислоты не происходит бактериостатического и бактерицидного действия на микроорганизмы мяса. Это приводит к тому, что микроорганизмы начинают интенсивно размножаться и распространяться, что вызывает преждевременную порчу мяса. При оглушении крупного рогатого скота пневматическим устройством потери массы туш снизилось после суточного охлаждения на 1,4 кг, после 30-дневного хранения в морозильной камере на 4,1 кг, обрести уменьшились на 0,6 кг.

Таким образом, при убое крупного рогатого скота с оглушением пневматическим устройством в расчете на одну голову получено мяса на 18,6 кг больше, чем при убое с оглушением электростеком. При реализационной цене 950 тенге за 1 кг экономическая эффективность от оглушения животных пневматическим устройством составит 5179 тенге в расчете на одну голову.

Заключение На основании полученных данных установлено, что после оглушения животных электрическим стеком происходят потери массы туши, усиливается бактериальная обсемененность мяса при хранении. Оглушение и убой скота с помощью пневматического устройства позволяет избежать стресса, сократить потери мясной продуктивности при переработке и хранении, повысить экономическую эффективность. В связи с этим необходимо шире внедрять на убойных пунктах Костанайской области данный способ оглушения и убоя скота, отказавшись от системы оглушения животных с помощью электрического стека.

Литература

1. Григорян Г.Ш. Изучить влияние способов убоя скота на количественные и качественные потери мяса при длительном хранении- М.: Мясная промышленность, 2003. – С.20 - 23.

2. Коган М.Б. Физико - химический и бактериологический контроль в мясной промышленности. - М.: «Пищевая промышленность»,2000. – С. 15 - 17.

Сведения об авторах:

Туякова Р.К.- кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры ветеринарной санитарии Костанайского государственного университета им. А. Байтурсынова

Коканов С.К. - кандидат ветеринарных наук, директор инновационного научно-образовательного центра, доцент кафедры ветеринарной санитарии Костанайского государственного университета им. А. Байтурсынова

Мустафин Б.М. – доктор ветеринарных наук, директор Филиала «Костанайская НИВС» ТОО «КазНИВИ»

Түйін

ТҮРЛІ ҚҰЛАҚ ТҰНДЫРУ ӘДІСТЕРІ БОЙЫНША ІРІ ҚАРА МАЛ ЕТІН
ВЕТЕРИНАРЛЫҚ - САНИТАРЛЫҚ БАҒАЛАУ

Р.К.Тұякова, С.К.Қоканов, Б.М. Мұстафин

Ахмет Байтурсынов атындағы Қостанай мемлекеттік университеті

«Қостанай ғылыми - зерттеу ветеринария станциясы» филиалы
«Қазақ ҒЗВИ» ЖШС

Зерттеу нәтижелері бойынша жеке жүйе тәсілі пневматикалық құрылысының көмегімен ірі қара малдың құлағын тұндыру әдісі арқылы, малдың күйзелмеуіне мүмкіндік тудырады, бұл еттің бір қалыпты жетісу үрдісіне әкеледі, яғни микрофлораның таралуы мен өсуін тоқтатып, оның алдын ала бұзылуына жол бермейді.

Кілттік сөздер: сою пункті, бактериалды тұқым, рН ет, ветеринарлық-санитарлық бағалау, құлақ тұндыру әдістері, сойылған шығын

Summary

ANIMAL CARE ASSESSMENT OF MEAT CATTLE AT DIFFERENT STUNNING METHODS

R.K.Tuyakova, S.K.Kokanov, B.M.Mustafin

Axmet Baitursynov Kostanay State University

«Kostanai scientific-research veterinary station » branch LLP «Kazakh scientific and research veterinary Institute »

According to the research found that the system of individual method stun cattle using a pneumatic device to avoid stress , it leads to the normal processes of maturation of meat, which retards the growth and distribution of flora and protects it from premature deterioration.

Keywords: slaughterhouses , bacterial contamination, pH meat, veterinary and sanitary assessment , methods of stunning , slaughter yield

УДК 619:616:992.28.:615.:636.1

МІСРОСПОРУМ ЕҚІНУМ F-182, ИСПОЛЬЗУЕМЫЙ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ТРИХОФИТИИ ЛОШАДЕЙ

М. Умитжанов, Р.С. Боранбаева

Резюме В статье приведены данные об эффективности вакцинного штамма *Microsporium equinum* F-0182 КазНИВИ №15 при изготовлении инактивированной вакцины против микроспории лошадей.

Ключевые слова: трихофития, штамм, суслоагар, артроспоры

Введение Коневодство – одна из отраслей животноводства области, источник производства высококачественной конины, лечебного напитка – кумыса и кожевенного сырья. Развитию табунного коневодства благоприятствует все условия обширного массива горных и предгорных пастбищ с богатой по составу и питательности растительностью и источником водопоя.

Полноценному развитию этой отрасли препятствует такое инфекционное заболевание как микроспория. В настоящее время для изготовления биопрепаратов против микроспории лошадей используется штамм гриба *Microsporium equinum* F-182 КазНИВИ №15. Данный штамм гриба получен от больной микроспорией лошади, принадлежащей крестьянскому хозяйству «Сапа» с. Шарбулак Казыгуртского района, Южно-Казахстанской области. Вакцинный штамм гриба *Microsporium equinum* F-182 КазНИВИ №15 депонирован в 2013 году в лаборатории генофонда микроорганизмов ТОО «КазНИВИ».

Материалы и методы исследований Идентификацию штамма гриба проводили по основным морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам согласно определителя патогенных, токсигенных и вредных для человека грибов [1, 2].

После очищения полученного патматериала (культура гриба) засекали его в питательную среду (сусло-агар) и ставили в термостат на 16 суток при температуре 28 °С. Из одной колонии выращенного гриба делали 5 пересевов. Методом серийного разведения выделяли клоны названного гриба, выросшие в чашках Петри на сусло-агаре, которые при дальнейшем посеве давали наибольший рост. Накопление биологической массы и жизнеспособности макро- и микрокониций вакцинного штамма определяли в камере Горяева по общепринятой методике.

Результаты исследований Таким образом, в результате проведенных исследований был выделен полевой изолят гриба из рода *Microsporium*, который был более приемлемой для дальнейшей работы. Штамм гриба *Microsporium equinum* F-182 КазНИВИ №15 получен путем направленного ступенчатого отбора, по признаку спорообразования быстро растущих колоний с активным накоплением макрокониций. Полученный штамм гриба отличается

от эпизоотических штаммов слабой вирулентностью, высокой спорогенностью и активностью при внутримышечном введении.

Указанный штамм характеризуется следующими признаками. Культуры гриба быстрорастущие, рост колонии наблюдается на 2-5-й день в виде маленького пушистого возвышения, окруженный зоной белесоватого пушка; к 10-му дню достигают диаметра 4-5 см. Растущий штамм гриба *Microsporium equinum* F-0182 КазНИВИ №15 ветвящийся, беловатый, сероватый или бежевый, пушистый, бархатисто-мучнистый, распростертый, овальный, растущий край воздушного мицелия паутинистый. Размеры шириной 0,6-3,5 мкм, септированный, изогнуты, иногда гифы ракетообразные.

Микроконидий немногочисленные, овальные, грушевидные, размером 3-6 x 2,5-3,5 мкм, сидящие или прикрепленные короткими ножками, встречаются не постоянно, располагаются на конидиеносцах различного размера.

Макроконидий многочисленные, веретеновидной формы с вытянутыми концами, с толстостенной гладкой или зубчатой оболочкой, с 8-12 перегородками, размером 50-120 x 15-25 мкм, располагающихся иногда на равном расстоянии одна от другой по ходу мицелия.

Артроспоры гриба единичные или отсутствуют.

Хламидоспоры округлые, интеркалярные диаметром 8-12 мкм, располагаются на равном расстоянии друг от друга по ходу мицелия, единичные или отсутствуют.

Изучаемый штамм гриба *Microsporium equinum* F-0182 КазНИВИ №15 состоит из углеводов, постоянно усваивает сахарозу, глюкозу, мальтозу, манит; фактором роста являются – тиамин, никотиновая, пантотеновая, парабензойные кислоты. Стимулятором роста – железо, цинк, марганец, медь, молибден, кальций, кобальт, никель, бор и др.

Сероводород и индол не образуют.

Физиологический – хемогетеротроф. По отношению к кислороду аэроб. Не обладает метаболическими свойствами. По отношению к кислороду – аэроб. В минеральном питании для основного обмена гриба необходимы стимуляторы роста (железо, цинк, марганец, медь, молибден, кальций, кобальт, никель, бор и др.), а также пептон, аспарагин, глютаминовая кислота, аминокислоты, углеводы: сахароза, глюкоза, мальтоза, маннит; факторы роста (тиамин, никотиновая, пантотеновая, парабензойная кислоты и др.).

При введении культуры штамма в организме лошадей, кроликов и морских свинок образуются специфические алгглютинины в титрах 1:40 - 1:1280.

Штамм гриба слабовирулентен, безвреден и слабореактогенен для лошадей, кроликов и морских свинок в дозе 20×10^6 микроконидий при внутримышечном введении.

При двукратном внутримышечном введении штамма в дозе 20×10^6 микроконидий создается напряженный иммунитет у привитых лошадей, кошек, собак и пушных зверей (кроликов) к последующему заражению микроспорией продолжительностью не менее 12 месяцев.

У привитых животных спустя 2-3 недели на месте инъекции развивается специфически локализованный поверхностный очажок диаметром 1,0-1,5 см, который самопроизвольно излечивается в течение двух недель.

Основные биологические свойства вакцинного штамма гриба стабильно сохраняются на протяжении 12 месяцев при условии редких пересевов, при этом иммуногенные свойства не ослабляются (срок наблюдения).

Штамм сохраняется в лиофильно-высушенном состоянии в присутствии 10% сахарозы и 1,5% желатина или жидкого обезжиренного молока и не снижает активности при температуре 2-10 °С в течение 12 месяцев.

Обсуждение результатов Для приготовления вакцинных препаратов против микроспории лошадей используют 14-16 суточной культуры штаммов, выращенные в матрасных колбах на суслоагаре (рН 7,2-7,4) при температуре 28 °С. Для профилактической иммунизации инактивированная вакцина применяется двукратно с интервалом 14 суток, больным животным вводится двукратно с интервалом 14 суток в удвоенной профилактической дозе. Приготовленный таким образом вакцинный гомогенат из штамма позволяет надежно профилактировать заболеваемость поголовья лошадей от микроспориной инфекции.

Литература

1. Кашкин П.Н., Хохряков М.К., Кашкин А.П. Определитель патогенных, токсигенных и вредных для человека грибов.- Ленинград: Медицина.- 1979.- 262 с.
2. Иванова, Л.Г. Определение видов возбудителей дерматомикозов животных.- М.: Бюлл. ВИЭВ, 1978, Вып. 32.-С.8-11.

Сведения об авторах:

Умитжанов М.У. – доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Боранбаева Р.С. – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Түйін

ЖЫЛҚЫ ТРИХОФИТИЯСЫНА ҚАРСЫ ИНАКТИВТЕЛГЕН ВАКЦИНАНЫ ЖАСАУҒА ҚОЛДАНЫЛАТЫН MICROSPORUM EQUINUM F-182 ШТАММЫ

М. Умитжанов, Р.С. Боранбаева

«Қазақ ғылыми – зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада Microsporum equinum F-0182 КазНИВИ №15 вакциналық штаммының жылқы микроспориясына қарсы инактивтендірілген вакцина жасауға тиімділігі жарияланған.

Кілттік сөздер: трихофития, штамм, суслоагар, артроспорлар

Summary

MICROSPORUM EQUINUM F-182, USED FOR MAKING INACTIVATED VACCINE AGAINST MICROSPORUM OF HORSES

M. Umitzhanov, R.S. Boranbayeva

LLP «Kazakh Scientific research Veterinary Institute»

The article presents data on the efficacy of the vaccine strain Microsporum equinum F-182 KazNIVI number 15 in the manufacture of inactivated vaccine against Microsporum of horses.

Keywords: trichophytia strain, susloagar, arthrospores

УДК 619:616.5-002.828

ТРИХОФИТОН ВЕРРУКОСУМ F-0271, ИСПОЛЬЗУЕМЫЙ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ТРИХОФИТИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

М. Умитжанов, Р.С. Боранбаева, Б.Р. Бижанов, Б.А. Шалабаев

ТОО «Казахский научно – исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приведены данные об эффективности вакцинного штамма *Trichophyton verrucosum* F-0271 КазНИВИ № 16 при изготовлении инактивированной вакцины против трихофитии крупного рогатого скота.

Ключевые слова: грибы, микроконидии, макроконидии, полевой изолят, спорогенность, вирулентность

Введение Для решения проблемы продовольственного обеспечения Республики Казахстан, насыщения рынка продовольствием и его доступности для всех слоев населения первостепенное значение имеет производство высококачественных и конкурентоспособных продуктов питания как говядина, молоко и козженное сырье.

Значительное увеличение сельхозпродукции в сравнительно короткие сроки способна обеспечить одна из традиционных отраслей животноводства Республики Казахстана – скотоводство.

Полноценному развитию этой отрасли препятствует такое инфекционное заболевание как трихофития. В настоящее время для изготовления биопрепаратов против трихофитии крупного рогатого скота используется штамм гриба *Trichophyton verrucosum* F-0271 КазНИВИ №16. Данный штамм гриба получен от больной трихофитией теленка, принадлежащей СХПК «ПЗ Алматы» Талгарского района Алматинской области. Вакцинный штамм гриба *Trichophyton verrucosum* F-0271 КазНИВИ №16 депонирован в 2013 году в лаборатории генофонда микроорганизмов ТОО «КазНИВИ».

Материалы и методы исследований Идентификацию штамма гриба проводили по основным морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам согласно определителя патогенных, токсигенных и вредных для человека грибов [1, 2, 3].

После очищения полученного патматериала (культуру гриба) засеивали его в питательную среду (суслоагар) и ставили в термостат на 21 суток при температуре 28 °С. Из одной колонии выращенного гриба делали 5 пересевов. Методом серийного разведения выделяли клоны названного гриба, выросшие в чашках Петри на суслоагаре, которые при дальнейшем посеве давали наибольший рост. Накопление биологической массы и жизнеспособности макро- и микроконидий вакцинного штамма определяли в камере Горяева по общепринятой методике.

Результаты исследований В результате проведенных исследований был выделен полевой изолят гриба из рода *Trichophyton*, который был более приемлемый для дальнейшей работы. Штамм гриба *Trichophyton verrucosum* F-0271 КазНИВИ № 16 получен путем направленного ступенчатого отбора, по признаку спорообразования быстро растущих колоний с активным накоплением микроконидий. Полученный штамм гриба отличается от эпизоотических

штаммов слабой вирулентностью, высокой спорогенностью и активностью при внутримышечном введении.

Указанный штамм характеризуется следующими признаками. Культуры гриба медленно растущие. Колония (на средах с тиаминном, инозитом растет лучше) возникает в виде растущего в субстрат серовато-желтоватого кожистого бугорка на 10-13-ые сутки, через 1,5 месяца колония достигает диаметра 15-17 мм. По периферии колонии часто имеется мучнистость. Мицелий широкий, ровный, септированный (диаметром 3-3,5 мкм), часто ракетковидный, довольно скоро распадаются на цепочки артроспор (немногочисленные или отсутствуют, диаметром 3-7,5 мкм), образует концевые и интеркалярные (на 3-й неделе) хламидоспоры (диаметром 5-8 мкм). Иногда встречаются ветви, напоминающие «рога оленя». Макро- и микроконидий возникают обычно на средах с добавлением дрожжевого экстракта.

Микроконидий немногочисленные, овальные, грушевидные, палочковидные, дубинкообразные, тонкие, размерами от 3 до 5 мкм (чаще 1-3,5 x 2-7,5 мкм).

Макроконидий немногочисленные или отсутствуют, неправильной формы, удлинённые, тупоконечные и встречаются совсем редко в виде коротких 3-5-клеточных веретен с тонкой гладкой стенкой, со слегка закругленными концами размером 3,7-7,5 x 25-45 мкм.

Изучаемый штамм гриба *Trichophyton verrucosum* F-0271 КазНИВИ №16 испытывают потребности в витаминах, тиамине, инозитоле, аминокислоте, микроэлементах, дрожжевом экстракте для роста и спорообразования.

Культивирование проводили при температуре 28 °С в течение 21 суток.

Сероводород и индол не образуют. Физиологический – хемогетеротроф. По отношению к кислороду аэроб. Не обладает метаболическими свойствами. При введении культуры штамма через организм кроликов и морских свинок образуются специфические аллглютинины в титрах 1:40-1: 1280.

Штамм гриба слабовирулентен, безвреден и слабореактогенен для крупного рогатого скота, кроликов и морских свинок в дозе 20×10^6 микроконидий при внутримышечном введении. При двукратном внутримышечном введении штамма в дозе 20×10^6 микроконидий создается напряженный иммунитет у привитого крупного рогатого скота, кроликов и морских свинок к последующему заражению трихофитией продолжительностью не менее 12 месяцев.

У привитых животных спустя 2-3 недели на месте инъекции развивается специфически локализованный поверхностный очажок диаметром 1,0-1,5 см, который самопроизвольно излечивается в течение двух недель.

Основные биологические свойства вакцинного штамма гриба стабильно сохраняются на протяжении 12 месяцев при условии редких пересевов, при этом иммуногенные свойства не ослабляются (срок наблюдения).

Штамм сохраняется в лиофильно-высушенном состоянии в присутствии 10% сахарозы и 1,5% желатина или жидкого обезжиренного молока и не снижает активности при температуре 2-10 °С в течение 12 месяцев.

Обсуждение результатов Для приготовления вакцинных препаратов против трихофитии крупного рогатого скота используют 21 суточные культуры штамма, выращенные в матрасных колбах на суслоагаре (рН 7,2-7,4) при температуре 28 °С. Для профилактической иммунизации инактивированная вакцина применяется двукратно с интервалом 14 суток, больным животным вводится двукратно с интервалом 14 суток в удвоенной или утроенной профилактической дозе, который зависит от степени зараженности животного.

Приготовленный вакцинный гомогенат из штамма позволяет надежно профилактировать заболеваемость поголовья крупного рогатого скота от трихофитийной инфекции.

Литература

1. Кашкин П.Н., Хохряков М.К., Кашкин А.П. Определитель патогенных, токсигенных и вредных для человека грибов.- Ленинград: Медицина.- 1979.- 262 с.
2. Иванова, Л.Г. Определение видов возбудителей дерматомикозов животных.- М.: Бюлл. ВИЭВ, 1978, Вып. 32.-С.8-11.
3. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. «Определитель патогенных и условно-патогенных грибов».- М.: Мир, 2001.- С.5-28.

Сведения об авторах:

Умитжанов М.У. – доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Боранбаева Р.С. – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Бижанов Б. – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник ТОО «КазНИВИ»

Шалабаев Б.А. - кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела паразитологии ТОО «КазНИВИ»

Түйін

ІРІ ҚАРА МАЛДЫҢ ТРИХОФИТИЯСЫНА ҚАРСЫ ИНАКТИВТЕЛГЕН
ВАКЦИНАНЫ ЖАСАУҒА ҚОЛДАНЫЛАТЫН TRICHOPHYTON
VERRUCOSUM F-0271 ШТАММЫ

М. Умитжанов, Р.С. Боранбаева, Б.Р. Бижанов, Б.А. Шалабаев

«Қазақ ғылыми – зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада Trichophyton verrucosum F-0271 КазНИВИ № 16 вакциналық штаммының ірі қара малының трихофитиясына қарсы инактивтендірілген вакцина жасауға тиімділігі жарияланған.

Кілттік сөздер: саңырауқұлақтар, микроконидиялар, макроконидиялар, далалық изолят, спорогендік, уыттылық

Summary

TRICHOPHYTON VERRUCOSUM F-0271, USED FOR THE MANUFACTURE
INACTIVATED VACCINE AGAINST TRICHOPHYTON CATTLE

M. Umitzhanov, R.S. Boranbayeva, B.R. Bizhanov, B.A. Shalabaev

LLP «Kazakh Scientific research Veterinary Institute»

The article presents data on the efficacy of the vaccine strain Trichophyton verrucosum F-0271 KazNIVI number 16 in the manufacture of inactivated vaccine against Trichophyton cattle.

Keywords: mushrooms, microconidia, macroconidia, field isolate, sporogenic, virulence

УДК 619:616:992.28.:615.:636.1

**TRICHOPHYTON EQUINUM F-181, ИСПОЛЬЗУЕМЫЙ ДЛЯ
ИЗГОТОВЛЕНИЯ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ
ТРИХОФИТИИ ЛОШАДЕЙ**

М. Умитжанов, Р.С. Боранбаева

ТОО «Казахский научно – исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приведены данные об эффективности вакцинного штамма *Trichophyton equinum* F-181 КазНИВИ №14/1 при изготовлении инактивированной вакцины против трихофитии лошадей.

Ключевые слова: вакцинный штамм, безвредность, активность, иммунизация, агглютинины, гомогенат

Введение Для решения проблемы продовольственного обеспечения Республики Казахстан, насыщения рынка продовольствием и его доступности для всех слоев населения первостепенное значение имеет производство высококачественных и конкурентоспособных продуктов питания на основе новейших ресурсосберегающих технологий.

Значительное увеличение сельхозпродукции в сравнительно короткие сроки способна обеспечить одна из традиционных отраслей животноводства Казахстана – коневодство. Мясо конины не уступает по питательности говядине, а кумыс обладает уникальными лечебными свойствами.

Полноценному развитию этой отрасли препятствует такое инфекционное заболевание как трихофития. В настоящее время для изготовления биопрепаратов против трихофитии лошадей используется штамм гриба *Trichophyton equinum* F-181 КазНИВИ №14/1. Данный штамм гриба получен от больной трихофитией лошади, принадлежащей крестьянскому хозяйству с.Таргап Жамбылского района Алматинской области.

Материалы и методы исследований Вакцинный штамм гриба *Trichophyton equinum* F-181 КазНИВИ №14/1 депонирован в 2013 году в лаборатории генофонда микроорганизмов ТОО «КазНИВИ».

Идентификацию штамма гриба проводили по основным морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам согласно определителя патогенных, токсигенных и вредных для человека грибов [1, 2].

После очищения полученного патматериала (культуру гриба) засеивали в питательную среду (суслоагар) и ставили в термостат на 18 суток при температуре 28 °С. Из одной колонии выращенного гриба делали 5 пересевов. Методом серийного разведения выделяли клоны названного гриба, выросшие в чашках Петри на суслоагаре, которые при дальнейшем посеве давали наибольший рост. Накопление биологической массы и жизнеспособности макро- и микроконидий вакцинного штамма определяли в камере Горяева по общепринятой методике.

Результаты и обсуждение Таким образом, в результате проведенных исследований был выделен полевой изолят гриба из рода *Trichophyton*, который был более приемлемым для дальнейшей работы. Штамм гриба *Trichophyton equinum* F-181 КазНИВИ №14/1 получен путем направленного ступенчатого отбора, по признаку спорообразования быстро растущих колоний с активным накоплением микроконидий. Полученный штамм гриба отличается

от эпизоотических штаммов слабой вирулентностью, высокой спорогенностью и активностью при внутримышечном введении.

Указанный штамм характеризуется следующими признаками. Молодые 7-суточные колонии совершенно гладкие, ровные. Колония на средах с триптофаном или никотиновой кислотой растет быстро, к 10-ым суткам достигает диаметра 20-60 мм, на среде Саубуро – 10-15 мм. После 10-14 суток становятся складчатыми, иногда с трещинами, бархатисто-пушистыми, беловатыми. Бахромчатые, погруженные в субстрат края колонии желтоватого цвета, иногда блестящие. Обратная сторона колоний желтовато-оранжевая; в зрелых и старых культурах розовато-красноватая. Мицелий септированный, ветвящийся, шириной до 3,5 мкм, редко с завитками (спирали и кольцевидные).

Микроконидии многочисленные, округлые или продолговатые, овальные, грушевидные, нередко булавовидные; на тонких коротких ножках расположены по бокам мицелии. Средние размеры их 3-7 x 2-3 мкм.

Макроконидии встречается редко; по форме они слегка булавовидные, удлинено-овальные с тупым наружным концом, 1-4-клеточные (перегородками), тонкостенные, гладкие размером 3-7 x 15-45 мкм.

Многочисленные хламидоспоры встречаются в старых культурах и достигают от 12 до 16 мкм в диаметре, единичные. Артроспоры отсутствуют.

Изучаемый штамм гриба хорошо растет в присутствии триптофана, никотинамида, никотиновой кислоты или ее «эквивалентов», имеющих в лошадиной шерсти, избирательно поражаемом данным грибом. На шерсти других многочисленных животных грибок развивается лишь при условии добавления к ним раствора никотиновой кислоты. Культивирование проводили при температуре 28 °С в течение 18-21 суток. В этих условиях наблюдается ускорение лаг-фазы и усиливается накопление биомассы (у эталонного штамма за 18 сут).

Из числа углеводов плохо усваивается сахароза. Факторами роста являются триптофан, никотинамида, никотиновой кислоты и др. Элементами питания являются азот, углерод, водород, кислород, а наиболее важные микроэлементы - фосфор и сера. Все эти микро- и макроэлементы участвуют во всех биохимических реакциях, происходящих в клетках.

Сероводород и индол не образуют. Физиологически – хемогетеротроф. По отношению к кислороду аэроб. Не обладает метаболическими свойствами. В минеральном питании для основного обмена гриба необходимы азот, углерод, кислород, водород, сера, фосфор, калий, магний, железо, медь, цинк, марганец, молибден, кальций, кобальт, галлий, бор, скандий, ванадий.

При введении культуры штамма в организме лошадей, кроликов и морских свинок образуются специфические алгглютинины в титрах 1:40-1:1280. Штамм гриба слабовирулентен, безвреден и слабореактогенен для лошадей, кроликов и морских свинок в дозе 20×10^6 микроконидий при

внутримышечном введении. При двукратном внутримышечном введении штамма в дозе 20×10^6 микроконидий создается напряженный иммунитет у привитых лошадей, кроликов и морских свинок к последующему заражению трихофитией продолжительностью не менее 12 месяцев.

У привитых животных спустя 2-3 недели на месте инъекции развивается специфически локализованный поверхностный очажок диаметром 1,0-1,5 см, который самопроизвольно излечивается в течение двух недель.

Основные биологические свойства вакцинного штамма гриба стабильно сохраняются на протяжении 12 месяцев при условии редких пересевов, при этом иммуногенные свойства не ослабляются (срок наблюдения).

Штамм сохраняется в лиофильно-высушенном состоянии в присутствии 10% сахарозы и 1,5% желатина или жидкого обезжиренного молока и не снижает активности при температуре 2-10 °С в течение 12 месяцев.

Для приготовления вакцинных препаратов против трихофитии лошадей используют 18-21 суточные культуры штаммов, выращенные в матрасных колбах на суслоагаре (рН 7,2-7,4) при температуре 28 °С.

Для профилактической иммунизации инактивированная вакцина применяется двукратно с интервалом 14 суток, больным животным вводится двукратно с интервалом 14 суток в удвоенной профилактической дозе.

Приготовленный таким образом вакцинный гомогенат из штамма позволяет надежно профилактировать заболеваемость поголовья лошадей от трихофитии.

Литература

1. Кашкин П.Н., Хохряков М.К., Кашкин А.П. Определитель патогенных, токсигенных и вредных для человека грибов.- Ленинград: Медицина.- 1979.- 262 с.
2. Иванова Л.Г. Определение видов возбудителей дерматомикозов животных.- М.: Бюлл. ВИЭВ, 1978, Вып. 32.-С.8-11.

Сведения об авторах:

Умитжанов М.У. – доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Боранбаева Р.С. – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Түйін

ЖЫЛҚЫ ТРИХОФИТИЯСЫНА ҚАРСЫ ИНАКТИВТЕЛГЕН ВАКЦИНАНЫ ЖАСАУҒА ҚОЛДАНЫЛАТЫН MICROSPORUM EQUINUM F-181 ШТАММЫ

М. Умитжанов, Р.С. Боранбаева

«Қазақ ғылыми – зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада Trichophyton equinum F-181 КазНИВИ №14/1 вакциналық штаммының жылқы трихофитиясына қарсы инактивтендірілген вакцина жасауға тиімділігі жарияланған.

Кілттік сөздер: вакцинді штамм, зиянсыз, белсенділік, иммундеу, агглютиндер, гомогенат

Summary

TRICHOPHYTON EQUINUM F-181 USED FOR PRODUCTION OF THE INACTIVATED VACCINE AGAINST THE TRICHOPHYTIA OF HORSES

M. Umitzhanov, R.S. Boranbayeva

LLP «Kazakh Scientific research Veterinary Institute»

The article presents data on the efficacy of the vaccine strain Trichophyton equinum F-181 KazNIVI number 14/1 in the manufacture of inactivated vaccine against Trichophyton horses.

Keywords: vaccine strain, safety, activity, immunization, agglutinins, homogenate

УДК:619:616, 988: 614. 47

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА САЛЬМОНЕЛЛЕЗНОГО АБОРТА КОБЫЛ

М. Е. Утегенова

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье рассматриваются вопросы диагностики и профилактики сальмонеллезного аборта кобыл. Приводятся результаты исследований по изучению

культурально – морфологических, биохимических и антигенных свойств эпизоотических штаммов сальмонелл, выделенных от абортированного плода кобыломатки.

Ключевые слова: сальмонеллезный аборт кобыл, сальмонеллы, патологический материал, инфекция, диагностика

Введение Сальмонеллезный аборт кобыл одна из распространенных инфекционных болезней лошадей, наносящая значительный экономический ущерб коневодству республики. Коневодство в Республике Казахстан является важнейшей отраслью животноводства в силу исторически сложившихся условий. Важное значение в увеличении поголовья и продуктивности лошадей имеет диагностика и профилактика инфекционных болезней, среди которых важное место занимает сальмонеллезный аборт кобыл. Сальмонеллезный аборт кобыл сопровождается преждевременными родами (абортами) и рождением нежизнеспособного плода [1,2]. Кобылы заражаются через пищеварительный тракт, особенно в период абортот. У зараженных кобыл клинически выраженных симптомов болезни нет, сальмонеллы локализуются в кишечнике, периодически выделяются с фекалиями. Аборты сальмонеллезной этиологии происходят во второй половине жеребости (7-11 месяцев) и носят массовый характер. Жеребята заражаются внутриутробно и после рождения погибают [3]. Большой процент среди поголовья лошадей составляют племенные чистокровные животные. В последнее время элитные дорогостоящие лошади завозятся из зарубежных стран. Племенные животные составляют генофонд республики и стоимость элитных пород очень высока.

Материалы и методы исследований Диагностика заболевания осуществляется на основании клинико-эпизоотологических, патологоанатомических данных, а также результатов бактериологического исследования. От абортплодов исследуют паренхиматозные органы с учетом наибольшей локализации сальмонелл (печень, лимфатические узлы, селезенку, сердце, трубчатую кость с костным мозгом). Культуральные свойства выделенных культур определяют путем посева их на жидкие, плотные и полужидкие питательные среды [4]. Морфологию сальмонелл изучают путем микрокопирования мазков, приготовленных из агаровых суточных культур, окрашенных по Граму и простым способом. Способность сальмонелл ферментировать те или иные углеводы является одним из основных дифференцированных показателей, позволяющих проводить их быструю и качественную идентификацию [5]. Биохимические свойства культур определяют по их способности ферментировать углеводы (с образованием кислоты и газа), с этой целью используют среду Гисса, содержащую тот или иной углевод в концентрации 0,5%.

Результаты и обсуждение 25 апреля 2014 года для исследования был доставлен патологический материал от абортплода кобылы из КХ «Курты

Саяхат» Жамбылского района Алматинской области. Кобыломатка abortировала на 10 месяце жеребости. Abortплод сформирован, имел шерстный покров и копытца. Для исследования получены сердце, кусочки печени, селезенки, трубчатая кость с костным мозгом. Сердце увеличено, темного цвета, миокард дряблый. Паренхиматозные органы изменены, дряблые, перерожденные с точечными кровоизлияниями.

Для проведения бактериологических исследований готовили питательные среды: МПБ, МПА, ПЖА, висмут-сульфитный агар, среду Эндо. МПБ, МПА, ПЖА готовили по установленному рецепту, затем стерилизовали в автоклаве 40 мин при 121°C. Среду Эндо и висмут-сульфитный агар также готовили согласно прописи, сразу после кипения разливали в стерильные чашки Петри. МПБ, МПА, ПЖА выдерживали 3 суток в термостате при 37°C для контроля стерильности. Чашки Петри со средой Эндо и висмут-сульфитным агаром подсушивали в термостате с целью удаления конденсата 1 сутки. Ростовые свойства питательных сред проверяли путем посева тест - штамма эшерихий. После проверки стерильности и ростовых свойств питательных сред приступали к исследованию патологического материала. Работу проводили в стерильном боксе в соответствии с установленными правилами. Посевы делали стерильными пастеровскими пипетками. Место прокола ткани прижигали, затем протыкали пастеровской пипеткой, набирали печеночную ткань, ткань селезенки, кровь из сердца и высевали в МПБ. Затем пастеровской пипеткой из МПБ посевы делали на МПА и дифференциально-диагностические среды (висмут-сульфитный агар и среду Эндо). Трубчатую кость разрубили, место прокола прижигали, из глубины в пастеровскую пипетку набирали костный мозг, который высевали сначала на МПБ, затем из МПБ на твердые питательные среды. Посевы помещали в термостат на 18-20 часов.

Через 18 часов на МПА росли круглые, мелкие блестящие, прозрачные, выпуклые влажные колонии с голубоватым оттенком, на висмут-сульфитном агаре – типичные колонии черного цвета с металлическим блеском (среда под колониями окрашивалась в темный цвет), на среде Эндо - розоватые колонии (сальмонеллы не разлагают лактозу, входящую в состав среды). Колонии были в S-форме. Контаминации посторонней микрофлорой не отмечалось. Рост суточной культуры сальмонелл представлен на рисунке 1.

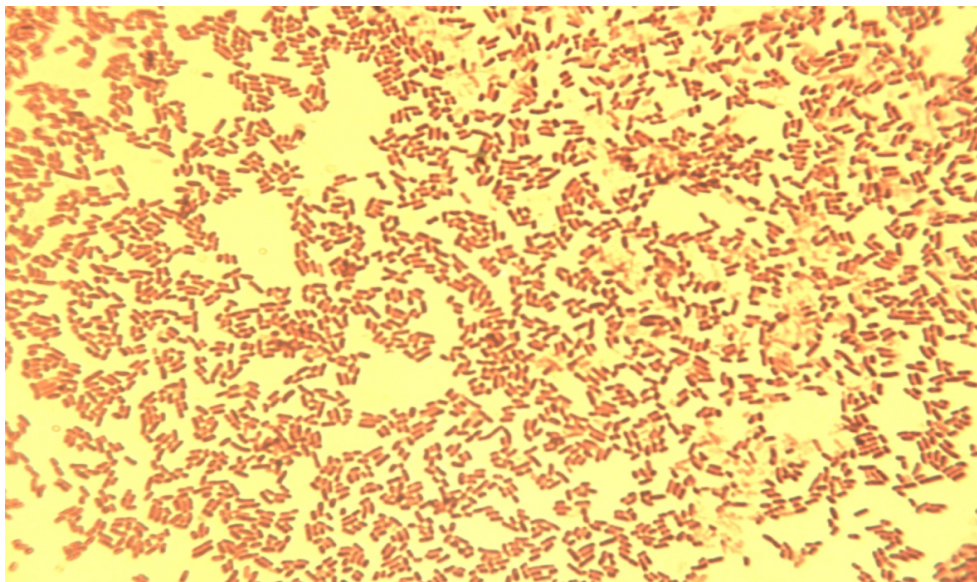


Рисунок 1- Рост суточной культуры *Salmonella abortus-equi*, выделенной от абортплода кобыломатки. Видны мелкие грамтрицательные палочки с закругленными концами

При микроскопии мазков, приготовленных из суточных агаровых культур и окрашенных по Граму, наблюдались мелкие грамтрицательные палочки с закругленными концами. Культура агглютинировалась в реакции агглютинации на стекле с поливалентной и монорецепторными (рецептор O-4, H- enx) сальмонеллезными сыворотками. С поливалентной и монорецепторными сальмонеллезными сыворотками реакция агглютинации была интенсивной и оценивалась на 4 креста.

При посеве уколом на ПЖА наблюдалась характерная подвижность сальмонелл (подвижные палочки). Выделенную культуру идентифицировали методом изучения биохимических свойств путем культивирования на среде Гисса. Сальмонеллы ферментировали глюкозу, маннит, арабинозу, дульцит, ксилозу, рамнозу с образованием кислоты и газа; образовывали сероводород, индола не продуцировали.

Заключение На основании клинико-эпизоотологических данных, культурально – морфологических, биохимических и антигенных свойств эпизоотическая культура сальмонелл, изолированная из патологического материала абортплода кобыломатки, отнесена к *Salmonella abortus-equi*.

В результате проведенных исследований установлена этиология аборта у кобыломатки, от абортплода выделен и идентифицирован возбудитель сальмонеллезного аборта кобыл *Salmonella abortus-equi*.

Литература

1. Досанов К. Ш., Мусаева А. К., Егорова Н. Н., Сулейменов М. Ж. Сроки профилактических ветеринарных обработок лошадей. Ветеринарный календарь. Алматы, 2012.- 23 с.
2. Юров К.П. Инфекционные болезни лошадей. М: Росагропромиздат, 1991.- 184 с.
3. Кадымов, Р.А., Матвиенко, Б.А. и др.// Ветеринарная микробиология. М: Колос, 1982.- С. 154 -173.
4. Антонов Б. И. Лабораторные исследования в ветеринарии. М.: Агропромиздат, 1986. - С.175 - 177.
5. Кауфман Ф. Семейство кишечных бактерий. М: Медгиз, 1959. – С.86 - 87.

Сведения об авторе:

Утегенова М. Е. – старший лаборант отдела бактериологии

Түйін

БИЕЛЕРДІҢ САЛЬМОНЕЛЛЕЗДІ ІШ ТАСТАУЫН БАКТЕРИОЛОГИЯЛЫҚ ӘДІСПЕН БАЛАУ

М. Е. Утегенова

«Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада түсік тастайтын биелердің сальмонеллезінің алдын алу және балау сұрақтары қарастырылады. Биелердің түсігінен бөлініп алынған сальмонеллалардың эпизоотиялық штаммының культуральды–морфологиялық, биохимиялық және антигендік қасиеттерін зерттеудің қорытындылары келтіріледі.

Кілттік сөздер: биелердің сальмонеллезді іш тастауы, сальмонеллалар, індет, патологиялық материал, балау

Summary

THE BACTERIOLOGICAL DIAGNOSTIC OF SALMOLLESIS ABORTION OF MARES

M. E. Utegenova

In the article it was adduced the results of investigations of pathological material abortus of mare and questions of diagnostics and preventive maintenance salmonellosis abortion of mares are resulted. On the grounds of clinical-and-epizootological data, bacteriological, biochemical investigations from the foal abortus it was defined the Salmonella abortus equi the pathogen of salmonellosis abortion of mares.

Keywords: salmonellosis abortus of mare, salmonella, the pathological material, infection, diagnostic

УДК 619:616.981.459-636.22/-28

РАЗРАБОТКА ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Г. Д. Чужебаева, С.Э. Ермагамбетова, Р.М. Рыщанова, Б.М. Мустафин

Костанайский государственный университет имени А. Байтурсынова
Казахский национальный аграрный университет
«Костанайская научно – исследовательская ветеринарная станция» филиал
ТОО «КазНИВИ»

Резюме Сконструированы праймеры на ген 16S rPHK Pasteurella multocida, которые имеют следующую нуклеотидную последовательность: Pm 16SRNA- F TCTGAAGGATGACCAGCCACA (прямой); Pm 16SRNA- R TTACGCCAGTTATTCCGATT (обратный).

Созданные праймеры специфичны и отвечают всем требованиям, предъявляемым к конструированию праймеров. На основании выбранных в процессе проведенных экспериментов оптимальных параметров времени и температур для всех стадий амплификации, был составлен режим проведения ПЦР.

Ключевые слова: праймеры, конструирование, синтез, оптимизация ПЦР

Введение Подбор и конструирование специфических праймеров – один из важнейших и ответственных этапов при разработке ПЦР. Выбор специфического фрагмента и подбор праймеров играет важнейшую роль в проведении амплификации, что сказывается на качестве результатов анализа. Требуется подобрать такой фрагмент молекулы ДНК, который бы отличался

генетической консервативностью и присутствовал бы только у интересующего вида микроорганизмов или в исследуемом гене [1].

Оптимизация полимеразной цепной реакции (ПЦР) может проводиться по следующим параметрам: температурный профиль реакции, временной профиль реакции, состав реакционной смеси.

Подбор и отработка температурно-временного режима амплификации является очень важным и сложным моментом при разработке метода ПЦР [2].

Материалы и методы исследований С целью выявления консервативных и вариабельных участков гена 16S rRNA *Pasteurella multocida* было проведено сравнение нуклеотидных последовательностей из Genbank с использованием пакета прикладных программ для анализа последовательностей ДНК - DNASYS MAX 1.0, Sequencher, Vector NTI, BioEdit, GENEDOC, Staden package.

Синтез подобранных праймеров осуществляли на синтезаторе нуклеотидов "Expedite 8909" фирмы "Applied Biosystems" согласно протоколам, прилагающимся к прибору. Синтезированные праймеры переосаждали этанолом, ресуспендировали в высокоочищенной воде и хранили при минус 20°C.

Электрофорез продуктов амплификации ДНК бактерии *Pasteurella multocida* проводили в аппарате для горизонтального электрофореза "G-100", фирмы "Pharmacia", при напряжении 8 В/см. Для электрофореза использовали 2% раствор агарозы в TBE-буфере. Последующий анализ результатов проводили с использованием программы Digi-Doc-It.

В качестве маркера молекулярных масс использовали маркер «50 bp DNA Ladder» Фирмы BioLabs.

Результаты и обсуждение В последнее время проведено много удачных исследований эпидемиологии *Pasteurella multocida* с разработкой ПЦР процедур с использованием генов 16S rPHK, 23S rPHK для определения видовой и субвидовой специфичности [3].

С целью выявления консервативных и вариабильных участков гена 16S rPHK было проведено сравнение нуклеотидных последовательностей из Genbank с использованием пакета компьютерных программ DNASYS MAX 1.0.

После того, как были определены консервативные участки гена 16S rPHK, непосредственно приступили к моделированию праймеров. Последовательность праймеров подбирали с помощью программ Oligo 6.0 и DNASYS MAX 1.0. При подборе праймеров учитывали все возможные критерии, влияющие на дальнейшую амплификацию: длину праймера в пределах 18-24 нуклеотидов; состав GC оснований не более 60 % и не менее 40 %, отклоняли праймеры с протяженными полипуриновыми, полипиримидиновыми и другими неординарными последовательностями [4].

Праймеры должны быть специфичны. Особое внимание уделяли высокой специфичности на 3'-конце праймера, так как именно с них Taq-полимераза начинает достраивать комплементарную цепь ДНК.

Важно отметить, что не совсем удачный выбор праймера может привести к появлению неспецифического продукта амплификации из-за образования «праймерного димера». Этот побочный продукт амплификации представляет собой двунитевый фрагмент, возникающий за счет отжига праймеров с их последующей достройкой Taq-полимеразой [5]. Были выбраны праймеры с разницей между температурами плавления не более 3-5⁰С и ПЦР-продукты с размерами в пределах 200-600 п.о.

Анализ подобранных праймеров проводили аналитически. Олигонуклеотидные последовательности, предлагаемые программой, накладывали на все последовательности гена 16S rPHK *Pasteurella multocida*, которые были взяты из международных банков данных через сеть Интернет и оценивали их комплементарность. В ходе экспериментов была отобрана одна пара праймеров, которая была обозначена Pm 16SRNA-F (прямой) и Pm 16SRNA-R (обратный). Данные праймеры ограничивали участок ДНК размером 420 п.о. Краткая характеристика данных праймеров и их последовательности представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Характеристика праймеров на ген 16S rPHK *Pasteurella multocida*

Праймеры	Последовательность праймеров	Длина	T _{плав}	Содержание GC-пар
Pm 16SRNA-F	TCTGAAGGATGACCAGCCACA	22	62,7	50 %
Pm 16SRNA-R	TTACGCCAGTTATTCCGATT	21	59.3	42.9 %

Смоделированные последовательности праймеров в дальнейшем были синтезированы на синтезаторе олигонуклеотидов Expedite 8909, Applied Biosystems. Очистку праймеров проводили методом спиртового переосаждения.

Полученные таким образом синтезированные праймеры разводили до концентрации 20 пмоль и использовали для диагностики пастереллеза крупного рогатого скота методом ПЦР.

В наших экспериментах при подборе температурного режима для денатурации использовали стандартные условия – 95⁰С, так как содержание G+C пар генома *Pasteurella multocida* не превосходит 45 %. Выбор такого режима гарантирует денатурацию матричной ДНК на первом шаге. С целью полного расхождения цепей ДНК проводили пре-денатурацию при температуре 95⁰С в течение 5 минут.

Критичным для специфичности амплификации является, в основном, только выбор температуры отжига праймеров. Температура отжига - температура, при которой возможно связывание праймерного олигонуклеотида с матрицей.

Праймеры присутствуют с самого начала в реакционной смеси, но они не образуют связей при 90-95 °С. При температуре в пределах 50-60 °С праймеры способны гибридизоваться с комплементарными последовательностями на матричных нитях. Считается, что температура отжига зависит от длины праймера и содержания в нем GC-пар [6]. Очевидно, что чем выше температура при которой проводится отжиг, тем меньше вероятность неспецифического связывания праймера с матрицей.

В дальнейших наших экспериментах при проведении ПЦР для детекции ДНК *Pasteurella multocida* использовали 55 °С.

При проведении ПЦР важное значение имеет фермент – полимеразы, которая работает с комплексом элонгации (праймер и матрица ДНК). Температура элонгации зависит от типа используемой ДНК-полимеразы [6]. В наших исследованиях длина ПЦР-продукта составляет порядка 420 п.о. При синтезе до 1000 п.о. рекомендуется использовать фермент Таq-полимеразу. Фермент оптимально работает при 72 °С. Выбор такой температуры обеспечивает максимальную активность Таq-полимеразы на третьем шаге цикла амплификации [7].

Как известно, время синтеза определяется скоростью работы Таq-полимеразы и длиной амплифицируемого фрагмента.

В проводимых исследованиях было изучено влияние продолжительности синтеза на наработку специфического продукта. Сокращение времени необходимого для синтеза, позволяет сократить время постановки диагноза. Поэтому, при отработке параметров метода ПЦР большое значение было уделено определению оптимального времени синтеза для амплификации продукта размером 420 п.о. Первоначально синтез проводили в течение 1 минуты, далее уменьшали время на каждые 10 секунд. В течение 15 сек. нарабатывается ПЦР-продукт с очень низкой специфичностью. Достаточное количество ПЦР-продукта размером 420 п.о. нарабатывается в пробах, время синтеза для которых длится от 20 до 60 сек. Таким образом, за 20 сек. полимеразы полностью достраивает вновь синтезированные комплементарные цепи ДНК. В наших дальнейших экспериментах стадию синтеза ПЦР-продукта проводили в течение 20 сек.

Заключение При разработке ПЦР тест-систем одной из основных задач является подбор праймеров. Для диагностики пастереллеза КРС методом ПЦР нами сконструированы праймеры на ген 16S rPHK *Pasteurella multocida*, которые имеют следующую нуклеотидную последовательность:

Pm 16SRNA-F TCTGAAGGATGACCAGCCACA (прямой)

Pm 16SRNA-R TTACGCCCCAGTTATTCCGATT (обратный)

Созданные праймеры специфичны и отвечают всем требованиям, предъявляемым к конструированию праймеров.

Таким образом, на основании выбранных в процессе экспериментов оптимальных параметров времени и температур для всех стадий амплификации, был составлен следующий режим для проведения ПЦР:

пре-денатурация: 5 мин, 95 °C	} 35 циклов
денатурация: 20 с, 95 °C	
отжиг: 20 с, 55 °C	
синтез: 20 с, 72 °C	
пост-репликация 10 мин, 72 °C	

Литература

1. Mullis K.B., Faloona F.A. Specific Synthesis of DNA in vitro via a Polymerase-Catalysed Chain Reaction. *Methods Enzymol* 1987; 155:335 - 50.
2. Kuhnert, P., Boerlin, P., Emler, S., Krawinkler, M., Frei J., Phylogenetic analysis of *Pasteurella multocida* subspecies and molecular identification of feline *Pasteurella multocida* subsp. *septica* by 16S rRNA gene sequencing. *International J. of Medical Microbiologi* 290 2000 V. 599-604
3. Miflin JK, Blackall PJ. Development of a 23S rRNA-based PCR assay for the identification of *Pasteurella multocida*// *Lett Appl Microbiol*. 2001 Sep; 33(3):216-21.
4. Болдырев А.Н. Дизайн праймеров. // Новосибирск, 2008. - С.5
5. Greizen K., Loeffelholz M., Purohit A., Leong D. PCR Primers and Probes for the 16S rRNA Cerebrospinal Fluid. *J Clin Microbiol* 1994; 32:335 - 51.
6. Маккреди Б.Дж., Чимера, Д.А. Обнаружение и идентификация патогенных микроорганизмов молекулярными методами. Молекулярная клиническая диагностика. Методы. М.: Мир, 1999. - С.496 - 506.
7. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. Пер. с англ. - М.: Мир, 2002. - С. 589.

Сведения об авторах:

Чужебаева Г. Д. - кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры ветеринарной санитарии, Костанайский государственный университет имени А. Байтурсынова

Ермагамбетова С.Э. - кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры микробиологии и вирусологии, Казахский национальный аграрный университет

Рыщанова Р.М. - кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры ветеринарной медицины, Костанайский государственный университет имени А. Байтурсынова

Мустафин Б.М. - доктор ветеринарных наук, директор филиала «Костанайская НИВС» ТОО «КазНИВИ»

Түйін

ІРІ ҚАРА МАЛ ПАСТЕРЕЛЛЕЗІН БАЛАУ ҮШІН ПОЛИМЕРАЗДЫ ТІЗБЕКТІ РЕАКЦИЯСЫН ӨНДІРУ

Г. Д. Чужебаева, С.Э. Ермагамбетова, Р.М. Рыщанова, Б.М. Мұстафин

А. Байтурсынов атындағы Қостанай мемлекеттік университеті
Қазақ ұлттық аграрлы университеті
«Қостанай ғылыми – зерттеу ветеринария станциясы» филиалы
«Қазақ ҒЗВИ» ЖШС

*Pasteurella multocida*ның 16S rPHK тұқым қуалаушысының алдағы нуклеотидтік жүйелілігіне праймерлер жасалды: Pm 16SRNA-F TCTGAAGGATGACCAGCCACA (тура); Pm 16SRNA-R TTACGCCAGTTATTCCGATT (кері).

Ірі қара малдың пастереллез ауруын ПТР әдісімен балау кезінде, амплификацияның барлық саттары үшін уақыт және температуралардың параметрлерін эксперименттік үйлесімдіру процесінде, ПТР жүргізу тәртібі анықталынды. Құрылған праймерлер ерекшеленеді және праймер құрастыруға қойылатын талаптарға сай болды.

Кілттік сөздер: праймерлер, құрастыру, синтез, ПТР - ды жетілдіру

Summary

DEVELOPMENT OF POLYMERASE CHAIN REACTION FOR THE DIAGNOSIS OF PASTEURILLOSIS OF CATTLE

G.D. Chužebaeva, S.e. Yermagambetova, R.m. Ryzhanova, B.M. Mustafin

Kostanai State University A. Baitursynov
Kazakh National Agrarian University
«Kostanai scientific-research veterinary station » branch LLP «Kazakh scientific and research veterinary Institute »

Designed primers for the gene 16S rRNA *Pasteurella multocida*, which have the following nucleotide sequence: PM 16SRNA-F TCTGAAGGATGACCAGCCACA (direct); Pm 16SRNA-R TTACGCCCAGTTATTCGATT (revers)

Designed primers are specific and meet all the requirements for designing primers. In developing the PCR for the diagnosis of pasteurellosis of cattle during experimental optimizations of the parameters of time and temperature for all stages of amplification defined modes PCR.

Keywords: primers, design, synthesis, optimization of PCR

ӘОЖ 619:.616.922.111.639

ПАРАТУБЕРКУЛЕЗДІҢ ҚОЗДЫРҒЫШЫН АНЫҚТАУҒА АРНАЛҒАН ТЕСТ-ЖҮЙЕСІ АРҚЫЛЫ ЖҮРГІЗІЛГЕН ПОЛИМЕРАЗДЫ ТІЗБЕКТЕУ РЕАКЦИЯСЫ (ПТР)

А.Қ. Шаймбетова

«Қазақ ғылыми - зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Түйін Мақалада паратуберкулездің қоздырғышын анықтауға арналған тест-жүйесі арқылы электрофоретикалық детекциямен жүргізілген ПТР нәтижесі келтірілген.

Кілттік сөздер: ПТР, денатурация, праймер

Тақырыптың өзектілігі ПТР – бұл экстракцияланған зерттелетін клиникалық сынамадан генетикалық материалды табуға мүмкіндік беретін, оның құрамында бөгде немесе өзгертілген генетикалық ақпараттың аумақтарының бар болуын анықтап, ДНҚ аумағының көшірмелерін алу үшін қолданылады [1].

Молекулярлық-генетикалық зерттеулердің базалық әдістерінің бірі болып балаулық сынамадан микобактерия ДНҚ-сын табуға бағытталған және жекелеген бактериялық бөліктерді табуға бейім – ПТР әдісі табылады (Т. Маниатис және т.б., 1984; М.М. Иванов және т.б., 1998; Л.Н. Черноусов және т.б., 2001; И.И. Корнев және т.б., 2004).

ПТР–ДНҚ фрагментін *in vitro* селективті амплификациялау (іс жүзіндегі клондау). Қазіргі кезде індеттік агенттерді табу әдісінің ең сезімтал әдістердің бірі бола отырып (А.Н. Маянский, 2000; К.Т. Момыналиев және т.б., 2000), ПТР мал ағзасына қоздырғыштың енуінің иммунологиялық жауабын қажет етпейді, сондықтан ол аурудың ерте сатысында анықтауға зор мүмкіндік береді [2].

Т.В. Гребенникова, В.В. Грабовецкий, С.Л. Кальнов, Е.А. Непоклонов [3] патологоанатомиялық, бактериологиялық, биологиялық және ПТР көмегімен 50 бас ірі қара малдың сойылып алынған материалын зерттеген. Мұнда ПТР қолданып 18 жағдайда, бактериологиялық әдіспен 20 жағдайда теріс нәтиже анықталды. ПТР қолданғанда 20 жағдайда, биологиялық сынамада 18 жағдайда, бактериологиялық әдіспен 15 жағдайда оң нәтижелер анықталды. Иегерлер аталған әдістің жоғарғы сезімталдығының биосынамадан төмен емес және балау қою мерзімінің 10-12 сағатқа дейін қысқартылуы, сондықтан бұл әдісті ветеринарияда қолданудың қажеттілігі туралы қорытындылады.

Осылайша, біз ғылым жетістіктеріне сүйене отырып, қазіргі ғалымдардың малдардың паратуберкулезін балаудың тиімді әдістер қатарын өңдей білгендеріне көзіміз жетіп отыр. Осыған қарамастан, диагностикалық зерттеудің кейбір сұрақтары толығымен анықталмаған, ендеше барлық жаңа зерттеулердің негізгі мақсаты - қазіргі кезде қолданылатын малдардың індетті ауруларын балаудың әдістерін жетілдіру және жаңа әдістерді іздестіру [4]. Туберкулезді балаудың көптеген жаңа әдістерінің жалпы кемшіліктері: оларды қолдану қымбатқа түседі, өңдеу құралының күрделілігі (соның ішінде ПТР, ИФТ үшін), реактивтерге (мысалы РИТ) қатаң талаптар. Осының бәрі ветеринарлық балау тәжірибесінде кең қолдануда кедергі жасайды. Зерттеу жұмысы «ҚазАгроИнновация» АҚ «ҚазҒЗВИ» бактериология бөлімінде «С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университетінің» ғылыми қызметкері – А.Х. Жумалиннің қатысуымен, паратуберкулездің қоздырғышын анықтауға арналған тест-жүйесін сынау мақсатында жүргізілді.

Зерттеу әдістері Микобактериядан ДНҚ бөліп алуды «GeneJET Genomic DNA Purification Kit» (Thermo Scientific) жинағының көмегімен жүргіздік. Негізгі фрагменттерді амплификациялау көлемі 30 мкл, соңғы қоймалжындығы 2,5mM иондар $MgCl_2$, 5M бетаин және 1Е.а. полимеразалар. Реакцияның амплификациясы 10 ng-матрицасымен, келесі бағдарламамен жүргізілді: алғашқы денатурация - 95°C – 4мин., циклдеу (30 цикл)– 95°C – 30 сек , 62°C – 1,5 мин, соңғы элонгация 72°C – 7мин.

ДНҚ фрагменттерінің негізгі амплифицирленген фрагменттерін талдау, сол сияқты бөлінген ДНҚ-ның сапалық талдауын агарозды геледе ДНҚ фрагменттерін бөлу әдісі арқылы жүргіздік. Жұмысты жүргізу барысында құрамында этидий бромиді бар 1 % агарозды гель, 1x TAE-буферлі электродты буфер қолданылды. Электрофорезді көлденең электрофорезді Scie-Plas камерасында және «Consort E832» тоқ көзін қолдана отырып, 200W қуаттылығында 20-25 минут жүргіздік. Алынған нәтижелерді құжаттандыруды Uilber Loumat геледі жүйелік құжаттандыру арқылы жүргіздік. Талданған ДНҚ сынамасының молекула өлшемін геледегі оның электрофоретикалық қозғалысын, молекулярлық салмағы белгілі маркердің ДНҚ фрагментінің

қозғалысымен салыстырмалы түрде анықтадық. Молекулярлық салмағы белгілі маркер ретінде "DNA Ladder 1kb", (Fermentas) қолдандық.

ДНҚ қоймалжыңдығын спектрофотометрикалық әдіс бойынша Флюориметр Qubit 2.0 көмегімен анықтадық.

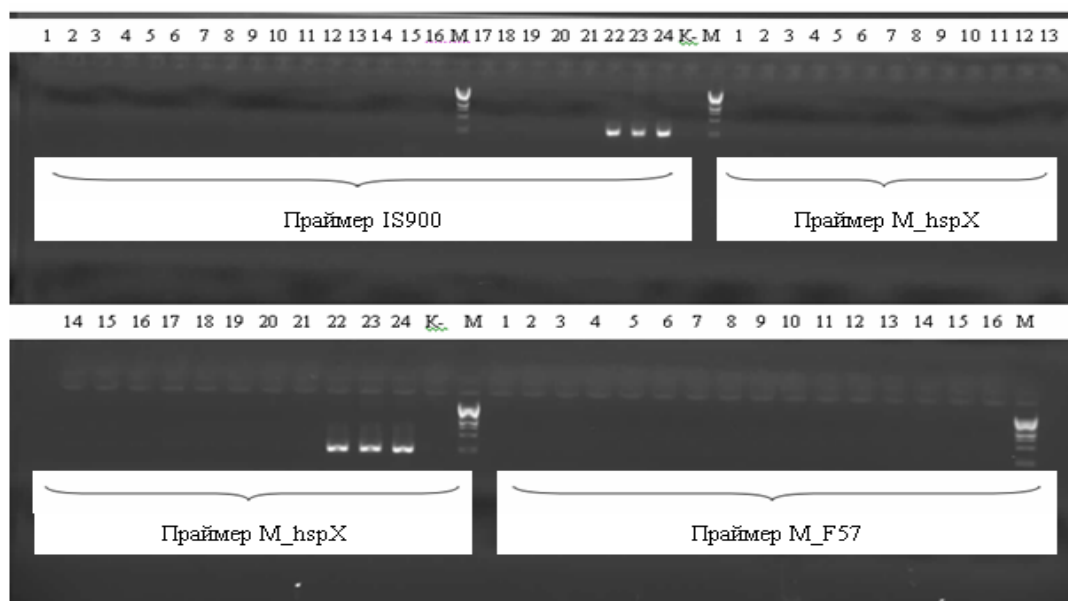
Зерттеу материалдары Зерттеу барысында Fermentas фирмасы ұсынған ферменттер: Maxima Hot Start *Taq* DNA Polymerase, *Taq* DNA Polymerase (recombinant), жинақ ішіндегі буферлі ерітінділері мен магний ионы ерітінділері қолданылды. M_IS900, M_hspX, M_F57 (2,5 мМ) праймерлері алынды. Зерттеуге бактериология бөлімнің зерттеулері барысында бөлініп алынған туберкулез қоздырғышының індеттік және музейлік штаммдары, барлығы - 24 сынама алынды. Бөлініп алынған ДНҚ сынамаларының қоймалжыңдығы төмендегі 1- кестеде келтірілді.

Кесте 1 - Туберкулез микобактерияларынан бөлініп алынған ДНҚ сынамаларының қоймалжыңдығы, нг/мкл

Сына- ма №	Коллекциялық номері	Штаммның атауы	ДНҚ қоймалжыңдығы, нг/мкл
	B-0199	Mycobacterium bovis 199	25,42
	B-0082	Mycobacterium bovis 82	37,18
	B-0428	Mycobacterium bovis 428	53,24
	B-0274	Mycobacterium bovis 274	42,9
	B-0034	Mycobacterium bovis 34	19,3
	B-284	Mycobacterium bovis 284	59,81
	B-139	Mycobacterium bovis 139	46,47
	B-176	Mycobacterium bovis 176	36,9
	B-0048	Mycobacterium bovis 8	18,46
	B-0022	Mycobacterium bovis 222	22,37
	B-0091	Mycobacterium bovis 91	28,37
	B-0555	Mycobacterium bovis 555	31,13
13)	B-051	Mycobacterium bovis 051	27,54
	B-0045	Mycobacterium tuberculosis	25,56
	B-0049	Mycobacterium avium 780	25,27
	B-0050	Mycobacterium avium	11,7
	B-0051	Mycobacterium avium «P»	12,29
	B-0052	Mycobacterium avium Берлин	48,78
	B-0057	Mycobacterium terrae	65,02
	B-0056	Mycobacterium scrofulaceum	54,61
		Mycobacterium kansasii	27,48
	DSM 44135	Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis	44
	DSM 44133	Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis	20
	ATTC BAA-968D-	Mycobacterium avium subsp.	23

5	Paratuberculosis
---	------------------

Электрофоретикалық детекцияның нәтижесі:



Сурет 1 - ПТР әдісімен 1 % агарозды гельде M_IS900, M_hspX, M_F57 праймерлерімен жүргізілген паратуберкулез қоздырғышының ДНҚ-ның электрофореграммалық детекциясы (1-24 – сынама №, М – маркердің молек. салмағы)

Зерттеу нәтижелері Паратуберкулездің қоздырғышын анықтауға арналған тест-жүйесі арқылы электрофоретикалық детекциямен жүргізілген ПТР нәтижесінде 2-кестеде келтірілген нәтижелер алынды.

Кесте 2 - M_IS900, M_hspX, M_F57 праймерлерімен жүргізілген ПТР нәтижелері

Сына- ма №	Коллекция- лық номері	Микобактерия штаммының атауы	ПТР нәтижелері		
			M_IS900	M_hspX	M_F57
	B-0199	Mycobacterium bovis 199	-	-	-
	B-0082	Mycobacterium bovis 82	-	-	-
	B-0428	Mycobacterium bovis 428	-	-	-
	B-0274	Mycobacterium bovis 274	-	-	-
	B-0034	Mycobacterium bovis 34	-	-	-
	B-284	Mycobacterium bovis 284	-	-	-
	B-139	Mycobacterium bovis 139	-	-	-
	B-176	Mycobacterium bovis 176	-	-	-
	B-0048	Mycobacterium bovis 8	-	-	-
	B-0022	Mycobacterium bovis 222	-	-	-

	B-0091	Mycobacterium bovis91	-	-	-
	B-0555	Mycobacterium bovis 555	-	-	-
	B-051	Mycobacterium bovis 051	-	-	-
	B-0045	Mycobacterium tuberculosis	-	-	-
	B-0049	Mycobacterium avium 780	-	-	-
	B-0050	Mycobacterium avium	-	-	-
	B-0051	Mycobacterium avium «P»	-	-	-
	B-0052	Mycobacterium avium Берлин	-	-	-
	B-0057	Mycobacterium terrae	-	-	-
	B-0056	Mycobacterium scrofulaceum	-	-	-
		Mycobacterium kansasii	-	-	-
	DSM 44135	Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis	+	+	+
	DSM 44133	Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis	+	+	+
	ATTC BAA-968D-5	Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis	+	+	+

Қорытынды Паратуберкулездің қоздырғышын анықтауға арналған тест-жүйесі арқылы электрофоретикалық детекциямен жүргізілген ПТР зертханалық жағдайда сәтті жүргізілді. ПТР нәтижесінде 22-ші, 23-ші және 24-ші штаммдардың сынамаларында амплифицирленген ДНҚ фрагменті 1100 н.ж. құраса, ал 1-ші штаммнан бастап 21-ші штаммға дейін және теріс бақылауда арнайы жолақ көрінбейді, бұл ПТР қою барысында контаминацияның жоқтығын көрсете отырып, қолданып отырған тест-жүйесінің тәнділігін дәлелдейді.

Әдебиеттер

1. Охапкина С.С., Акишев А.Г., Дегтярев С.Х. Полимеразно-цепная реакция (ПЦР) и ее применение. URL: // [http: www](http://www)
2. Першикова Н.Л. Полиморфизм ДНК микобактерий, вызывающих неспецифические туберкулиновые реакции у сельскохозяйственных животных: дисс. на соискан. уч. ст. канд. биол. наук. – Новосибирск.- 2008.- С. 19-20.
3. Гребенникова Т.В., Грабовецкий В.В., Кальнов С.Л., Непоклонов Е.А. Дифференциальная диагностика микобактерий методом полимеразной цепной реакции. // Ветеринария. – 1999. – №3. –С.17 – 20.
4. Коваленко А.М., Сапегин В.М., Шеховцов А.Ю. Способ идентификации микобактерий с помощью полимеразной цепной реакции. Патент России. № RU 2010 127 614 А.10.07.2012 Бюл. № 11.

Иегер туралы мағлұмат:

Шаймбетова А.Қ. – ветеринария ғылымдарының кандидаты, «Қазақ ҒЗВИ» ЖШС бактериология бөлімінің аға ғылыми қызметкері.

Резюме

ВЫЯВЛЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ ПАРАТУБЕРКУЛЕЗА МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ (ПЦР)

А.К. Шаймбетова

В статье приведены результаты электрофоретической детекции ПЦР продуктов возбудителя паратуберкулеза .

Ключевые слова: ПЦР, денатурация, праймер

Summary

THE POLIMERAZNY CHAIN REACTION (PCR) BY TEST SYSTEM FOR IDENTIFICATION OF THE GENETIC MATERIAL OF THE CAUSATIVE AGENT OF PARATUBERCULOSIS

A.K. Shaymbetova

Results of test system are given in article for identification of a genetic material of the causative agent of paratuberculosis by a method of polimerazny chain reaction with elektroforetichesky detection.

Keyword: PCR, denaturation, primer

ӘОЖ 619:616.992.28.:636

ЖАНУАРЛАР ТРИПАНОСОМОЗЫН АЛДЫН АЛУ

Б.Ә. Шалабаев, С.О. Қадыров

«Қазақ ғылыми - зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Түйін Мақалада жануарлар трипаносомозының таралуы және алдын алу шаралары, серологиялық жиынтықтың сезімталдылығы өзіне тәнділігі ұсынылған.

Кілттік сөздер: трипаносомоз, антиген, су-ауру

Өзектілігі Ауыл шаруашылығындағы нарықтық экономикалық өзгерістерге байланысты және меншігі әр түрлі жеке қожалықтардың пайда болуы, сонымен қатар нарықтық қатынастардың дамуына сәйкес республикамызда мал шаруашылығын жаңа технологиялық өзгерістер арқылы бәсекеге қабілетті жоғары сапалы азық – түлікпен қамтамасыз ету алға қойылған өзекті мәселелердің бірі.

Мал шаруашылық өнімдерінің көбеюіне қысқа уақытта қол жеткізу үшін мемлекетіміз көптеген қаражат шығаруда. Қазақстанның ұлан байтақ жерінде ертеден келе жатқан ата бабаларымыздың негізгі кәсібі мал шаруашылығы болғанымен соның ішінде жылқы шаруашылығының алатын орны ерекше, олардан алынатын өнімдерді жаңа технология негізінде даярлау қазіргі кездегі басты мақсат болып отыр.

Жылқыдан алынатын өнімдер өте құнды және шипалық қасиеті жоғары болғандықтан Батыс Еуропа мемлекеттері елімізде өндірілетін экологиялық жағынан таза, адам денсаулығына пайдалы қымыз, ет, қазы – қарта және басқа да тағамдарға қызығушылық білдіруде.

Дүние жүзілік денсаулық сақтау ұйымы (ДЖДСҰ) қарапайымдылар тобына жататын трипаносомоз қоздырғыштарына үлкен көңіл аударып, онымен күресу үшін Халықаралық эпидемиологиялық бюро (ХЭБ) дайындаған аурулардың тізіміне қосып арнайы бағдарлама жасалған. Трипаносомоздан келетін шығын өте көп [1].

Протозооздар жер шарында кең таралған. ДЖДСҰ протозооздардың ішінде трипаносомоздарға үлкен алаңдаушылық білдіріп, аурулар мен күрес шаралары үшін арнайы қабылданған бағдарламаға енгізілген. Латын Америкасында шоғырланған үнді халықтарының арасында трипаносомоз қоздырғыштары тудыратын Чагас ауруы 20%-ды қамтиды. Чагас ауруын емдеу және алдын алу шаралары үшін үлкен қаражат жұмсауда, жоғарыдағы ұйымның мәліметтері бойынша, кейбір мемлекеттердің тұрғындары трипаносомоз ауруының салдарынан мал шаруашылығында 750 млн. доллар шығынға батады.

Халықаралық індетті бақылау бюросының мәліметтері бойынша трипаносомоз індетімен таза емес аймақтарға Ботсвана, Лесота, Намибия, ЮАР, Эфиопия, Китай, Иран, Пәкістан, Қырғызстан және Өзбекстан кіргізілген. Осы аталған мемлекеттерден жылқы сатып алынған жағдайда міндетті түрде аталмыш ауруға серологиялық тест жасалады [2, 3].

Жылқы трипаносомозы Ресейдің мына аймақтарында жие тіркелген Алтайда, Башқұртстанда, Бурятияда, Новосибирскіде, Омскіде, Қарачай-Черкесте, Читада, Краснодарда, Иркутскі және Челябинскі облыстарының жылқы шаруашылықтарында анықталған.

Микроорганизмдер тізбегінің арасында ерекше орын алатын өсінділер қатарына қарапайымдылар-протозоалар жатады. Олар жануарлар мен адамдардың ауруын тудыратын қоздырғыштар болғандықтан үлкен маңызды мәселені қамтиды. Қарапайымдылар штамдарынан – ғылыми зерттеу жұмыстарының нәтижесінде биологиялық препараттар жасалып, әртүрлі инвазиялық аурулардан адамзатты сақтау үшін тәжірибелік маңызы бар Ұлттық мемлекеттік қор болып саналады. Қарапайымдылардан туындайтын аурулардың зардаптылығы және аурудың кеңінен таралуы қазіргі таңда күрделі жаһандық мәселе болып отыр.

Трипаносомоз – созылмалы контагиозды тақ тұяқты жануарлардың ауруы, қоздырушысы *Trypanosoma equiperdum*, аталмыш індетпен (жылқы, есек, мул және қашыр-будан) ауырады. Клиникалық белгілері жүйке жүйесі мен жыныс мүшелері зақымдалады.

Ресейде трипаносомоз індетін анықтау мақсатында көптеген ғылыми ізденстер жүргізіліп зерттеулер жасалған, серологиялық балаулық тесттер есебінде КБР, КҰБР, ИФТ және РНГА қолданылады [4, 5].

Республикамызда жылқы басының өсу деңгейі жыл сайын артып келеді. Бірақ жылқы шаруашылығының қарқынды көтерілуіне кедергі болатын және елеулі экономикалық шығын келтіретін жұқпалы паразиттік ауру жануарлар трипаносомозы. Айғырларда ұрық беру қабілеті төмендеп бедеулік дамиды, клиникалық белгілеріне келсек ұмасы ісінеді, еріні бір жағына қисайып, құлағы салбырап түсіп кетеді, биелерден өте әлсіз құлын туылады немесе 2-3 айлығында түсік тастайды, аурудың соңғы сатысында мал қатты арықтайды және де артқы аяқ бөлігі белінен бастап салданып, артқы аяқтары ұстап тұра алмай ит тәрізді отырыс болады, ақыры өлім – жітімге ұшыртады. Шет елдерде бұл ауруға оң нәтиже берген жылқыларға емдік шаралар жүргізбейді, жарамсыз деп есептеледі.

Материалдар мен зерттеу әдістері Жылқы өнімінің импорты мен экспорты ұлғайып, асыл тұқымды жылқылардың құндылығы артқан нарықтық уақытта, осы ауруға қарсы арнайы тиімді емдік дәрмектер және алдын-алу шараларының тиімді әдістері жоқ деп айтсақта болады. Жылқының трипаносомозының жасырын түрінде өтуіне байланысты қазіргі кезде қолданылатын оңтайлы алдын алу әдістерін табу өзекті мәселелердің бірі болып отыр. Алайда бұл паразитарлық аурудың алдын алу үшін көптеген мал дәрігерлік іс шараларды уақытылы жүргізу қажет. Жануарлар трипаносомозын серологиялық жолмен анықтау мақсатында көптеген ғылыми – зерттеу жұмыстары жүргізілді, «ҚазҒЗВИ» дың паразитология зертханасында сезімталдығы мен өзіне тәнділігі жоғары серологиялық жиынтық дайындалды. Бұл жиынтық пен ауру малдың клиникалық белгілері пайда болмай тұрып 3-5 ай бұрын анықтауға мүмкіншілік бар, себебі жануарлар трипаносомозының жасырын кезеңдік сатысы ұзақ 1 – 5 айға дейін созылады. Бұл антигендік

жиынтық арнайы зертханалық атжалмандардан бөлініп алынған. Балаулық жиынтықтың нормативтік техникалық құжаттары толық дайындалып ҚР АШМ қарасты ветеринариялық бақылау және қадағалау комитетімен келісіліп бекітілген және «Қазақстан Республикасындағы ветеринарлық препараттардың мемлекеттік тіркеуін жүргізу қағидаларына» сәйкес № ҚР-ВП-2-2562-14 Тіркеу куәлігі берілді 24.01.2014 ж.

Қорытынды «ҚазВҒЗИ» - да дайындалған жануарлар трипаносомозы антигендік балаулық жиынтығымен комплементті байланыстыру реакциясы (КБР) немесе комплементті ұзақ байланыстыру реакциясында (КҰБР) тексеруге болады. Жылқыларды күйікке салар алдында айғыр мен биені жылына 2-рет міндетті түрде серологиялық тексерістен өткізу қажет және шаруашылықтан бір бас жылқы трипаносомоз індетіне оң нәтиже берген жағдайда, сол шаруашылықтағы жылқыларды тегіс серологиялық тексерістен өткізсе індеттің одан әрі таралмауына тосқауыл қоюға болады. Болашақта осы ұсынылған серологиялық жиынтықпен еліміздегі жылқы шаруашылықтарын тегіс тексерістен өткізсек жылқы трипаносомоз індетінен және түйелер ауыратын су-ауруды толық тоқтатуға болады.

Әдебиеттер

1. Иммунология и паразитарные болезни / докл. Комит. эксп. ВОЗ. Ибадан, 8-15.12.1964, Женева, 1966.
2. Петровский В.В., Малышев С.Н. Морфологические свойства резистентных к сурамину рас *T. evansi*. / Тез. докл. Самарканд, 1983, с.58.
3. Коляков Я.Е. / Ветеринарная иммунология, М., 1986, с.22.
4. Георгиу Х. Испытание новых методов серологической диагностики трипаносомозов лошадей // Тр. ВИЭВ. М. – 2010. – Т.76. – С.154 – 159.
5. Заболоцкий В.Т., Георгиу Х., Казаков Н.А., Белименко В.В., Скворцов В.Н., Ткаченко Ю.Г., Минасян В.Г. Усовершенствование методов диагностики терапии и профилактики бабезиоза собак, трипаносомоза лошадей и анаплазмоза рогатого скота // Тр. ВИЭВ. М. – 2010. – Т.76. – С.166 – 171.

Иегерлер туралы мағлұмат:

Шалабаев Болат Әбуұлы – ветеринария ғылымдарының кандидаты, паразитология зертханасының аға ғылыми қызметкері

Кадыров Серикбай Оразбайұлы – биология ғылымдарының кандидаты, паразитология зертханасының аға ғылыми қызметкері

Резюме

ПРОФИЛАКТИКА ТРИПАНОСОМОЗА ЖИВОТНЫХ

Б.А. Шалабаев, С.О. Кадыров

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

В статье приведены данные о распространении и профилактике трипаносомоза животных, чувствительности и специфичности серологического набора.

Ключевые слова: трипаносомоз, антиген, су-ауру

Summary

B.A. Shalabaev., S.O.Kadyrov

PROPHILACTICUS TRIPANOSOMOSE ANIMALS

LLP «Kazakh scientific-veterinary institute»

This scientific article is about sensibility serological test of diagnostic for trypanosomose of horse breeding farms

Keywords: trypanosome, antigen, su-auru

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

УДК: 606:636.52/.58

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ЧИСТЯЩИХ ПРОБИОТИКОВ ПРИ СОДЕРЖАНИИ ЦЫПЛЯТ БРОЙЛЕРОВ

А. И. Айтжанова, А.Н. Жумакаева, А.М. Садыков

ТОО «Astana Bioscience Business Centre»

Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина

Резюме Использование пробиотических микроорганизмов в животноводстве является альтернативой антибиотикам. Химические дезинфицирующие средства, а это в большей или меньшей степени токсические препараты, способны оказывать неблагоприятное воздействие

на людей и птицу, поэтому нужно применять только сертифицированные пробиотики, использование которых направлено на восстановление кишечного биоценоза путем введения в желудочно-кишечный тракт живых бактерий с водой или кормом. Вытесняя из кишечника патогенную микрофлору, они не влияют на представителей нормальной кишечной микрофлоры и способствуют нормализации пищеварения.

Ключевые слова: антибиотики, пробиотики, химические дезинфицирующие средства, ЖКТ, корма, кишечная микрофлора

Введение Современная технология выращивания бройлеров - это сложная биотехнологическая система, где главными являются: среда обитания - человек - животное. Поэтому важнейшая задача состоит в том, чтобы с помощью новых физических, биологических средств и технических приемов получить от животных максимальную продуктивность. Оптимизация условий содержания позволит получить от них максимальную продуктивность, повысить их устойчивость к действию внешних факторов и сохранность. В этой связи проблема выращивания высокопродуктивных животных остается весьма актуальной. При клеточном содержании животные зачастую лишены активного движения и солнечного освещения, что отрицательно влияет на физиологическое состояние организма. Обусловлено это, прежде всего, недостаточной физиологической зрелостью центральной нервной системы, то есть отсутствием у них дифференцированных реакций на раздражители [1].

При этом возникает необходимость активного воздействия на организм животных соответствующими физическими и биологическими факторами, максимально приближенными к естественным [2].

Одной из важных проблем в птицеводстве является повышение продуктивности птиц и качества получаемой продукции для обеспечения потребностей населения продуктами питания, а также реализация продуктов по экспорту высокой пищевой и биологической ценности. Кроме того, немаловажной, общебиологической задачей является повышение естественных (неспецифических) защитных сил организма к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды [3].

В современных условиях ведению птицеводства уделяется большое внимание максимальному сохранению полученного молодняка и повышению его продуктивности. Высокая концентрация поголовья на ограниченных площадях, круглогодичное пребывание птицы в закрытых помещениях с клеточным содержанием приводит к нарушению микроклимата птичников, ослаблению конституции и здоровья птицы. Это сопровождается понижением физиологической реактивности и естественной резистентности организма, нарушением обмена веществ, снижением продуктивности и сохранности, повышением агрессивности и выработкой гормона стресса, оказывающих негативное влияние на организм, особенно молодняка птицы.

За последнее десятилетие мировая и отечественная птицеводческая промышленность уделяет серьезное внимание обеспечению экологической чистоты и безопасности продукции. Это четко проявилось в отказе от использования в птицеводстве антибиотиков - стимуляторов роста в странах Европейского Союза [2,3].

Альтернативой антибиотикам в животноводстве является использование пробиотических микроорганизмов. Начиная с Фуллера, который в 1989 году определил пробиотики как живую микробную кормовую добавку, которая благотворно влияет на хозяина путем улучшения его кишечного микробного баланса. Тем не менее, в соответствии с принятым в настоящее время определением, продовольственной и сельскохозяйственной организации и Всемирной организации здравоохранения, пробиотиками являются: живые микроорганизмы, которые при введении в достаточных количествах приносят пользу для здоровья [3,4].

Результатом многолетнего бесконтрольного применения кормовых антибиотиков в промышленном птицеводстве стало широкое распространение желудочно-кишечных заболеваний, которые занимают второе место после вирусных и являются основной причиной гибели молодняка в птицеводческих хозяйствах Казахстана. Эти и другие обстоятельства привели к необходимости разработки нового поколения безопасных и эффективных препаратов, направленных на коррекцию кишечного биоценоза и повышение колонизационной резистентности слизистой кишечника. Мировой опыт свидетельствует, что в решении этих проблем все большее значение приобретает заместительная терапия, направленная на восстановление кишечного биоценоза путем введения в желудочно-кишечный тракт живых бактерий с водой или кормом. Вытесняя из кишечника патогенную микрофлору, они не влияют на представителей нормальной кишечной микрофлоры и способствуют нормализации пищеварения. Препараты, в состав которых входят такие бактерии, получили название пробиотики. К ним относятся пробиотики, созданные на основе спорообразующих и молочнокислых бактерий [1,2].

Как отмечают эксперты Всемирной организации здравоохранения, более 50% заболеваний человека вызывают микроорганизмы. Это можно отнести и к птице. Последние годы характеризуются как беспрецедентным ростом новых инфекций, так и активизацией старых, хорошо изученных форм инфекционной патологии. Поэтому спектр инфекционных болезней постоянно пополняется как за счет ранее не известных (энтерогеморрагические эшерихиозы, орнитобактериоз, кампилобактериоз), так и за счет этиологически расшифрованных, считавшихся раньше неинфекционными (гепатиты, нефриты, энтериты) [4].

В последние годы по ряду причин возрастает роль условно патогенных возбудителей, особенно у только что вылупившихся цыплят с различными

иммунодефицитами и токсическим желточным содержимым яиц от родителей, получавших корм с микотоксинами и другими ядовитыми веществами. В связи с этим важная роль принадлежит микроорганизмам, которые постоянно присутствуют при размножении и выращивании птицы на всех этапах производства яиц и мяса [4,5].

В дыхательных путях больше всего микробов находится в передних участках, дальше вглубь - меньше, а после бифуркации трахеи - совсем мало.

При плохой вентиляции количество микроорганизмов в птичнике увеличивается, и это ведет к повреждению мерцательного эпителия дыхательных путей и развитию воспалительных процессов у цыплят.

При рините, трахеите, бронхите, пневмонии выделяются гноеродные стрептококки, пневмококки и пр. При ослаблении резистентности организма эти комменсалы выступают как патогенные агенты[5].

Пищеварительный тракт у вылупившегося цыпленка стерилен, но уже в первые часы кишечник заселяет микрофлора, которая находится на скорлупе яиц и в воздухе инкубационного выводного шкафа, - в первую очередь кишечная палочка, постоянная составная часть микробного пейзажа кишечника на протяжении всей жизни птицы. Микробный пейзаж зависит от микрофлоры корма и его химического состава. При углеводистых кормах увеличивается количество кислотообразующих сахаролитических бактерий, что весьма полезно для организма. Очень желательно заселение кишечника ацидофильными бактериями. Применение антибиотиков с кормом и водой ведет к изменению состава микрофлоры кишечника и иногда к дисбактериозу.

В железистом и мышечном желудках крайне мало микрофлоры из-за наличия желудочного сока, который препятствует ее размножению. Двенадцатиперстная кишка очень бедна микрофлорой из-за наличия желчи, но в небольшом количестве выделяются кишечная палочка, энтерококки и споровые бактерии (клостридии и пр.).

Тонкий отдел кишечника заселен кишечной палочкой, энтерококками, споровыми почвенными бактериями.

Эти же микробы, но в очень больших количествах, присутствуют в толстом отделе кишечника и прямой кишке. Там протекают сложнейшие микробиологические процессы, связанные с расщеплением питательных веществ.

Микрофлора кишечника подразделяется на постоянную (облигатную), типичную для него (кишечная палочка, энтерококки, клостридии и пр.), и на непостоянную (факультативную) в зависимости от микрофлоры корма. На видовой состав влияет возраст птицы. У клинически здоровой птицы наряду с нормальной микрофлорой могут присутствовать патогенные микроорганизмы.

В результате нарушения нормальной микробной ассоциации в пищеварительном тракте развиваются гастроэнтериты, энтериты, из-за чего

происходят острые или хронические интоксикации ядовитыми веществами микробного происхождения и вредными продуктами расщепления кормовых веществ [4,5].

В воде обычно присутствуют сапрофиты, в основном кокки, а в загрязненной - кишечная палочка; могут быть и патогенные микроорганизмы. Если в 1 мл воды более 1 тыс. колоний микробов, ее нельзя давать птице. Для нее качество питьевой воды так же важно, как и для человека. Если вода долго стоит в помещении при высокой температуре (что обычно и происходит при выращивании цыплят), численность бактерий в ней быстро увеличивается и соответственно возрастает риск возникновения инфекций у птицы. Поэтому очень важно выполнять рекомендации по поддержанию гигиены воды, это основа в работе по профилактике заболеваний

Поверхность зерна и растений обильно покрыта микробами, перенесенными из пыли, осадков, с насекомых, грызунов, птиц и животных.

В основном это сапрофиты: травяная палочка, бактерии группы колиаэрогенес, молочнокислые стрептококки, сенная и картофельная палочки, гнилостные бактерии, протей, сарцины, пигментные кокки, актиномицеты, грибы и дрожжи. Для живого растения эпифитная микрофлора безвредна, но она вызывает гнилостное разложение, потерю питательных веществ и порчу корма. Скармливание такого продукта вызывает заболевание птицы. Количество бактерий в 1 г доходит до миллионов, однако высокая обсемененность без учета качественного состава микрофлоры не решает вопрос о непригодности корма к скармливанию. Например, наличие большого числа молочнокислых кокков и палочек оказывает положительное влияние на организм птицы, и наоборот, обсеменение бактериями группы кишечной палочки или анаэробными бациллами ввиду их потенциальной патогенности, а также в силу их гнилостных и бродильных свойств учитывается как неблагоприятный санитарный показатель [5,6].

Для оценки продукта на пригодность к скармливанию следует определять титр бактерий коли, сальмонелл, клостридий, а из грибов - аспергиллус фумигатус, фузариум, спорынью.

Обнаружение в корме возбудителей различных инфекционных заболеваний при микробиологическом анализе представляет собой весьма сложную задачу.

Обсуждение Единственно верный и эффективный способ предотвращения горизонтального распространения заболеваний, связанных с микрофлорой тела птицы и внешней среды, проведение тщательной дезинфекции помещений перед посадкой птицы и в ее присутствии, инкубационных яиц перед инкубацией и во время нее с применением дезинфектантов широкого спектра действия, обладающих высокой дезинфицирующей активностью на микроорганизмы, а также своевременное

проведение пробиотикотерапии для ликвидации микробов в организме птицы[6].

Сегодняшний рынок переполнен различными дезинфицирующими средствами. Химические дезинфицирующие средства, а это в большей или меньшей степени токсические препараты, способны оказывать неблагоприятное воздействие на людей и птицу, поэтому нужно применять только сертифицированные пробиотики, использование которых направлено на восстановление кишечного биоценоза путем введения в желудочно-кишечный тракт живых бактерий с водой или кормом. Вытесняя из кишечника патогенную микрофлору, они не влияют на представителей нормальной кишечной микрофлоры и способствуют нормализации пищеварения.

Литература

1. Мингалей В.А. Динамика интенсивности роста цыплят-бройлеров при использовании в рационах пасечной мервы: сб. науч. трудов / В.А. Мингалей // Актуальные проблемы производства и переработки продуктов животноводства. – Уфа, 2000. - 189 с.
2. Фисинин В.И. Птицеводство России – стратегия инновационного развития / В.И. Фисинин. – М., 2009. - 147 с.
3. С.М. Фархутдинов Р.Р. Гадиев // Препарат Бетулин при выращивании цыплят-бройлеров. – ФГБОУ ВПО Башкирский ГАУ. – 234с.
4. В. В. Субботин, Н.В. Данилевская // Опыт применения пробиотика Лактобифадол в различных отраслях животноводства и птицеводстве. – Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И.Скрябина. – М., 2009. – С. 40 - 41.
5. А. Н. Швыдков [и др.] // Использование пробиотиков в бройлерном птицеводстве. – С. 40 – 47.
6. Л. В. Куликов, Л. Ф. Самойлова, А. А. Смирнова // Выращивание цыплят-бройлеров с использованием в кормосмесях премиксов на основе сапропеля. – С. 48 - 58.

Түйін

БРОЙЛЕР БАЛАПАНДАРДЫ БАҚҚАНДА ТАЗАЛАҒЫШ ПРОБИОТИКТЕРДІ ҚОЛДАНУДЫҢ ТИІМДІЛІГІ

А. И. Айтжанова, А.Н. Жумакаева, А.М. Садыков

ЖШС «Astana Bioscience Business Centre»
С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті

Антибиотиктерге балама болған мал шаруашылығындағы пробиотикалық микроағзаларды қолдану болып табылады. Химиялық дезинфекциялық препараттар- не бары кіші дәрежеде болсада улағыш зат болып табылады, адам мен құстарға өз зиянын келтіреді. Сондықтанда тек сертифицирленген пробиотикалық препараттарды қолдану керек, ішек биобірлестігін қайта орнатуына асқазан ішекті тракт жолы арқылы сумен және жемтік арқылы жеткізу. Патогенді микрофлораны ішектен шығарған кезде, олар қалыпты ішек микрофлорасына зиян келтірмей оның қайта дұрыс істуіне ықпал болады

Кілттік сөздер: антибиотиктер, пробиотиктер, химиялық тазартқыш заттар, асқазан ішек тракты, жемтік, ішек микрофлорасы

Summary

EFFECTIVENESS OF CLEANING THE CONTENT PROBIOTICS IN BROILERS

A.I. Aitzhanova, A.N. Zhumakaeva, A.M. Sadykov

LPP «Astana Bioscience Business Centre»
Kazakh Agro Technical University S. Seyfullin

An alternative approach is to antibiotics in livestock use of probiotic microorganisms. Chemical disinfectants - and this is more or less toxic drugs - can have adverse effects on humans and birds , so you need to use only certified probiotic preparations , the use of which aimed at restoring intestinal biocenosis by introducing into the gastrointestinal tract of living bacteria with water or feed. Displacing intestinal pathogens , they do not affect the representatives of the normal intestinal flora and help to normalize digestion.

Keywords: antibiotics, probiotics, himichiskie disinfectants, gastrointestinal tract, feed, intestinal microflora

УДК 575.22

АНАЛИЗ ТРАНСГЕННЫХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР ПО МЕЖДУНАРОДНЫМ БАЗАМ ДАННЫХ II. СОЯ

С.К. Коканов, Т. Ж. Кобжасаров, Б.М. Мустафин

Костанайский государственный университет им. А. Байтурсынова

«Костанайская научно – исследовательская ветеринарная станция» филиал
ТОО «КазНИВИ»

Резюме В статье приведен обзор данных по генетически модифицированным линиям сои на основе анализа международных баз данных.

Ключевые слова: соя, генетические модификации, трансгенные линии

Соя является одной из самых ценных сельскохозяйственных культур во многих странах мира и по объему выращивания занимает второе место после кукурузы. В ее зерне содержится около 35% белка, более 20% жира, 30% углеводов, 5-6% различных минеральных элементов. Белок сои по качеству наиболее близок к животным белкам, поэтому в настоящее время он рассматривается в качестве наиболее высококачественного и дешевого решения проблемы белкового дефицита в мире. Кроме того, соя используется для производства масла, отличающегося высокой биологической ценностью. В мире около 30% растительного масла производится из сои [1, 2, 3, 4].

Соя, будучи бобовой культурой, обогащает почву азотом, улучшает ее структуру. При благоприятных условиях может накапливать в почве до 320 кг/га биологического азота (в среднем 50-80 кг/га). Азот сои, в отличие от азота минеральных удобрений, не загрязняет окружающую среду, легко усваивается другими растениями. Возделывание сои позволяет резко снизить затраты на постоянно возрастающие в цене минеральные азотные удобрения. Поэтому соя - ценнейший предшественник для многих сельскохозяйственных культур.

Особенно широкое применение она находит в странах с развитым животноводством как источник балансирования кормов по содержанию белка и его аминокислотному составу.

Увеличение производства сои в мировом масштабе не наносит ущерба окружающей среде, и в то же время ее использование позволяет эффективно решать две основные проблемы человечества: продовольственную и энергетическую. Современные технологии позволяют с высокой эффективностью перерабатывать соевое масло в полноценное и высокоэкологичное дизельное топливо. Ежегодно в странах Евросоюза производится и продается свыше 200 тысяч тонн биотоплива из соевого масла.

С появлением и развитием технологий глубокой переработки зерна сои эта культура всё шире применяется и для производства разнообразных продуктов питания. Без соевых пищевых ингредиентов, таких как изоляты, концентраты, текстураты, соевая мука, лецитин, трудно представить большинство технологий в мясоперерабатывающей и кондитерской промышленности, выпуск ряда продуктов в молочной, хлебобулочной, рыбоперерабатывающей и других отраслях [1, 2].

Помимо разнообразных пищевых ингредиентов, промышленность глубокой переработки сои в последние годы освоила выпуск биологически активных веществ, прежде всего изофлавоидных комплексов. Содержащиеся в соевом масле липиды и лецитин также используются для выработки пищевых ингредиентов "тонкой настройки", а также при производстве биологически активных добавок [5, 6].

Мировое производство сои увеличивается очень высокими темпами. За последние 30 лет оно возросло более чем на 400%. В настоящее время самые большие посевные площади сои находятся в США (около 35-40% от мировых), при этом ежегодный экспорт из этой страны составляет до 29 млн. тонн, в Бразилии производится около 20% всех мировых посевных площадей сои, вывозится из страны около 16 млн. тонн, в Аргентине – 12% и 7,6 млн. тонн соответственно. В Китае сосредоточено 12-13% и Индии 8% мировых запасов данной сельскохозяйственной культуры. В Европе выращивается около 2% от общей площади мировых посевов сои [2, 3].

С каждым годом наблюдается тенденция к росту физического объема производимой сои. Мировой объем производства сои в 2009/10 году составил около 246 млн. тонн, что больше на 16,5% в сравнении с 2008/09 годом. При этом общий урожай всех масличных культур в текущем сезоне - 425 млн. тонн (395 млн. тонн в сезоне 2008/09 г). По мнению экспертов [4, 5, 6] ожидается, что доля сои в мировом урожае масличных культур вырастет до 57%.

Экономическое значение, пищевая и кормовая ценность сои общеизвестны. Производство и переработка сои – один из наиболее активно и динамично развивающихся секторов международной экономики. Практически все транснациональные компании, серьезно обратившиеся к операциям с соевыми продуктами, добились огромного успеха. Соя как культура рентабельна даже при урожае 5 ц/га, а на сегодняшний день ее урожайность составляет 20-25 ц/га. Себестоимость белков сои по сырью в 27 раз ниже по сравнению с белками животного происхождения. По данным маркетингового исследования рынка сои, опубликованного на портале www.bsmarket.ru, в отраслях, связанных с производством и переработкой сои, ежегодно образуется около 70 млрд. долларов США вновь созданной стоимости, дополнительно 20 млрд. долларов составляет добавленная стоимость, которая создается за счет использования соевых продуктов в сторонних отраслях (кормовые ингредиенты, пищевые добавки и т.д.). Получается, что вклад сои в чистый мировой продукт составляет около 90 млрд. долларов США, и товарный эквивалент этой стоимости в увеличивающемся масштабе воспроизводится ежегодно. Из всех остальных продуктов, которые используются в экономике, по объему вновь созданной стоимости выше сои стоят лишь нефть и рудные полезные ископаемые. Так, стоимость всей добываемой в мире нефти без учета нефтепереработки составляет 350-400 млрд. долларов – но даже на фоне этой

гигантской цифры 90 млрд. долларов со стороны сои смотрятся более чем убедительно. При этом стоит заметить, что нефть, руды и т.п. - невозобновляемые ресурсы. Соя же является возобновляемым и совершенно неантагонистичным в процессе своего производства биологическим сырьевым ресурсом.

По предварительным данным в 2009 г. сборы соя-бобов в России выросли на 26% к 2008 г. и составили 940 тыс. т, что является рекордным показателем. Увеличение сборов произошло как за счет расширения посевных площадей на фоне высокой рентабельности культуры, так и за счет роста урожайности. На фоне роста российского животноводства и комбикормовой промышленности, по оценке экспертов компании «СовЭкон» (<http://www.sovecon.ru>), тенденция к увеличению сборов сои сохранится и в пятилетней перспективе ожидается его удвоение. Несмотря на это, импорт сои и продуктов ее переработки по-прежнему играет значительную роль в формировании соответствующего баланса спроса и предложения [6].

На Украине урожай сои в 2009 году составил 1 млн. тонн, культура была убрана с площади 628 тыс. га, урожайность составила 16,3 ц/га [7, 8].

Согласно аналитических данных АО «Национальный управляющий холдинг Каз-Агро», Казахстан выращивает сою на 53 тысячах га, что составляет 6,3% в структуре посевных площадей всех масличных культур, основной зоной посева является Алматинская область. Валовой сбор зерна, при урожайности 17,5 ц/га, в 2009 г. составил 94,3 тыс. тонн, из них на экспорт было отправлено 3,9 тыс. тонн.

В Казахстане главные потребители сои – птицефабрики, испытывающие острую нехватку этого продукта, и в настоящий момент в больших объемах импортирующие его из других стран. Потребность только в соевом шроте птицефабрик Казахстана, по данным Евразийской Ассоциации сои и кукурузы, в скором будущем составит 515 тыс. тонн в год. В то же время в нашей стране валовые сборы сои едва достигают 100 тыс. тонн [9].

В настоящее время в рамках Таможенного союза России, Казахстана и Белоруссии спрос на соевые бобы и шрот составляет около 5 млн. тонн. При этом собственное производство сои покрывает менее 20% всей потребности. Следовательно, большую долю рынка занимает импортная соя, в основном генетически модифицированная.

Одной из самых первых и наиболее широко распространенных генетических модификаций сои является линия GTS 40-3-2, которая была разработана для приобретения устойчивости к глифосату – активному ингредиенту гербицида Раундап®, широко используемому для борьбы с сорняками сои. Данная линия содержит ген CP4 EPSPS, выделенный из почвенной бактерии *Agrobacterium tumefaciens*, который кодирует синтез

глифосат-толерантного фермента 5-enolpyruvylshikimate-3-фосфат-синтазы (EPSPS).

В обычных условиях фермент EPSPS участвует в синтезе растениями необходимых ароматических аминокислот и других органических соединений. При обработке растений раундапом глифосфат ингибирует выработку фермента EPSPS и синтез необходимых для выживания ароматических аминокислот прекращается. По этой причине глифосат содержащие гербициды являются весьма эффективными в отношении подавляющего большинства однолетних и многолетних трав и широколиственных сорняков [10].

Наличие фермента EPSPS характерно для всех растений, бактерий, грибов, но в организме животных, птиц и рыб он не синтезируется, поэтому глифосат не токсичен для этих организмов.

С момента разработки, успешного испытания и внедрения ГМ сои GTS 40-3-2 признак устойчивости к глифосату, характерный для линии, был введен во многие коммерческие сорта и линии сои. В 2007 году площадь, занимаемая глифосат-толерантными линиями данной культуры, составила порядка 50 млн. га, что позволило значительно сократить применение химических гербицидов.

Анализ более шести поколений данной линии сои методами иммуноблоттинга и ИФА подтвердил генетическую стабильность CP4 EPSPS, кодирующего полипептидную последовательность из 456 аминокислот (46 кДа). Саузерн-блот-анализ геномной ДНК из GTS 40-3-2 показал, что существуют два участка интеграции: один сайт, содержащий функциональные копии гена CP4 EPSPS и второй сайт, содержащий нефункциональный сегмент данного гена. При этом сравнение аминокислотной последовательности белка CP4 EPSPS не выявило гомологии с известными аллергенами. Кроме того, потенциал аллергенности оценивали на основе характеристик известных аллергенов пищи (устойчивость к пищеварению, устойчивость к обработке). В отличие от известных аллергенов белка, CP4 EPSPS быстро деградировал в кислотах и в желудочном соке.

Полевые испытания линии GTS 40-3-2 были успешно проведены в США (1991-1993), Канаде (1992), Пуэрто-Рико (1993), Аргентине и Коста-Рике. Агрономические исследования позволили сделать вывод, что данная линия обладает высокой урожайностью, хорошей всхожестью семян. Скрещивание с культурными сортами сои не приводило к генной интрогрессии и образованию новых гибридных линий. Исследователями был сделан вывод, что потенциал передачи признака устойчивости к глифосату от трансгенных линий сои другим сортам через поток генов был незначительным в регулируемых экосистемах. Полевые наблюдения линии GTS 40-3-2 не выявили отрицательного влияния на non-target организмы (не являющиеся объектами действия гербицида), т.е. относительно высокие уровни белка в трансгенных тканях растений оказались не токсичными для полезных организмов.

Проведен ряд исследований на животных (крысы, молочные коровы, куры, перепела, сом), в рацион которых были включены семена и шрот из трансгенной сои. Результаты показали отсутствие токсичности и аллергенности линии GTS 40-3-2. Кроме того, проведен острый опыт с пероральным введением очищенной CP4 EPSPS мышам в дозе 572 мг/кг массы тела, что приблизительно в 1300 раз выше ожидаемого токсичного потенциала, который не привел к видимым последствиям в поведении и не отразился на здоровье испытуемых животных.

Линия сои MON89788 также имеет устойчивость к глифосату, в своем составе имеет тот же мутантный ген CP4 EPSPS. Полевые испытания проведены в США в 2005 году. Тщательно оценивались фенотипические, агрономические и экологические показатели линии MON89788 в сравнении с родительской линией A3244 и другими нетрансгенными коммерческими сортами соевых бобов. При этом существенных различий, кроме конкурентоспособного признака устойчивости к гербициду Раундап®, не отмечено. Единственным фенотипическим различием между MON89788 и родительской линией была немного меньшая высота трансгенных растений, которая, однако, не влияла на показатель урожайности. опыты на животных показали отсутствие токсичности и аллергенности данной линии сои.

Соя, как известно, содержит эндогенные аллергены, вызывающие иммунную реакцию у небольшого количества людей. Для оценки общей аллергенности MON89788 по сравнению с обычными сортами сои были проведены исследования методом ИФА. Сыворотки, использованные для испытания, были получены от 16 человек с IgE-опосредованной аллергией на сою и 6 не аллергиками. Анализы были проведены с экстрактами MON89788, A3244 (родительская нетрансгенная линия) и 24 коммерческих сортов сои. Исследования показали, что аллергический потенциал MON89788 не выше, чем потенциал других нетрансгенных сортов сои.

Трансгенные линии GU262, W62 и W98 обладают толерантностью к глюфосинату аммония – активному ингредиенту фосфинотрицин гербицидов (Basta®, Rely®, Finale® и Liberty®). Глюфосинат ингибирует выработку фермента глутаминсинтетазы, который участвует в синтезе необходимого для растений глутамина, а также детоксикации аммиака. Действие глюфосината приводит к снижению уровня глутамина и увеличению концентрации аммиака в тканях растений, что приводит к разрушению клеток и прекращению фотосинтеза, в результате чего растение погибает. Устойчивость к глюфосинату линии сои GU262 появилась в результате биобаллистического введения гена, кодирующего фермент фосфинотрицин-N-ацетилтрансферазы (PAT), выделенного из аэробного почвенного актиномицета *Streptomyces viridochromogenes*. PAT фермент катализирует ацелирование фосфинотрицина, детоксикацию и перевод его в неактивное соединение.

Линии сои A2704-12, A2704-21, A5547-35 и A5547-127 были получены биобаллистической трансформацией сои линии pUC19, с использованием плазмиды, содержащей измененную форму *pat*-гена, полученную из вируса мозаики цветной капусты (CaMV). Нуклеотидная последовательность *pat*-гена изменена с помощью сайт-направленного мутагенеза для уменьшения высоких соотношений G:C, характерных для бактериальных генов, но не типичных для растительных. Однако, данные модификации не привели к изменениям аминокислотной последовательности РАТ-фермента. Саузерн-блот-анализ геномной ДНК из линии A2704-12 показал включение двух копий *pat*-гена и вставленные между ними по одному экземпляру 3' и 5' *bla* последовательности.

Полевые испытания трансгенных линий A2704-12, A2704-21, A5547-35 и A5547-127 проведены в США (1990-1993), а линии A2704-12, кроме того, в Канаде. Отчеты исследователей показывают, что данные линии по основным агрономическим, экологическим свойствам и безопасности практически не уступают обычным сортам сои, при этом обладают устойчивостью к глюфосинату аммония.

Линия DP356043 была получена бомбардировкой микрочастицами эмбриональных культур соматических клеток незрелых семян культурного сорта сои. При этом произошла вставка двух новых генов, обеспечивающих толерантность к двум различным классам гербицидов. *Gat4601* обеспечивает устойчивость к глифосату, в то время как *GM-HRA* кодирует изменение ацетолатат синтазы (*ALS* фермент). ДНК была получена из плазмиды PNP20163, который содержал две кассеты экспрессии и антибиотический (*hygromycin*) маркерный ген.

Полевые испытания были проведены в США, Японии и Канаде. При этом по фенотипическим, агрономическим показателям линия 356043 биологически значимых отличий от контрольных сортов не показала. На основании проведенных исследований по пищевой и кормовой безопасности, воздействию на экологию и биоразнообразию данная линия была принята к международной регистрации и разрешена к применению.

Следующие три линии сои G94-1, G94-19 и G168 созданы биотрансформацией родительской линии сои (Asgrow A2396) с применением двух плазмид – pBS43 и pML102. Эти линии были разработаны как высокопродуктивные коммерческие варианты, имеющие в своем составе высокое содержание олеиновой кислоты. Бобы сои данных линий содержат на 10% больше насыщенных жиров, более чем 80 % олеиновой кислоты, малое количество полиненасыщенных жирных кислот — около 2 % линолевой и 3,5 % линоленовой. Проведенные исследования в США (1995-1996), Канаде, Пуэрто-Рико и Чили показали безопасность и перспективность их применения.

Линия CV127 модифицирована методом биобаллистической трансформации гена *csr1-2* растения *Arabidopsis thaliana*. Для

биотрансформации использован очищенный линейный фрагмент ДНК, полученный из плазмиды pAC321, содержащий кассету экспрессии гена *csr1-2*. Участок плазмиды содержит часть генома *Arabidopsis*, включая кодирующую последовательность большой субъединицы ацетогидроксиацетат синтазы (*ahas1*), с нетранслируемыми участками 5' и 3'. Произошло встраивание одной копии чужеродной ДНК в геном растения. Анализ последовательностей чужеродной ДНК показал наличие трех точечных мутаций кассеты гена *csr1-2*: замена G на A в позиции 272, в результате чего произошла замена аргинина на лизин. Две остальные мутации являются генетически молчащими. Ген кодирует белок AtAHASL, большую субъединицу ацетогидроксиацетат синтазы, мутантного фермента, обеспечивающего устойчивость растения к имидазолин содержащим гербицидам.

Полевые испытания CV127 сои были проведены в общей сложности на всей территории Бразилии в течение 2006-2008 вегетационных сезонов. Полученные результаты показали, что AtAHAS фермент можно рассматривать как безопасный, т.к. он не имеет гомологичной аминокислотной последовательности с известными белковыми токсинами, входит в состав многих растений и не оказывает токсического действия. В результате 42-дневного эксперимента по кормлению цыплят-бройлеров не было выявленных статистически значимых различий в массе тела, показателях продуктивности и резистентности организма [11].

Таким образом, на сегодняшний день соя является основной и наиболее распространенной сельскохозяйственной культурой, причем 77% всех посевных площадей сои заняты выращиванием трансгенных линий [12]. Несмотря на проводимые исследования и испытания, официальную регистрацию и разрешение к применению ГМ организмов во многих странах мира ученые до сих пор не могут прийти к единому мнению относительно их безопасности для человека и окружающего его мира. В условиях, когда Казахстан стремительно входит в мировой рынок, особенно актуальными становятся знания основных генетических маркеров трансгенных культур для своевременной их идентификации и количественного определения в продуктах их переработки.

Литература

1. European Commission: COMMISSION DECISION of 8th September 2008 authorising the placing on the market of products containing, consisting of, or produced from genetically modified soybean A2704-12 pursuant to Regulation (EC) No 1829/2003 of the European Parliament and of the Council.
2. The Market and Food Security Implications of the Development of Biofuel Production. FAO Committee on Commodity Problems. Rome, 20-22 April 2009.

3. Кучеренко Л.А. и др. Направления рационального использования сои//Пищевая промышленность. - 2009. - №10. - С. 11-13.
4. The Global Food Crisis. Food Prices. Financial Times. April 2009.
5. Ерашова, Л.Д. Использование нетрадиционных источников белка растительного происхождения//Пищевая промышленность. - 2009. - №10. - С. 14-15.
6. Драчева, Л.В. О перспективах отечественной сои/ Л.В. Драчева //Масложировая промышленность. - 2009. - №5. - С. 30.
7. Гаркавенко, Ю.А. Сырьевая база масложировой отрасли Украины: ближне- и дальнесрочные перспективы. Потенциал Украины на мировом рынке растительных масел/ Ю.А. Гаркавенко //Масложировой комплекс. - 2009. -№3. - С. 22-25
8. Рязанова, О.А. Формирование российского рынка сои и соевых продуктов //Пищевая промышленность. - 2009. - №10. - С. 8-10.
9. Сельское, лесное и рыбное хозяйство Казахстана // Статистический сборник под ред. А.А. Смаилов. – Астана, 2010 – с. 68, 73, 81, 88, 94, 105, 110, 124, 129, 225.
10. Steinrücken HC, Amrhein N. The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvyl-shikimic acid-3-phosphate synthase. Biochem Biophys Res Commun. 1980 Jun 30; 94(4):1207-12.
11. Application for Authorisation of Imidazolinone-tolerant Soybean BPS-CV127-9 in the European Union according to Regulation (EC) No 1829/2003/Application EFSA-GMO-NL-2009-64.
12. [Global Status of Commercialized Biotech/ ISAAA Brief 41GM Crops: 2009: Press Release.](#)
13. www.hc-sc.gc.ca
14. www.bch.biodiv.org
15. www.2.oecd.org
16. www.crop.scijournals.org
17. www.ncbi.nlm.nih.gov
18. www.i-sis.org.uk
19. www.sciencedirect.com
20. www.aem.asm.org
21. www.cera-gmc.org
22. www.ec.europa.eu

Түйін

ХАЛЫҚАРАЛЫҚ ДЕРЕКТЕР БОЙЫНША ТРАНСГЕНДІ
АУЫЛШАРУАШЫЛЫҚ ІІ. СОЯ ДАҚЫЛДЫ ТАЛДАУ

С.К. Коканов, Т. Ж. Кобжасаров, Мустафин Б.М.

А. Байтурсынов атындағы Қостанай мемлекеттік университеті
«Қостанай ғылыми-зерттеу ветеринария станциясы» филиалы
«Қазақ ҒЗВИ» ЖШС

Мақалада халықаралық мәліметтер базаларды талдау негізінде сояның генетикалық модификацияланған тұқымдары бойынша шолу келтірілген.

Кілттік сөздер: соя, генетикалық модификация, трансгенді сызықтар

Summary

ANALYSIS OF TRANSGENIC CROPS INTERNATIONAL DATABASES II. SOYBEAN

S.K. Kokanov , T. J. Kobzhasarov, B.M.Mustafin

Ahmet Baitursynov Kostanay State University
«Kostanai scientific-research veterinary station » branch LLP «Kazakh scientific
and research veterinary Institute »

In article the review on the basic lines of genetically modified soybean on the basis of the analysis of the international databases is resulted.

Keywords: soy, genetic modification, transgenic lines

УДК 577.212

ӨНДІРІСТІК ҚҰС ШАРУАШЫЛЫҒЫНДА ВИРУСТЫҚ АУРУЛАР ДИАГНОСТИКАСЫНЫҢ МӘСЕЛЕЛЕРІ

**Е.С. Молдаханов, К.С. Аканова., Э.И. Анаркулова, А.П. Богоявленский,
В.Э. Березин**

ҚР ҒжБМ ҒК «Микробиология және вирусология институты» ШЖҚ РММ

Түйін Құс шаруашылығының қарқынды түрде дамуы, оларды өсіру мен қоректендірудің бұзылуына алып келеді. Бұл фактілер құстар арасында вирустық аурулардың дамуының негізгі себебі. Бұл өз кезегінде инфекциялық аурулар мониторингі

үшін жаңа тәсілдерін жасақтауды туындатады, жаңа диагностикалық әдістерді қажет етеді және мультинұсқалы зерттеу әдістері мен үй және жабайы құстар популяциясындағы әртүрлі вирустарға біржағдайлы сараптама жасау әдістерін талап етеді.

Кілттік сөздер: құс шаруашылығы, вирустық аурулар, вирустық инфекциялар диагностикасы

Қазақстан Республикасы ауылшаруашылығын дамытуға үлкен мүмкіндіктері бар бірден бір аграрлық мемлекет. Өндірістік құс шаруашылығы мал шаруашылығы саласындағы еліміздің азықты қауіпсіздігін қамтамасыз ететін ең динамикалық және жоғарғы ғылыми дәрежедегі ғылымның бірі болып саналады. Оның қатарына ірі құс кәсіпорындары ғана емес, сонымен қатар фермерлік және жеке шаруа қожалықтары да кіреді. Заманауи құс шаруашылығы шектелген аумақта көп көлемді құстарды өсіруге мүмкіндік береді. Аталмыш саланың қарқынды дамуы құс ұяшықтарының санитарлық талаптарға сай келуін талап етеді. Алайда заманауи менеджменттің ерекшелігі аталған аудан бірлігінде құстар санын көбейтумен байланысты және санитарлық аралықты қысқартумен, сонымен қатар әртүрлі жастағы құстарды араластырумен сипатталады. Технологияны бұлай өрескел бұзу өз кезегінде құс шаруашылығы аумағында вирусты және бактериальды микрофлораның көбеюіне алып келеді [1-4].

Ветеринарлы - санитарлық ережелерді бұзу, әртүрлі текті әсерлер, сапасы төмен жемдер және құс өсіру технологиясындағы ауытқулар, құстар иммундық жүйесінің әлсіреуіне алып келеді, соның салдарынан әртүрлі этиологиялы инфекциялық аурулар туындайды. Вакцинация схемасының жиі ауысу тәжірибесі, биопрепараттар спектрінің, жаңа вакцинациялар схемасын негізсіз енгізу және шартты патогенді штамдар негізінде жасалған тірі вакциналарды қолдану, сонымен қатар көпвалентті вакциналарды қолдану қожалықтағы микроорганизмдер спектрін кеңейтуге алып келеді. Әлсіреген құстарды вакцинациялау және иммунодепрессивті жағдайдағы немесе қандайда бір патогенмен зақымданған жағдайда далалық вирустың вируленттілігі артады және вакцинацияланған иммунитет жағдайында инфекцияның субклиникалық ағымда өтуіне алып келеді. Инфекциялық аурулардың субклиникалық, латентті және ассоцирленген ағымда жүруі ауру диагностикасын, профилактикасын қиындатады. Өндірістік құс шаруашылығында вирустық инфекцияларға кететін экономикалық шығын жалпы салаға жұмсалатын қаржының кем дегенде 8% құрайды [2-5].

Бүгінгі таңда вирус этиологиялы құстар ауруының 3 негізгі тобын ажыратады. Бірінші топқа құстардың асқазан ішек жолдарын зақымдаушы вирустарды енгізуге болады.

Бұл топтағы вирустарға астро-, адено-, парво-, рота-, корона-, энтеровирустарды және басқада вирустарды қосуға болады.

Екінші топтағы құстар ауруына вирустық анемияны, лейкоз, шешек ауруларын жатқызуға болады, олар карантинді аурулар түріне жатады және аталған ауру анықталған аумақта толық вакцинация жүргізуді қажет етеді.

Үшінші топтағы ауруларға тыныс жолдарының зақымдануымен жүретін ауруларды жатқызуға болады, олар өз кезегінде өсіру схемасына қарамастан құстар арасында тез таралады. Аталған топтағы инфекциялармен сәтті күресуге қарамастан, олар өндірістік құс шаруашылығында ірі экономикалық шығындар туындатуда. Аталған аурулар қатарына халықаралық ұйымдар мәліметінше Ньюкасл ауруын (НА), құс тұмауы (ҚТ), инфекциялық бурсальды ауру (ИБА), тауықтардың инфекциялық бронхиты (ТИБ), жұмыртқалаудың төмендеу синдромы – 76 (ЖТС-76), құстардың реовирустық инфекциясы (ҚРИ), құстардағы инфекциялық энцефаломиелит (ҚИЭ), құс балапандарының өлімі НА және ҚТ инфекциясы кезінде 100% құрайды [3-7].

Инфекциялық ауруларды туындатушы әртүрлі жаңа вирустарды анықтау, өндірістік құс шаруашылығында инфекциялық аурулардың мониторингін өзгертуді талап етеді.

Осындай мониторингтің жоғарғы тиімділігіне диагностикалық әдістердің барлық регионарлық және өндірістік лабораторияда кең көлемде қолданысқа енген жағдайда ғана қол жеткізуге болады.

Ветеринарлық тәжірибеде иммунологиялық әдістердің кеңінен қолданылуына қарамастан, иммуноферментті анализ (ИФА) және ПЦР рутинді зерттеу жүргізуде алдыңғы орынды алады.

Диагностикалық әдіс ретінде ИФА және ПЦР артықшылығы жылдамдығында, сезімталдығында, спецификалылығында, қауіпсіздік және процесті автоматизациялау мүмкіндігінде. Өндірістік құс шаруашылығында соңғы онжылдықта ИФА және ПЦР әдісін қолдану арқылы серологиялық және антигендік диагностиканы модернизациялау әрекеттері жасалынды [4-6]

Өлшеуіш құралдарды қолдану, атап айтқанда спектрофотометрлер немесе ПЦР үшін приборларды аталған уақыттағы микропланшетті форматтағы оптикалық тығыздық мәндерін есептеу үшін, бір мезгілде бірнеше инфекцияға коптеген тестілеу әдістерін қолдануға мүмкіндік берді. Бұл өз кезінде ветеринарлық тәжірибеде компьютерлік бағдарламалар тек қана гендер копиясының саны және оптикалық тығыздықты титрлердің нақты санына айналдырып қана қоймай, оларды сақтау мен мәліметтер базасын құруға қолданылады.

Бұл өз кезегінде инфекциялық аурулар мониторингі үшін жаңа тәсілдерін жасақтауды туындатады, жаңа диагностикалық әдістерді қажет етеді және мультинұсқалы зерттеу әдістері мен үй және жабайы құстар популяциясындағы әртүрлі вирустар біржағдайлы сараптамасын жасау әдістерін талап етеді [8-9].

Әдебиеттер

1. Alexander D.J. Ecology and Epidemiology Newcastle disease Springer Verlag Italia. –2009. -P. 19-26
2. Miller P.J., Decanini E.L., Afonso C.L. Newcastle disease: evolution of genotypes and the related diagnostic challenges// *Infect Genet Evol* 2010, 10:26-35
3. Doyle T.M. Newcastle disease of fowls//*Comp. Pathol. Ther.* – 1935. – V. 48. – P. 1-20
4. Асанов Н.Г. Парамиксовирус птиц серотипа 1: эпизоотология, биология возбудителя и иммунодиагностика. Автореферат диссертации доктора биол. наук. – Алматы, 2007. – 51 с.
5. Саятов М.Х. , Бутакова И.Ш., Кыдырманов А.И., Даулбаева К.Д., Асанова С.Е. Итоги изучения парамиксовируса птиц серотипа 1 в Казахстане // Известия МОН РК, НАН РК. Сер. биол. и мед. - Алматы, 2003. № 2. -С. 71-81
6. Bogoyavlenskiy A., Berezin V., Prilipov A., et al. Molecular Characterization of virulent Newcastle disease virus isolates from chickens during the 1998 NDV outbreak in Kazakhstan// *Virus Genes.*-2005. - v. 31 N1. - P. 13-20
7. Bogoyavlenskiy A., Berezin V., Prilipov A., et al. Newcastle disease outbreaks in Kazakhstan and Kyrgyzstan during 1998, 2000, 2001, 2003, 2004 and 2005 were caused by viruses of the genotypes VIIb and VIId// *Virus Genes.*- 2009, V.39, N 1, P.94-101
8. Коротецкий И.С., Богоявленский А.П., Прилипов А.Г. и др. Молекулярно - генетическая характеристика везикулярных изолятов вируса болезни Ньюкасла, изолированных на территории Российской Федерации, Украины, Казахстана и Киргизии// *Вопросы вирусологии.* - 2010. - №4. - С. 25 - 29.
9. Bogoyavlenskiy A., Berezin V., Prilipov A., et al. Characterization of Pigeon Paramyxoviruses (Newcastle disease virus) Isolated in Kazakhstan in 2005//*Virologica Sinica.*-2012, 27 (2). - P. 93 – 99.

Резюме

ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В ПРОМЫШЛЕННОМ ПТИЦЕВОДСТВЕ

Е.С. Молдаханов, К.С. Аканова, Э.И. Анаркулова, А.П. Богоявленский,
В.Э. Березин

РГП на ПХВ «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК

Интенсификация промышленного птицеводства, как правило, ведет к регулярным нарушениям содержания и кормления птицы в местах их содержания. Этот факт - основная причина возникновения все новых вирусных заболеваний птиц. Это в свою очередь обуславливает необходимость разработки новых подходов для мониторинга инфекционных заболеваний, требуя не только создания новых методов диагностики, включая мультивариантные методы исследования, но и новых методов одномоментного анализа различных вирусов в популяциях домашних и диких птиц.

Ключевые слова: птицеводство, вирусные заболевания, диагностика вирусных инфекций

Summary

PROBLEM DIAGNOSTICS OF VIRAL DISEASE in poultry industry

E.S. Moldakhanov, K. S. Akanova, E. I. Anarkulova, A.P. Bogoyavlenskiy,
V. E. Berezin

RSE « Institute of Microbiology and Virology» SC MES RK

Intensification of poultry industry, usually leads to regular contravention of keeping and feeding birds in aviaries. This fact is the main cause of the emergence viral disease of poultry. This in turn has makes it necessary to development of new approaches for monitoring of infectious diseases, requiring not only the creation of new diagnostic techniques , including multivariate methods, but also new methods of simultaneous analysis of different viruses in populations of domestic and wild birds .

Keywords: poultry, viral diseases, the diagnosis of viral infections

УДК 619:616.98:587.828.11

ЛЕЙКОЗ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА: ДИАГНОСТИКА И ПРОБЛЕМЫ ОЗДОРОВЛЕНИЯ

А.А.Султанов, А.Л. Воробьев

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»
Восточно-Казахстанский государственный технический университет им.
Д.Серикбаева

Резюме В статье показано современное состояние изученности лейкоза крупного рогатого скота, методы диагностики и проблемы оздоровления.

Ключевые слова: лейкоз, эпизоотология, диагностика

Лейкоз крупного рогатого скота - хроническая инфекционная болезнь опухолевой природы, которая протекает бессимптомно или проявляется лимфоцитозом и злокачественными образованиями в кроветворных и других органах и тканях.

Источником возбудителя инфекции является зараженный организм животного, представляющий собой среду обитания вируса лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС). Только в организме животного отмечено сохранение, размножение и накопление этого вируса. Доказано, что местом локализации вируса является лимфоцит (1).

Передача ВЛКРС восприимчивому крупному рогатому скоту может осуществляться со всеми секретами и экскретами при попадании в них лимфоцитов зараженных вирусом. Установлено, что для экспериментального заражения телят достаточно ввести им внутривенно 2500 лимфоцитов крови от зараженного животного (такое количество лимфоцитов содержится примерно в 0,0005 мл цельной крови). Среди основных факторов, обуславливающих передачу вируса лейкоза, наибольшее значение имеет перенос возбудителя через кровь и препаратов из нее, при ветеринарных и зоотехнических обработках (2).

Инфекционность лейкоза крупного рогатого скота подтверждается данными эпизоотологических исследований, указывающих на то, что:

возникновение лейкоза в благополучном хозяйстве является следствием завоза животных, зараженных ВЛКРС;

зараженные ВЛКРС животные способны инфицировать здоровый крупный рогатый скот;

организм отвечает на заражение специфической реакцией – образованием антител, сроки выявления которых зависят от дозы вируса лейкоза, а также от индивидуальных особенностей иммунной системы (3).

Эпизоотический процесс лейкоза является сложным непрерывным процессом передачи ВЛКРС от зараженных к восприимчивым здоровым животным. Имеются два пути передачи вируса: вертикальный (внутриутробный) и горизонтальный (контактный). Заражение происходит обычно горизонтально, то есть в результате ввода здоровых животных в стадо, инфицированное ВЛКРС, и в здоровых стадах – путем ввода в них животных, зараженных вирусом лейкоза.

Горизонтальный путь не исключает передачу вируса через быков-производителей как возможных источников передачи лейкозной инфекции при вольной случке коров и телок. Выявление в хозяйствах инфицированных быков-

производителей служит лакмусовой бумажкой, указывающей на обязательное наличие в стаде инфицированных вирусом коров и телок, поскольку достоверно доказано, что при случке здоровых животных с быком, инфицированным вирусом лейкоза, можно распространить инфекцию. И наоборот, когда здоровый бык используется в неблагополучном хозяйстве, он инфицируется вирусом лейкоза и становится распространителем данной инфекции (4).

Установлено, что отсутствие быков в современных стадах приводит к «нетрадиционным» играм коров и телок в состоянии охоты. Запрыгивания друг на друга часто приводят к повреждению кожного покрова на корне хвоста, маклоке и грудине возбужденных животных. Если в числе трущихся животных окажется вирусоноситель лейкоза, через кровь на ранах и царапинах заражение в состоянии охоты обеспечено. Странно, что этот фактор горизонтальной передачи ВЛКРС не учитывается современной эпизоотологией лейкозов (5).

ВЛКРС может передаваться трансплацентарно с инфицированными лимфоцитами матери благодаря способности лимфоцитов мигрировать в межклеточном пространстве и таким образом преодолевать плацентарный барьер. По некоторым данным, до 20 % телят, зараженных вирусом ВЛКРС от матерей, могут родиться инфицированными. Вирус лейкоза присутствует в молозиве и молоке инфицированных коров. Инокуляция такого молока или молозива телятам и овцам индуцирует у них инфекцию (6).

Учитывая, что ВЛКРС передается только с лимфоцитом, вне которого он не может существовать, то нетрудно перечислить возможные пути передачи таких лимфоцитов, несущих в себе этот вирус - все ветеринарно-зоотехнические мероприятия с животными, выполняемые с нарушением правил асептики, в частности - искусственное осеменение коров и телок, отбор проб крови для диагностических исследований, массовые вакцинации, ректальное исследование, хирургические обработки копыт, использование общих родильных отделений для инфицированных ВЛКРС и неинфицированных рожениц, через доильные аппараты, особенно в случаях доения коров со скрытыми и, тем более, клиническими маститами, а также при нестабильных параметрах в доильной системе, использование быков-производителей (для вольной случки), инфицированных вирусом лейкоза (7).

Изучая результаты серологических исследований на лейкоз по возрастным категориям животных установили, что у взрослых особей в отличие от молодняка процент инфицированного крупного рогатого скота увеличивается. В чем же причины роста инфицированности в возрастном аспекте? Одна из них – недостатки в работе ветеринарных врачей, которые, прекрасно зная, как передается вирус, продолжают пользоваться нестерильными инструментами и иглами. Не организуют разделение стада на серопозитивных и серонегативных коров, и, как следствие, возрастает возможность передачи вируса при доении, массовых ректальных

исследованиях, фиксации за носовую перегородку, при взятии крови, искусственном и естественном осеменении, мечении, расчистке копыт и т.д. (8).

Лейкозом в сильной степени поражаются высокопродуктивные породы скота. Отсутствие этой болезни среди некоторых пород (швицкая, костромская, ярославская) создавало представление об их устойчивости к лейкозу. Однако благополучие их зависело от отсутствия их контакта с больным или инфицированным поголовьем. Совместное содержание больного или инфицированного поголовья с так называемыми устойчивыми к лейкозу породами показало, что они инфицируются с последующим проявлением у них болезни. Абсолютно устойчивых к заражению ВЛКРС и заболеванию лейкозом животных нет (4).

Эти данные почти полностью исключают возможность существования устойчивых к инфицированию животных при наличии в окружающей среде источника инфекции, вопрос только во времени и появлении благоприятных условий для заражения. Высокую пораженность стада и инфицирование вирусом можно объяснить длительностью неблагополучия, большой концентрацией животных на ферме, несвоевременной изоляцией выявленных больных, частыми переводами коров из одного помещения в другое в зависимости от физиологического состояния (стельность, сухостойный период и др.), наличием контакта больных и здоровых животных на пастбище (9).

Немаловажной причиной, негативно влияющей на рост инфицированности скота ВЛКРС, является недостаточно жесткая инструкция по борьбе с лейкозом. Искусственное разделение животных на «инфицированных» и «больных лейкозом» способствует тому, что вирусоносителей считают менее опасными в эпизоотическом плане, чем больных лейкозом. Разницы практически никакой. Вирусоносительство и вирусывделение не пройдет само, это пожизненное состояние. Очевидно, данные термины ввели из-за опасности масштабных экономических потерь, связанных с убоем сероположительных животных. Нет мотивации, нет и цели освободить хозяйство от лейкоза. К сожалению, забывают о том, что при лейкозе у коров снижается продуктивность и качество молока. Удои и выход мяса уменьшаются на 5,5-10,2 %. Кроме того, в молоке снижается содержание общего белка и большинства аминокислот, в мясе накапливаются продукты распада белка. Вирус лейкоза действует как иммунодепрессор, снижая устойчивость животных к другим инфекциям и инвазиям (8).

Огромный экономический ущерб, наносимый лейкозом племенному животноводству в виде уничтожения генофонда ценных высокопродуктивных семейств, вынудил некоторые страны Западной Европы принять Национальные программы по борьбе с данным заболеванием. Уничтожение больных по крови животных не дало ожидаемых результатов, так как инфицированные

возбудителем болезни коровы оставались в стадах. После разработки серологических методов выявления инфицированных ВЛКРС животных и принятия на этой основе государственных программ по борьбе с лейкозом крупного рогатого скота, представилось возможным искоренить болезнь почти во всех странах Западной Европы. Эффективность этой работы была подтверждена отсутствием в последние 15-20 лет инфицированных животных среди импортируемых (10).

Долгое время при закупке животных, обращалось внимание на их родословную, продуктивность и интерьерные качества. Зачастую в ветеринарных свидетельствах указывалось, что животные «выходят их хозяйств, благополучных по инфекционным заболеваниям», или они «подвергнуты диагностическим исследованиям с отрицательными результатами». Однако были случаи, когда в первые же месяцы их карантинирования методами серологических исследований обнаруживали как больных, так и инфицированных животных. Видимо при первом обследовании эти животные находились в инкубационной стадии заражения, при которой серологический метод не может выявить инфицированности. Отсюда следует, что лабораторные исследования не гарантируют благополучия закупленного поголовья, если оно выращивалось в стадах с наличием источника лейкозной инфекции (10, 11).

Единственный путь сохранения крупного рогатого скота — оздоровление поголовья с его возможной заменой (через трансплантацию эмбрионов) на породы европейского уровня продуктивности. При этом свободные от инфекции телки и покупаемый у населения молодняк могут играть роль суррогатных матерей для пересадки им эмбрионов лучших мировых пород. При таком воспроизводстве племенного скота прерывается любая (в том числе и наследственная) возможность передачи ВЛКРС. Трансплантация эмбрионов импортной генетики в оздоравливаемых хозяйствах поможет восполнить продуктивный потенциал скота после проведения противоэпизоотических мероприятий (26).

Индукцированная ВЛКРС инфекция характеризуется некоторыми особенностями. Возбудитель персистирует в организме пожизненно в виде провируса, интегрированного в геном лимфоцитов хозяина, при этом свободные зрелые вирионы или их антигены, как правило, отсутствуют. Постоянным признаком инфекции служит продукция специфических антител. Поэтому для диагностики широко применяют непрямые серологические методы исследования, такие, как реакцию диффузионной преципитации (РИД) и иммуноферментный анализ (ИФА) (12, 13).

Для ускорения полного оздоровления стад от лейкоза целесообразно совместно с РИД и непрямым ИФА использовать методы, выявляющие непосредственно вирус или провирус у инфицированных животных.

Перспективной в этом направлении является полимеразная цепная реакция (ПЦР), позволяющая выявлять провирусную РНК в крови животного. Проанализировав литературные данные, расположили методы диагностики лейкоза в порядке возрастания чувствительности, точности и специфичности в следующем порядке: РИД, ИФА, ПЦР. В настоящее время широкое применение ПЦР, на наш взгляд, сдерживает высокая стоимость оборудования и реактивов, отсутствие на рынке сертифицированных диагностикумов и не до конца осознанное место ПЦР-диагностики системе противолейкозных мероприятий. Ни один из существующих методов не лишен недостатков. Так, довольно часто устанавливали несоответствие результатов ПЦР и РИД. ПЦР-позитивных особей выявляли среди РИД-отрицательных животных, а ПЦР-негативных – среди РИД-положительных. Несмотря на очень высокую чувствительность ПЦР, бывают такие периоды, когда уровень провирусной ДНК минимален. В таких случаях РИД оказывается более информативной. Поэтому имеет смысл методом ПЦР контролировать РИД- и ИФА-негативных особей. При таком комбинированном применении диагностических тестов можно быстро и эффективно оздоровить стадо. С помощью ПЦР выявляют непосредственно провирус, то есть результат анализа не зависит от возраста и состояния животного, поэтому ПЦР можно использовать для разделения телят на инфицированных и здоровых в возрасте от 15 дней до 5 месяцев (в этом возрасте применять РИД не имеет смысла) (14). ПЦР как высокоразрешающий вариант диагностики в принципе весьма перспективна. В частности, для эпизоотологической оценки передачи инфекции от коров потомству были проанализированы результаты тестирования 15-дневных телочек с помощью ПЦР. Всего протестировано 1595 телочек в 5-12 ежемесячных исследованиях и выявлены 148 ПЦР-позитивных, от 4,8 до 11,6 %. Высокий уровень реагирующих указывает о сомнительности вывода о роли колостральной защиты потомства при лейкозе, в частности в устойчивости молодняка до 5-6-месячного возраста. Система РИД+ПЦР перспективна при лейкозе КРС, так как обладает рядом преимуществ перед РИД и позволяет с высокой достоверностью одновременно выявлять максимальное количество инфицированных животных на самых ранних стадиях заболевания. Это существенно сокращает сроки оздоровительных противолейкозных мероприятий. Кроме того, ПЦР применима для обследования молодняка, начиная с 15-дневного возраста (15,16).

Процент инфицированных телят к 3-месячному возрасту, по данным ПЦР, практически соответствует проценту РИД-позитивных особей, но в более позднем возрасте (к 3 годам). По-видимому, это свидетельствует о том, что заражение животных происходит в раннем возрасте (трансплацентарно и до 3 месяцев), а первые иммунологические признаки болезни появляются после первой лактации. Таким образом, если в первые недели жизни методом ПЦР

разделить телочек на носителей провируса и здоровых, то оздоровить хозяйство можно значительно быстрее (25). В настоящее время согласно стандартам МЭБ узаконенными методами диагностики лейкоза крупного рогатого скота являются РИД и метод ИФА. Ранее считали, что применение ИФА ограничено коротким промежутком времени, поскольку уровень специфических антител растет очень быстро, в связи с этим все методы диагностики равны по эффективности. Отчасти это действительно так, если иметь дело с классическим течением инфекционного процесса, однако существует немало факторов, влияющих на их чувствительность. К ним относится длительный инкубационный период и вторичные иммунодефициты, обусловленные пред- и послеродовым периодом у коров, некоторыми инфекционными и инвазионными болезнями, применением живых вакцин, а также экологически неблагоприятными факторами окружающей среды. Поэтому, именно ИФА широко используют в Национальных программах по борьбе с лейкозом крупного рогатого скота во многих странах Западной Европы и Америки, многие из которых уже успешно завершены (17). Даже такой простой прием, как своевременная обработка скота против паразитов, способствует дополнительному выявлению зараженных ВЛКРС животных. В ряде хозяйств Сибири такую обработку ивомеком и другими средствами проводят за две недели до постановки скота на стойловое содержание. А через шесть недель, по чистому фону, осуществляют аллергические и серологические исследования, затем приступают к вакцинации поголовья (26).

Недостаток в чувствительности РИД особенно очевиден, когда животные, заражаясь вирусом лейкоза за 1-1,5 месяцев до времени серологического контроля в РИД реагируют отрицательно. Первое исследование согласно инструкции проводят в 6 месяцев. До этого всех телят содержат в одной группе, и вероятность перезаражения очевидна (вакцинация, лечения без замены игл, с нарушением целостности кожи, слизывание воспалительного экссудата). Однако если теленок заразился в 5 месяцев, то к моменту исследования (6 месяцев) титр антител еще не успевает достичь диагностического уровня и он как серонегативный поступает в группу здоровых. Аналогичная ситуация может сложиться и при дальнейшем исследовании в 12, 18 и 24 месяцев, а затем и взрослого поголовья коров. Если в одной группе находятся инфицированные и здоровые животные, о чем врач может и не знать, то вероятность заражения весьма велика (6, 18). Установлено, что у большинства отелившихся инфицированных коров снижается титр сывороточных антител, у 21,4 % антитела в РИД не обнаружили, тогда как в молозиве этих животных выявили высокий уровень противовирусных антител. Восстановление выпавшей РИД происходит в основном через 14-30 суток, однако у 10 % из этих животных сероконверсия отсутствовала через 3 месяца. Одновременно это подтверждает, что среди половозрастных инфицированных животных постоянно имеются

особи, сыворотка крови которых отрицательно реагирует в РИД. Они служат источником распространения инфекции в стаде. Биопробой подтверждено, что кровь, полученная от коров с выпавшей РИД, вызывает инфицирование 100 % опытных животных спустя 14-30 дней после заражения (19).

Высокая чувствительность ИФА в отличие от РИД позволяет быстро и массово исследовать сыворотки крови. С помощью данного метода можно выявлять стада, в которых уровень инфицированности не превышает 1 %. Однако ИФА и РИД не способны дифференцировать материнские антитела у молодых животных от активных антител, продуцирующихся при вирусной инфекции (20). Являясь самым чувствительным на сегодняшний день методом обнаружения инфекционных агентов, ПЦР не требует иммунологического ответа на проникновение возбудителя в организм хозяина, что дает возможность следить за ранними стадиями развития инфекции. ПЦР позволяет выявить фрагменты провирусной ДНК, встроенные в геном инфицированного животного или вирусную РНК, тем самым представляя собой прямой метод диагностики в отличие от непрямых РИД и ИФА (21).

Основные требования противолейкозных мероприятий сводятся к следующим – разделение и содержание по отдельности серопозитивных и здоровых животных; раздельное получение и выращивание молодняка от этих групп животных; соблюдение правил асептики и антисептики при проведении ветеринарных и зоотехнических манипуляций; постепенный убой серопозитивных коров; выращивание молодняка с 10-дневного возраста на пастеризованном или искусственном молоке и др. Разделение неблагополучного стада по инфекции ВЛКРС на серопозитивные и серонегативные группы при первоначальной интенсивности инфицированности более 30 % является одним из важных способов, повышающих эффективность противолейкозных мероприятий. Такое разделение можно проводить даже при первоначальной инфицированности в пределах 55-60 %. Это позволяет получать телят от каждой из этих групп коров, уменьшать инцидентность инфекции в оздоравливаемом стаде в несколько раз, эффективнее заменять серопозитивное поголовье и осуществлять ряд других мероприятий, позволяющих сократить продолжительность оздоровления хозяйств на 1-1,5 года (22, 23).

Серологическому исследованию на лейкоз подвергают животных в возрасте 6 месяцев и старше. Пробы крови для исследований берут не ранее, чем через 30 суток после введения животным вакцин и сывороток, а у стельных животных – за 30 дней до отела или через 30 дней после него. На завершающем этапе оздоровления серологические исследования целесообразно осуществлять с интервалом 1-2 месяца.

Зараженных животных первично выявляли с помощью РИД. Одновременно всех телят с 15-дневного до 6-месячного возраста и

дополнительно РИД-негативных животных исследовали с помощью ПЦР. Дальнейшее выявление зараженных животных старше 6-месячного возраста проводили методом РИД. А вновь поступающий молодняк, начиная с 15-дневного возраста – ПЦР. Все зараженные животные немедленно удалялись. Критерием благополучия оздоравливаемого стада (в хозяйстве, на отделении, ферме, дворе) являлось получение двух подряд с интервалом в 3 месяца отрицательных результатов в РИД всего поголовья старше 6-месячного возраста. Результаты применения данной системы, суть которой заключается в раннем выявлении зараженных животных среди молодняка и дополнительном – в числе РИД-негативных с помощью ПЦР с последующим контролем в РИД каждые 3 месяца (система РИД+ПЦР), по отдельным стадам показала положительный эффект, выявление зараженных животных продолжалось до 2-4 (в среднем 3) последовательного тестирования в РИД в течение одного года и за этот период эффективность оздоровления составила 80 %. Применение ПЦР позволило одновременно выявить среди РИД-негативных животных и вывести их из стада дополнительное существенное количество зараженных (более 16 %). Таким образом, применение ПЦР в комплексе противолейкозных мероприятий обеспечивает более раннее и полное выявление зараженных животных и сокращает сроки оздоровления стада (7, 15).

В настоящее время программы оздоровления хозяйств от лейкоза построены на применении в качестве диагностики серологических методов (РИД и ИФА), предотвращение контакта животных, свободных от вируса лейкоза крупного рогатого скота, с зараженными животными и удаление последних от популяции.

Как показала практика, при таком подходе оздоровление затягивается на годы, так как невозможно выявить всех инфицированных животных, особенно на ранних стадиях заболевания, и изолировать их от здоровых.

Для правильного планирования противолейкозных мероприятий важно учитывать следующее.

Источник заболевания — больные животные и вирусоносители; поэтому своевременное, как можно более раннее выявление таких животных - одно из необходимых условий эффективной борьбы с лейкозом.

Возбудитель передается со всеми секретами и экскретами, содержащими зараженные вирусом лейкоциты (кровь, молоко, молозиво, сперма, носовая и влагалищная слизь, слюна).

Возможны два пути распространения инфекции: вертикальный (от матери — плоду) и горизонтальный (от зараженного животного — здоровому). Распространению лейкоза среди восприимчивого поголовья способствуют: совместное содержание здоровых и зараженных животных, выпаивание телятам молозива и молока от больных коров, использование для осеменения спермы зараженных лейкозом быков, несоблюдение правил асептики и антисептики при

ветеринарно-зоотехнических мероприятиях (взятие крови, вакцинация, ректальные исследования, мечение и пр.) (12, 24).

Современные знания о вирусе лейкоза крупного рогатого скота позволяют не только ограничить распространение инфекции в определенном ареале, но и провести «бескровное» оздоровление поголовья в течение 4–5 лет. Для этого требуется выполнение всего трех условий: регулярные серологические исследования крови, изоляция вирусоносителей и получение от них здорового молодняка.

Государственная программа по оздоровлению от лейкоза должна включать систему мер, позволяющих без потерь очищать поголовье от ВЛКРС, вывести хозяйства из лейкозной тени.

Для этого, прежде всего, нужно, чтобы серологические исследования крови были обязательными, регулярными и бесплатными.

Для оздоравливаемых хозяйств хорошо бы предусмотреть льготные условия закупки молодняка и эмбрионов. Бесплатно и в достаточном количестве ветеринарные службы хозяйств и практикующие специалисты должны быть обеспечены вакуумными системами отбора крови, одноразовыми перчатками для ректальных исследований, одноразовыми шприцами или хотя бы иглами для инъекций. Копеечная экономия на одноразовых инструментах приводит к высокочрезвычайно затратным противозоотическим мероприятиям.

Итак, ВЛКРС не несет прямой угрозы человеку и представляет лишь экономическую проблему в связи с необходимостью оздоровления поголовья. Чтобы не лишиться значительной его части накануне вхождения в общеевропейский рынок, необходимо провести оздоровление животных от лейкоза. Однако существующая концепция борьбы с ним путем жесткой выбраковки, а по сути, поголовного истребления зараженных животных не соответствует уровню сегодняшних знаний об этиологии и о патогенезе заболеваний.

Изолированное содержание инфицированных животных, постепенная выбраковка серопозитивных животных (по окончании их продуктивного периода), получение здорового молодняка и пастеризация молока от зараженных коров позволят обойтись без неоправданных потерь.

В племенных хозяйствах целесообразно организовать сбор эмбрионов от особо ценных и исчезающих пород животных, попавших в разряд серопозитивных по ВЛКРС, и их пересадку свободным от инфекционных болезней реципиентам для получения здорового приплода. Импорт эмбрионов от высокопродуктивных доноров может компенсировать выбраковку малоценного зараженного поголовья (26). Таким образом, согласно данных литературы и собственных наблюдений, для успешного оздоровления неблагополучных по лейкозу хозяйств необходимо осуществить следующие специальные и хозяйственные мероприятия.

1. Серологические исследования (РИД или ИФА) животных на лейкоз проводить с 5-6-месячного возраста с интервалом 3 месяца до получения единичных положительных результатов. В последующем, в целях повышения эффективности оздоровительных мероприятий и ускоренного выявления инфицированных животных, отрицательно реагирующих в РИД или ИФА, а также телят с 15-дневного возраста исследовать методом ПЦР.

2 Согласно результатов серологических исследований из серопозитивных коров сформировать стадо и содержать животных в отдельном помещении. В крайнем случае, создать отдельные группы, которые следует размещать с одного конца коровника и по мере отела и лактации ускоренно выбраковывать на убой. Телят последнего отела, полученных от серопозитивных животных и положительно реагирующих в ПЦР, передают в группу откорма. Животных (потомство) старших возрастов от таких коров используют в зависимости от результатов их индивидуальных серологических исследований. Доеение, ветеринарные обработки, ректальное исследование и осеменение начинать с сероотрицательных животных.

3. При выращивании ремонтного и племенного молодняка первое серологическое исследование (РИД или ИФА) телок на лейкоз проводить в возрасте 6 месяцев, затем в 12-месячном возрасте, перед осеменением и в 6-7-месячной стельности. В ПЦР исследования молодняка начинать с 15-дневного возраста.

Положительно реагирующих животных переводить в группу откорма. Из сероотрицательных нетелей сформировать отдельную группу и размещать их в помещениях, где находятся здоровые животные.

Нельзя вводить первотелок в группу взрослых коров. Недопустимо смешивание отрицательных реагирующих нетелей с инфицированными коровами. Это приводит к быстрому перезаражению отелившихся нетелей и значительно затрудняет выполнение оздоровительных мероприятий.

4. Стельных коров исследовать на лейкоз в РИД или ИФА за 2 месяца до отела и через 2 месяца после отела. Серопозитивных после отела передавать на откорм или в группу серопозитивных дойных коров, а полученных от них телят, положительных в ПЦР, переводить в группу откорма.

5. Быков-производителей исследовать на лейкоз в РИД или ИФА не менее 4 раз в год, с интервалом 3 месяца. Серопозитивных животных изолировать и передавать на откорм.

6. Коров и телок осеменять искусственно. Для телок возможно использовать быка-производителя, отрицательно реагирующего (не менее 4-5 раз) в РИД или ИФА.

7. Сероположительных сухостойных коров и нетелей удалять из общего стада. После отела переводить в группу сероположительных коров.

Полученных от них телят, положительно реагирующих в ПЦР, передавать в группу откорма.

8. Отелы серонегативных и серопозитивных коров и нетелей проводить в разных родильных помещениях. В случае отсутствия таких помещений отелы осуществлять в боксах, которые дезинфицировать после каждого отела. Последы утилизировать в емкостях с крышками, содержащими 30-40 % раствор каустической соды.

9. Новорожденных телят до 7-10-дневного возраста содержать в индивидуальных клетках в профилактории или в боксах вместе с коровами-матерями, после чего телят (полученных от здоровых и зараженных вирусом лейкоза коров) переводить в телятник и выращивать до 6-месячного возраста. Телят с 15-дневного возраста исследовать в ПЦР, положительно реагирующих передавать на откорм.

10. На заключительном этапе оздоровления (единичные случаи положительно реагирующих) телят, начиная с 15-дневного возраста и взрослых животных, ранее отрицательно реагирующих в РИД или ИФА исследовать с применением ПЦР. Дальнейшие исследования проводить каждые три месяца. Всех положительно реагирующих животных немедленно изолируют, а телят передают в группу откорма. Критерий благополучия стада – получение двух подряд, с интервалом в три месяца, отрицательных результатов РИД или ИФА всего поголовья.

11. Кормить телят согласно принятой в хозяйстве технологии: до 7-10-дневного возраста выпаивать молозиво коров-матерей. С переводом в телятник выпаивать сборное пастеризованное молоко или, что значительно эффективнее, использовать искусственное молоко.

12. В племенных хозяйствах после каждого обследования животных на лейкоз в генеалогические схемы семейств и линий вносить результаты исследований.

Животных из линий и семейств, свободных от лейкоза, использовать в селекционном и племенном ядре без ограничений. Коров из линий и семейств, слабо и сильно пораженных лейкозом, не допускать к использованию в племенных целях. На каждого теленка составлять карточку, где указывать породу, краткую характеристику, линию, семейство, результаты серологического и клинико-гематологического исследования матери и отца на лейкоз.

13. Завозимый племенной молодняк должен происходить только от здоровых коров и быков-производителей, в родословной которых не было больных лейкозом. Такой племенной молодняк перед ввозом (вывозом) содержать в хозяйстве изолированно и дважды в течение 60 дней, исследовать серологическим методом и однократно - ПЦР. При отрицательных результатах исследования животных вводить в общее стадо. В случае выявления

инфицированных животных, их передавать на откорм. Остальных животных содержать изолированно до получения двух подряд отрицательных результатов по РИД или ИФА.

14. Новорожденных телят нумеровать (таврить) холодным методом (жидким азотом).

15. Всех серопозитивных животных таврить жидким азотом путем нанесения буквы «Л» на щеку или круп. Ветеринарно-зоотехнические мероприятия следует проводить в строгой последовательности – начинать с незатавренных и заканчивать тавренными.

16. Ректальное исследование и искусственное осеменение проводить в одноразовых перчатках, меняя их после каждого исследованного или осемененного животного.

17. Все ветеринарно-профилактические обработки (лечение, иммунизация) животных осуществлять с соблюдением правил асептики и антисептики. Применять вакуумные системы отбора крови, одноразовые шприцы, стерильные иглы при использовании шприцов многократного пользования.

18. Обезроживать телят термическим или химическим методами. Кастрацию проводить перкутарным способом.

19. Противозооотические и профилактические мероприятия осуществлять со 100 % охватом поголовья. Особое внимание уделить санации родильных отделений и боксов.

20. Запретить повторное серологическое исследование животных, ранее положительно реагирующих в РИД или ИФА. Таких животных следует таврить и изолировать от здоровых с последующей сдачей на убой или переводом в группу серопозитивных животных.

Литература

1. Бурба Л.Г. и др. Лейкозы и злокачественные опухоли животных/ М.: Агропромиздат. 1988.- 400 с.

2. Ковалюк Н.В. и др. Современные методы диагностики лейкоза крупного рогатого скота// Ветеринария Кубани.- 2007.- № 1.- С. 9-11.

3. Нахамсон В.М. и др. Серологический метод диагностики в системе противолейкозных мероприятий//Ветеринария.- 1997.- № 3.- С.7-10.

4. Гаврилова Г.А. и др. Эпизоотическая ситуация по лейкозу быков-производителей//Ветеринария.- 2003.- № 6.- С. 10-12.

5. Мадисон В. и др. Лейкоз: пустые «страшилки» или общегосударственная проблема//Животноводство России.- 2006.- № 9.- С. 2-6.

6. Крикун В.А. Лейкоз крупного рогатого скота и иммунологическая толерантность//Ветеринария.- 2002.- № 6.- С. 7-9.

7. Смирнов П.Н. Лейкоз крупного рогатого скота: научно-обоснованные подходы к эффективному оздоровлению//Ветеринария Сибири.- 2002.- № 7-8.- С. 21-27.
8. Федотов В.П. и др. Лейкоз крупного рогатого скота в Ивановской области// Ветеринария.- 2006.- № 3.- С. 23-25.
9. Симонян Г.А. и др. Эффективный метод оздоровления крупного рогатого скота от лейкоза//Ветеринария.- 1990.- № 4.- С. 7-10.
10. Камалов Б.В. Племпродажа – источник заноса и распространения лейкоза крупного рогатого скота//Ветеринарный консультант.- 2006.- № 19.- С. 3-4.
11. Гулюкин М.И. Лаборатории лейкозов ВИЭВ – 40 лет//Ветеринария.- 2001.- № 4.- С. 54-57.
12. Гринишин Д. Лейкоз крупного рогатого скота: хозяйства оздоровить можно быстрее//Аграрный вестник.- 2004.- № 7.-С.8-10.
13. Вангели С.В. и др. Характеристика перевиваемых культур клеток, хронически инфицированных ВЛКРС//Ветеринария.- 2007.- № 10.- С. 50-52.
14. Ковалюк Н.В. Молекулярно-биологические методы для оздоровления стад крупного рогатого скота от лейкоза//Ветеринария.- 2008.- № 8.- С. 22-26.
15. Макаров В.В., Гринишин Д.П. ПЦР в диагностике лейкоза крупного рогатого скота//Ветеринария.- 2005.- № 4.- С. 9-11.
16. Макаров В.В. ПЦР в диагностике лейкоза крупного рогатого скота// Ветеринария.- 2005.- № 4.- С. 9-11.
17. Иванов О.В. и др. Эффективность серологических методов исследования при лейкозе крупного рогатого скота//Ветеринария.- 2008.- № 7.- С.6-8.
18. Симонян Г.А. Динамика развития инфекционно-патологического процесса при лейкозе//Ветеринарный консультант.- 2006.- № 6.- С. 4-6.
19. Москалин Р.С. и др. Опыт борьбы с лейкозом в условиях интенсивного ведения молочного скотоводства//Ветеринария.- 1989.- № 8.- С. 39-43.
20. Малоголовкин С.А. Роль моноклональных антител в диагностике лейкоза крупного рогатого скота//Ветеринария.- 1997.- № 1.- С.16-19.
21. Гулькин М.И. и др. Разработка эффективных мероприятий против лейкоза крупного рогатого скота//Ветеринария.- 2002.- № 12.- С. 3-6.
22. Русинович А.А. Профилактика лейкоза крупного рогатого скота в хозяйствах с разной эпизоотической ситуацией//Ветеринария.- 2004.- № 3.- С.7-9.
23. Новосельцев Г.Г. Распространенность лейкоза крупного рогатого скота в хозяйствах//Ветеринария.- 2009.- № 3.- С. 14-16.
24. Ветеринарные правила о мероприятиях по профилактике и

ликвидации лейкоза крупного рогатого скота. Утверждены МСХ РК, приказ № 747 от 22.12.2004.

25. Горковенко Л. и др. Проблему лейкоза можно решить быстрее//Животноводство России.- 2006.- № 12.- С.39-40.

26. Мадисон В. и др. Лейкоз: пустые «страшилки» или общегосударственная проблема//Животноводство России.- 2006.- № 10.- С. 6-9.

Түйін

ІРІ ҚАРА ЛЕЙКОЗЫ: САУЫҚТЫРУ МӘСЕЛЕЛЕРІ ЖӘНЕ ДИАГНОСТИКАСЫ

А.Л. Воробьев, А.А. Султанов

Д.Серікбаев атындағы Шығыс -Қазақстан мемлекеттік техникалық
университеті

Қазақ ғылыми – зерттеу ветеринария институты

Мақалада ірі қара малдың лейкозы бойынша зерттеулердің қазіргі жағдайы, балау әдістері және сауықтыру мәселелері келтірілген.

Кілттік сөздер: лейкоз,індеттану, балау

Summary

BOVINE LEUKEMIA: DIAGNOSIS AND PROBLEMS OF REHABILITATION

A.L. Vorobeyov, A.A. Sultanov

D. Serikbaev East Kazakhstan State Technical University
LLP «Kazakh scientific-veterinary institute»

Displaying the current state of study of bovine leukemia, diagnostic techniques and problems of rehabilitation.

Keywords: bovine leukemia, epizootology,diagnostic

СОДЕРЖАНИЕ

А.А.Султанов Роль ветеринарии в сохранении и развитии генетических ресурсов сельскохозяйственных животных и птицы в Казахстане.....	3
А.А. Султанов, М.К. Тайтубаев, И.И. Сытник, П.Ш. Ибрагимов, Б.Ш. Мырзахметова, Л.Б. Кутумбетов Эпизоотическая ситуация по ящуру в Республике Казахстан и меры борьбы с болезнью.....	10
Б.Д. Айтжанов, Н.П. Иванов, А. Кожаев, Б.Н. Шакенов, Б. Отарбаев, Б.А. Сыдыков, Н. Курманалиулы, Г.Э. Мамацашвили Эпизоотическая и эпидемическая ситуация по сибирской язве на участках строящихся газопроводных магистралей Алматинской области.....	16
Б.Д. Айтжанов, Н.П. Иванов, А. Кожаев, Б.Н. Шакенов, Б. Отарбаев, Б.А. Сыдыков, Н. Курманалиулы, Г.Э. Мамацашвили Эпизоотическая и эпидемическая ситуация по сибирской язве на участках автодороги «Западная Европа – Западный Китай» в Жамбылской области.....	23
С.К. Абдрахманов, Е.Е. Муханбеткалиев, Д.Б. Кушубаев Визуализация и картографический анализ эпизоотической ситуации по сибирской язве в Западном и Юго-Западном регионах Казахстана.....	29
А.К. Булашев, О.С. Акибеков Получение специфических антител против ивермектина.....	35
Ш.А. Барамова, Е.К. Оспанов, А.А. Адамбаева, Н. Мәтіхан Өндірістік жағдайда S-R-антигеннің сезімталдығын және өзіне тәнділігін зерттеу.....	40
А.М. Борсынбаева Культивирования микобактерий на жидких питательных средах	45
П.Б. Габдуллина, А.Т. Серикова, С.Т. Дюсембаев, Д.Е. Иминова, Н.К. Омаргалиева Витаминный состав козлятины и субпродуктов из зон радиационного риска бывшего Семипалатинского испытательного ядерного полигона (СИЯП).....	50
Ю.М. Горелов Профилактика и лечение скрытого мастита у коров.....	55
И.Т. Джакупов, Г.Т. Есжанова, А.Т. Кузурбаева, А.Е.Кабленова Ранняя диагностика нормы и патологии половых органов у коров.....	59
А.Т. Даугалиева Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени для обнаружения возбудителя рода <i>Salmonella</i>	65
Л.В. Дегтяренко Разработка диагностических тестов при бруцеллезе собак, вызываемым <i>B.canis</i>	69
Н.М. Джусупбекова, М.Ж. Сулейменов Сравнительная эффективность антгельминтных препаратов при сочетанных инвазиях овец.....	74

А. К. Досанова Определение выживаемости микроорганизмов билюминесцентным методом.....	78
Т.Т. Еспенбет, К.З. Жазитов Қағанақ сығындысы ткандік дәрмегін мүйізді ірі караға сынау.....	87
Н. Н. Егорова, А. Т. Даугалиева Бактериологическая диагностика сальмонеллезного аборта овец.....	90
Н.Н. Егорова, А.К. Мусаева Бактериологическая диагностика пастереллеза свиней.....	97
Е.В. Кухар, Б.А. Курманов, В.С. Киян, Е.В. Егорчева, А.М. Шарипова Получение и очистка антигенов <i>Microsporium canis</i> , <i>Trichophyton interdigitale</i> и <i>Trichophyton rubrum</i>	104
М. Кожобаев., Б. Лесов, А. Калаубаев Аттенуация <i>Piroplasma bigemina</i> пригодный для получения антипироплазмозной вакцины.....	111
С.О. Кадыров, Б.А. Шалабаев Протозойные болезни животных.....	114
Н.Ж. Кулмаганбетова, У.С.Тумурзин, А.Т. Жармагамбетов Анализ эпизоотической ситуации по бруцеллезу животных в Костанайской области.....	119
Т.В. Кузнецова, М.Г. Саубенова, А.А. Айтжанова, Б.А. Кулназаров, М.Е. Елубаева Противогрибковая активность молочного напитка КГ с зернобобовыми добавками	124
Л.Б. Кутумбетов, З.Ж. Даутпаева, Б.Ш. Мырзахметова, Л.О. Жантелиева Иммунобиологические свойства ассоциированной инактивированной вакцины против гриппа птиц и болезни Ньюкасла.....	129
Жеңіс Мұқайұлы Шыңжаң Қаба ауданындағы сүтті сиырлардың желінсауы (мастит) ауруын балау, емдеу және алдын алу шаралары.....	135
А.К. Мусаева, А.Т. Даугалиева, Н.Н. Егорова Генотипирование гена 16s rna эпизоотических и эталонных штаммов сальмонелл.....	139
Б.Ш. Мырзахметова, Л.О. Жантелиева, Л.Б. Кутумбетов Жұқпалы бурсал ауруына қарсы тірі құрғақ вакцинаны дайындау және оның иммунобиологиялық қасиеттерін зерттеу нәтижелері.....	150
Б.С. Майканов, Ю.А. Балджи, Ж.Ш. Адильбеков Новые методы ветеринарно-санитарной оценки качества мяса убойных животных.....	156
Б.С. Майканов, Ж.Ш. Адильбеков, Ю.А. Балджи, А. Сарсенбаев, М. Валиева Проблема контаминации молока и молочных продуктов соединениями тяжелых металлов в Акмолинской области.....	162
Р.Х. Мустафина, Б.С. Майканов Ветеринарно - санитарная оценка качества пчелиного меда, производимого в Республике Казахстан.....	167
В. Ю. Сущих, Н. Н. Егорова, Б. Канатов Бактериологическая диагностика эмфизематозного карбункула крупного рогатого скота.....	170
В.Ю. Сущих, Б. Канатов Иммуногенность ассоциированной вакцины против некробактериоза и копытной гнили животных с использованием	

полиоксидония.....	175
В.Ю. Сущих, Б.К. Канатов Действие антибиотиков на возбудителей некробактериоза и копытной гнили.....	180
Ш.Т. Сарбаканова, Л.С. Аубекерова, М.Ю. Минаев, Б.К. Курманов Разработка олигонуклеотидных праймеров для идентификации свинины..	185
Ш.Т. Сарбаканова, З.А. Латыпова, М.Ж. Кенжебаева, К.Т. Касымова Изучение влияния генетически модифицированных организмов, содержащихся в кормах, на биохимические и гематологические показатели лабораторных крыс третьего поколения.....	190
Ш.Т. Сарбаканова, З.А. Латыпова, Л.С. Аубекерова Разработка способа определения диоксинов в кормах на основе биолюминесцентного анализа.....	195
Ш.Т. Сарбаканова, К.Т. Касымова, Г.А. Шалахметова ПЦР-ПДРФ анализ ДНК судака	198
Ш.Т. Сарбаканова, Н.С.Омарбек Оптимизация условий проведения ПЦР для идентификации ГМО растительного происхождения.....	203
К.А. Тургенбаев, М.Ш. Искаков, М.Б. Базарбаев, Ю.И. Сухарников, К. Нурлан, Г. Адильбекова Оценка возможности использования отходов рисопереработки в качестве дезинфицирующего средства.....	208
К.А. Тургенбаев, С. Тамгабаева, А.К. Шаймбетова, А.М. Борсынбаева Сокращение сроков культивирования микобактерий.....	213
К.А. Тургенбаев, С. Тамгабаева Разработка иммунохроматографического анализа для диагностики туберкулеза животных.....	219
М.В.Телелева Эпизоотология и клиническо - морфологическая характеристика возбудителя сальмонеллеза в свиноводческих хозяйствах Алматинской области.....	223
М.В. Телелева Шошқалардың цирковирус ауруының клиникалық белгілерінің ерекшеліктері және оның алдын алу шаралары.....	228
Р.К.Туякова, С.К. Коканов, Б.М. Мустафин Ветеринарно - санитарная оценка мяса крупного рогатого скота при различных методах оглушения.....	234
М. Умитжанов, Р.С. Боранбаева MICROSPORUM EQUINUM F-182, используемый для изготовления инактивированной вакцины против трихофитии лошадей.....	239
М. Умитжанов, Р.С. Боранбаева, Б.Р. Бижанов, Б.А. Шалабаев TRICHOPHYTON VERRUCOSUM F-0271, используемый для изготовления инактивированной вакцины против трихофитии крупного рогатого скота.....	243
М. Умитжанов, Р.С. Боранбаева TRICHOPHYTON EQUINUM F-181, используемый для изготовления инактивированной вакцины против	

трихофитии лошадей.....	247
М. Е. Утегенова Бактериологическая диагностика сальмонеллезного аборта кобыл.....	251
Г. Д. Чужебаева, С.Э. Ермагамбетова, Р.М. Рыщанова, Мустафин Б.М. Разработка полимеразной цепной реакции для диагностики пастереллеза крупного рогатого скота.....	256
А.Қ. Шаймбетова Паратуберкулездің қоздырғышын анықтауға арналған тест-жүйесі арқылы жүргізілген полимеразды тізбектеу реакциясы (ПТР)	262
Б.Ә. Шалабаев, С.О. Қадыров Жануарлар трипаносомозын алдын алу	267

О Б З О Р Н Ы Е С Т А Т Ь И

А. И. Айтжанова, А.Н. Жумакаева, А.М. Садыков Эффективность применения чистящих пробиотиков при содержании цыплят бройлеров.....	271
С.К. Коканов, Т. Ж. Кобжасаров, Б.М. Мустафин Анализ трансгенных сельскохозяйственных культур по международным базам данных П. СОЯ.....	277
Е.С. Молдаханов, Қ.С. Ақанова, Э.И. Анаркулова, А.П. Богоявленский, В.Э. Березин Өндірістік құс шаруашылығында вирустық аурулар диагностикасының мәселелері.....	286
А.А. Султанов, А.Л. Воробьев Лейкоз крупного рогатого скота: диагностика и проблемы оздоровления.....	290