

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

**1905**



**КазНИВИ**

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

**ВЕТЕРИНАРИЯ ҒЫЛЫМЫНЫҢ ЗАМАНАУИ  
ТЕОРИЯЛЫҚ ЖӘНЕ ПРАКТИКАЛЫҚ  
МӘСЕЛЕЛЕРІ**

**ПРОБЛЕМЫ ТЕОРИИ И ПРАКТИКИ  
СОВРЕМЕННОЙ ВЕТЕРИНАРНОЙ НАУКИ**

**Том LXI**

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



**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 LXI**

Алматы 2015

**УДК 619:001**  
**ББК 48**  
**В 39**

Рекомендовано к изданию ученым советом ТОО «Казахский  
научно-исследовательский ветеринарный институт»  
(протокол № 3 от 23.06.2015 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:**

Абуталип А.А., докт. вет. наук, профессор,  
Барамова Ш.А., докт. биол. наук, профессор,  
Кутумбетов Л.Б., докт. вет. наук  
Тургенбаев К.А., докт. вет. наук, профессор,  
Сарбаканова Ш.Т., канд. биол. наук,  
Сембина Ф.Е., канд. вет. наук

Ветеринария ғылымының заманауи теориялық және практикалық мәселелері:  
В 39 ғыл. еңбектер жинағы.  
Проблемы теории и практики современной ветеринарной науки: Сб. науч. тр. –  
Алматы, 2015. - 312 б. – қазақша, орысша.

ISBN 978-601-210-139-3

В сборнике настоящих трудов опубликовано 56 научных статей 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

ISBN 978-601-210-139-3

© ТОО «КазНИВИ», 2015

## **РОЛЬ ВЕТЕРИНАРНОЙ НАУКИ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ЭПИЗОТИЧЕСКОГО БЛАГОПОЛУЧИЯ**

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

К настоящему времени в республике сохраняется напряженная эпизоотическая ситуация по некоторым особо опасным болезням с.-х. животных, имеют место значительные распространения отдельных инфекционных, паразитарных и незаразных болезней, периодически регистрируются эмерджентные и экзотические заболевания скота. Угроза неожиданного возникновения и распространения заразных болезней, не только сохраняется, но и остается в ряду актуальных проблем их недопущения на территории Казахстана.

Имеется риск заноса возбудителей экзотических и многих других болезней при импорте зарубежного скота в нашу республику при реализации проекта «Повышение экспортного потенциала мяса КРС».

Так, в 2014 году по данным Международного эпизоотического бюро в странах ближнего и дальнего зарубежья были зарегистрированы нодулярный дерматит, ринопневмония лошадей, сибирская язва, скрепи, ящур, Меди-висна, сап лошадей, бешенство, болезнь Шмалленберга, блютанг, африканская чума свиней, инфекционный ринотрахеит и контагиозная плевропневмония крупного рогатого скота.

В последние годы, среди племенного скота, ввозимого в республику из стран Европы, США, Канады и Австралии, отмечены случаи проявления блютанга (катаральная лихорадка овец) и новой, не менее опасной вирусной болезни Шмалленберга. Часто регистрируются и такие инфекционные заболевания, как вирусная диарея, инфекционный ринотрахеит и другие, которые обостряют эпизоотическую и эпидемиологическую ситуацию, ставя под угрозу систему обеспечения ветеринарной безопасности животноводства. Из-за вынужденного уничтожения заразных животных экономика государства претерпевает экономический ущерб, складывающийся из снижения продуктивности больных животных и роста поголовья скота, затрат на проводимые оздоровительные мероприятия, выплат населению и др.

Главной задачей ветеринарной науки Казахстана было и остается научное обеспечение сохранения благополучия и научно-обоснованное решение проблем оздоровления животноводческих хозяйств республики от инфекционных, инвазионных и незаразных заболеваний животных.

С целью повышения качества и результативности проводимых НИР в области ветеринарии в 2010 году Министерством сельского хозяйства

РК была запущена программа «Создание единой лабораторной сети», в результате реализации которой проведена модернизация материально-технической базы научно-исследовательских институтов аграрного сектора, в том числе и Казахского научно-исследовательского ветеринарного института. В ходе реализации этой программы был проведен капитальный ремонт помещений института, закуплено более 500 единиц лабораторной мебели и оборудования. Построены новый виварий для содержания и выращивания лабораторных животных, хлораторная, что позволяет проводить фундаментальные и прикладные исследования, используя новые сложные и рутинные методы анализа на высоком методическом уровне как в полевых, так и в лабораторных условиях и получать результаты с высокой достоверностью.

Проведена аккредитация лабораторий, как испытательных центров по диагностике особо опасных инфекционных и инвазионных болезней животных, пищевой безопасности, определению качества биоветпрепаратов, кормов и кормовых добавок в соответствии с требованиями СТ РК ИСО/МЭК 17025 (Аттестат аккредитации №KZ.И.02.1395 от 28.06.2013 г.). Получен комбинированный знак ИАС МРА и NCA, соответствующий международной аккредитации. Для подтверждения достоверности результатов аттестовано лабораторное оборудование, поверены средства измерения. Получено положительное заключение Департамента Комитета госсанэпиднадзора по г.Алматы на соответствие лабораторных помещений санитарным требованиям СанПин РК и РГКП «НПЦ санитарно-эпидемиологической экспертизы и мониторинга» КГСЭН МЗ РК на работу с микроорганизмами II, III, IV групп патогенности. Получено разрешение Режимной комиссии МЗ РК на проведение диагностических работ с микроорганизмами II, III, IV групп патогенности (разрешение №16-20 от 25.05.2013 г.). Внедрен стандарт СТ РК ИСО 9001-2009 «Система менеджмента качества. Требования» (Сертификат соответствия KZ.7500968.07.03.00007 от 18.07.2014г.). Проведена аттестация рабочих мест по показателям вредности условий труда, тяжести и напряженности трудового процесса в условиях лабораторий института. Проводится работа по подготовке документов к прохождению аккредитации института по стандарту ISO / IEC 17043 «Оценка соответствия. Общие требования к проверке квалификации». Получено свидетельство об аккредитации института (Серия МК №003480 от 04.09.2013г.) в качестве субъекта научной и (или) научно-технической деятельности. Получена государственная лицензия (№14011000 от 31.07.2014г.) на деятельность, связанную с оборотом прекурсоров. Получена государственная лицензия (KZA. 05/V-0005 от 12.05.2010г.) на производство и реализацию препаратов ветеринарного назначения. Получено разрешение Управления природных ресурсов и регулирования природопользования г. Алматы на эмиссии в окружающую среду.

Заклучены договора с профильными международными и отечественными организациями и референтными лабораториями о

совместной научной деятельности, совместному использованию передвижных лабораторий в полевых условиях с Республиканской ветеринарной лабораторией и Национальным референтным центром по ветеринарии.

В рамках выполнения Программы «Агробизнес-2020» по развитию системы ветеринарной безопасности учеными института с участием депутатов Мажилиса Парламента РК, представителей МСХ РК, ветеринарных специалистов областных управлений сельского хозяйства и территориальных инспекций, руководителей хозяйств агропромышленного комплекса РК в области животноводства, ученых в области ветеринарии проведены международные научно-практические конференции «Роль ветеринарной науки и практики в эффективном развитии животноводства», «Научные и практические основы борьбы с бруцеллезом животных», республиканское совещание на тему «Стратегия и тактика борьбы с ящуром животных в Республике Казахстан». На базе института с привлечением НИУ, ВУЗов, представителей МСХ РК и хозяйствующих субъектов в области животноводства организовано выездное заседание Комитета по аграрным вопросам Мажилиса Парламента Республики Казахстан по теме «Проблемы и перспективы обеспечения ветеринарной безопасности животноводства в РК». Целью мероприятия было обсуждение реализуемой политики государства в области обеспечения ветеринарной безопасности и стратегии развития ветеринарной службы в Казахстане. В рамках заседания состоялся плодотворный обмен мнениями, по результатам которого выработаны конкретные предложения и намечены мероприятия, нацеленные на дальнейшее развитие ветеринарной службы РК, научного и кадрового обеспечения отечественной ветеринарии. В текущем году проведена Международная научно-практическая конференция, посвященная 110-летию Казахского научно-исследовательского ветеринарного института «Интеграция науки и практики в обеспечении ветеринарного благополучия».

В рамках выполнения Мастер-Плана «Модернизация ветеринарной системы в Республике Казахстан в соответствии с международными стандартами» по обеспечению эпизоотического благополучия на территории республики проведен ретроспективный анализ по вспышкам особо опасных инфекций на территории РК и трансграничных территориях.

На основе анализа статистических данных КВКН МСХ РК и результатов исследований наших ученых проведено зонирование территории республики по степени напряженности эпизоотической ситуации (ящур, бруцеллез). Определены критерии рисков возникновения и распространения особо опасных инфекций на территории РК. Разработана «Стратегия и тактика борьбы с бруцеллезом в РК». Рассмотрена и утверждена на НТС МСХ РК. Разработана «Стратегия и

тактика борьбы с ящуром животных в РК». Рассмотрена и утверждена на НТС МСХ РК, доложена на региональном заседании МЭБ в г.Астане.

Заключен договор с МЭБ по оказанию Казахскому НИВИ научно-методической и технической помощи в проведении экспертной оценки научно-исследовательских программ института, разработке и валидации национальной программы по борьбе с ящуром, подготовке досье и заявки на получение статуса территории Республики Казахстан свободной от ящура.

К настоящему времени институтом разработана новая стратегия борьбы с ящуром, которая после всестороннего анализа зарубежных экспертов, в том числе Международного эпизоотического бюро (МЭБ), отечественных ученых и специализированных НИИ, а также практических ветеринарных специалистов, введена в практику. Мониторинг эпизоотической ситуации по ящуру, проведенный КазНИВИ после применения вакцины в рамках стратегии борьбы с болезнью показал, что в Казахстане, начиная с мая 2013 года, ящур в клинической форме не проявлялся и признаки циркуляции вируса ящура отсутствуют. Благодаря достигнутой благоприятной эпизоотической ситуации по ящуру составлено досье на территорию 9 областей, как зоны благополучной по ящуру без вакцинации, а также досье на территорию 5 областей, как зоны благополучной по ящуру с вакцинацией, для получения соответствующего для этих областей статуса МЭБ. Важно, что присвоение такого международного статуса даст Казахстану возможность экспортировать животных, сырье и продукты животноводства. Для нашей страны также важно, что благодаря достигнутому статусу мы можем экспортировать своих животных и продукцию на территорию соседней России.

Международное признание Казахстана как территории с благоприятной эпизоотической ситуацией по ящуру соответствует задаче, поставленной Главой государства в Послании народу Казахстана. Говоря *о развитии фермерства, Президент Н.А. Назарбаев указал на необходимость масштабной модернизации сельского хозяйства, особенно в условиях растущего глобального спроса на сельхозпродукцию:* «В результате я ставлю задачу перед нашим агропромышленным комплексом – стать глобальным игроком в области экологически чистого производства».

По результатам завершенных НИР институт принимает участие в различных государственных закупках и тендерах. По подпрограмме 052 «Диагностика заболеваний животных» ежегодно поставляются для РВЛ набор для диагностики эпизоотического лимфангоита лошадей в РДСК, питательная среда Левенштейна-Йенсена, набор для диагностики инфекционного эпидидимита баранов в РДСК. Разработки института имеют спрос и в странах ближнего зарубежья. Так, например, в 2012 году в Республику Азербайджан были поставлены диагностикумы: розбенгал-

антиген для ПРА при диагностике бруцеллеза животных и ППД-туберкулин для млекопитающих.

По итогам 2012-2014гг институтом разработаны 7 вакцин, 7 диагностикумов, 4 лечебных препарата, 2 дезосредства, 6 методов оценки качества и контроля безопасности продукции животноводства и кормов, сохранения и поддержания коллекционных штаммов, определения молекулярно-генетических маркеров, мониторинга опасных инфекционных и инвазионных болезней животных с применением ГИС-технологий. Зарегистрировано в государственном реестре ветеринарных препаратов РК 15 препаратов. Разработано 36 нормативно-технических документов (НТД) на препараты, разработанные сотрудниками института. Подготовлена 1 лицензия на использование изобретений института. Получено 116 охранных документов, подано 112 заявок на изобретения. Разработано 64 рекомендации и методических указаний. Опубликовано 29 сборников научных работ и монографий, 673 научных статьи, в т.ч. в международных цитируемых изданиях с IF 12 статей (J.Acta tropica, Veterinary parasitology et al.). Проведено 88 выступлений по телевидению и радио по актуальным вопросам ветеринарии. Проведено 942 экспертизы НТД на зарубежные препараты. Согласовано 52 нормативно-правовых документа по ТС, ЕАЭС, ветеринарно-санитарным правилам РК.

За свою 110-летнюю историю КазНИВИ выполнил и продолжает выполнять большое количество научных разработок. Их внедрение дает возможность держать под контролем эпизоотическую ситуацию в стране и обеспечивать казахстанцев качественной продукцией животноводства.

УДК: 620.266.1;637.07:636.92

## **РАСПРЕДЕЛЕНИЕ И НАКОПЛЕНИЕ 1,1 ДИМЕТИЛГИДРАЗИНА В ОРГАНАХ И ТКАНЯХ КРОЛИКА**

**Аутелеева Л.Т., Майканов Б.С.**

Казахский Агротехнический Университет имени С.Сейфуллина

**Резюме** В статье даны результаты накопления и распределения 1,1 диметилгидразина в органах и тканях кроликов, также результаты влияния 1,1диметилгидразина на качество мяса кроликов. Анализ полученных данных показывает, что степень накопления 1,1 диметилгидразина в органах и тканях различная. Мясо кроликов по органолептическим и физико-химическим показателям соответствовало мясу больных животных.

*Ключевые слова:* 1,1 диметилгидразин, ветеринарно - санитарная оценка, качество мяса



**Введение** В космической индустрии продолжается полувековое применение ракета-носителя тяжелого класса «Протон-М» с ракетным топливом – 1,1 диметилгидразин (несимметричный диметилгидразин НДМГ, гептил) имеющий 1 класс опасности. 1,1 диметилгидразин – обладает тератогенным, мутагенным, канцерогенным действием. В природе обладает кумулятивностью в почве, растительности, живых организмах и в любых предметах, а в глубине грунта он может сохраняться годами [1].

В организм гидразин и его производные могут проникать различными путями и их относительная токсичность не зависит от способов поступления. Они одинаково хорошо всасываются при подкожном, энтеральном, ингаляционном путях введения, а также при кожной аппликации. По сведениям некоторых авторов, гидразин, нанесенный на кожу собак, обнаруживался в плазме уже через 30 секунд. Максимальная его концентрация после нанесения на кожу достигалась через 1–3 часа [3]. Имеются сведения о токсическом воздействии 1,1-диметилгидразина (1,1 - ДМГ) и его производных на систему крови, морфологию печени и иммунную систему. По некоторым данным при остром отравлении нитрозодеметиламином количество белка в плазме крови снижается на 49,05%, в лимфе увеличивается в четыре раза, объем плазмы уменьшается на 24% [2]. Несмотря на достаточно большой объем исследований, проведенных с 1,1 диметилгидразином все еще остается целый ряд неясных моментов. В доступной литературе мы не нашли данных о воздействии 1,1 диметилгидразина на продуктивные качества животных, концентрации и распределение его в органах и тканях, вопросы качества и безопасности животноводческой продукции. Для решения выше перечисленных задач нами были проведены эксперимент с лабораторными животными (кролики). С целью выявления распределения и накопления 1,1 диметилгидразина в органах и тканях мы провели рекогносцировочные эксперименты с кроликами.

**Материалы и методика исследований** Экспериментальный токсикоз вызывали путем выпаивания кроликам дистиллированной водой в количестве 100 мл с примесью 1,1 диметилгидразина в течение 5 дней (многократное, хроническое воздействие). 98% 1,1 диметилгидразин ГСО (государственный стандартный образец), производитель Sigma Aldrich, Германия. Для работы с 1,1 диметилгидразином докторантом, были пройдены специальные курсы «Промышленная безопасность на опасных производственных объектах», с присвоением квалификации: «Персонал, допущенный к работе со СДЯВ и опасными веществами» и « Лицо, ответственное за безопасный прием, хранение и отпуск СДЯВ и опасных веществ». Первую группу (n=9) составили кролики, которым перорально вместе с дистиллированной водой вводили 98% 1,1 диметилгидразин в дозе 0,075 мг\кг живой массы, вторую группу (n=9) составляли контрольные животные. (Выписка из протокола этической комиссия №1 от 02.02.2015 г факультета Ветеринарии и технологии животноводства).

По истечению эксперимента на 6-й день провели декапитацию кроликов. Вскрытие кроликов проводили по методу Шора. Была проведена послеубойная ветеринарно-санитарная экспертиза туш согласно ветеринарно-санитарным правилам. Отбор проб для определения физико-химических и органолептических показателей производили по ГОСТ Р 51447-99 «Мясо и мясные продукты. Методы отбора проб». Содержание остаточного количества 1,1 диметилгидразина в мясе определены методом ионной хроматографии с амперометрическим детектированием МВИ №323 КЗ.07.0000951-2009).

**Результаты и обсуждение** По органолептическим показателям в опытной группе тушки были низкой упитанности. Во всех пробах на поверхности тушек наблюдалась слизь, тушки были от бледно розового до красного цвета, мышцы на разрезе влажные оставляли влажное пятно на бумаге, слегка липкие. Консистенция мышц дряблая при надавливании пальцем образующаяся ямка не выравнивалась. При пробе варкой мяса бульон имел запах от затхлого до гнилостного. Бульон мутный, с большим количеством хлопьев, с неприятным запахом. Тушки кроликов опытной группы по органолептическим показателям характеризовались как плохо обескровленные. Из съедобных внутренних органов печень была глинисто -темного цвета, кровонаполнена, дряблой консистенции, с очагами некроза (рисунок 1). Легкие были кровонаполнены, местами неоднородно окрашены, аллого цвета (рисунок 2). Следовательно, мясо кроликов по органолептическим показателям соответствовало мясу больных животных.



Рисунок 1 – печень кролика опытной группы



Рисунок 2 – легкие кролика опытной группы

Физико-химические показатели приведены в таблице 1. Как видно из таблицы 1 мясо кроликов получавших 1,1диметилгидразин имело рН  $6,54 \pm 0,17$  мг\кг и отличалось от мяса здоровых кроликов  $5,74 \pm 0,02$  мг\кг.

При определении аммиака и солей аммония (проба с реактивом Несслера) экстракт мяса опытной группы во всех пробах дал положительную реакцию, у контрольной группы - отрицательную. Также установлено достоверное увеличение летучих жирных кислот в опытной группе по сравнению с контролем. Их содержание в мясе составлял

5,76±1,47 мг\кг. При определении продуктов первичного распада белка во всех исследуемых пробах опытной группы реакция была-положительной, у контрольной - отрицательной.

Таблица 1 – Физико - химические показатели мяса кроликов

№ п\п	Показатели	Мясо кроликов	
		Опытная группа (n-9)	Контрольная группа (n-9)
1	рН мяса	6,54±0,17	5,74±0,02
2	Определение аммиака и солей аммония	во всех исследуемых пробах вытяжка желто-оранжевого цвета , быстро образуются хлопья, выпадающие в осадок	во всех исследуемых пробах вытяжка зеленовато-желтого цвета
3	Летучие жирные кислоты, мг, КОН	5,76±1,47	4,30±0,19
4	Определение продуктов первичного распада белков	во всех исследуемых пробах бульон мутнеет	во всех пробах бульон прозрачный

Как видно из таблицы 2 установлено, что при экспериментальном токсикозе, вызванном путем перорального введения кроликам 1,1 диметилгидразина с водой , обнаруживается практически во всех съедобных частях тушки кролика – грудных и бедренных мышцах, а также в печени, легких и почках. Однако степень накопления 1,1 диметилгидразина в органах и тканях различная. По количеству содержащегося 1,1 диметилгидразина органы и ткани можно расположить в определенной последовательности. Так, наибольшее количество 1,1 диметилгидразина накапливается в печени - 2,07±0,71 мг\кг, затем в легких -1,69±0,75 мг\кг, в почках-0,74±0,4 мг\кг. В грудных и бедренных мышцах 1,1 диметилгидразин содержится меньше. В грудных мышцах 0,13±0,02 мг\кг, в бедренных мышцах меньше 0,1±0,0 мг\кг.

Таким образом, из проведенных исследований видно, 1,1 диметилгидразин у кроликов больше накапливается в печени, легких, почках, меньше содержится в грудных и бедренных мышцах.

Таблица 2 - Накопление и распределение в органах и тканях

№	Наименование	Концентрация 1,1 диметилгидразина в мг\кг, М±m,	ПДК мг\кг
<i>Опытная группа - (n=9)</i>			
1	Печень	2,07±0,71	0,002 в органах и
2	Легкие	1,69±0,75	
3	Почки	0,74±0,4	

4	Грудные мышцы	0,13±0,02	тканях
5	Бедренные мышцы	0,1±0,0	
<i>Контрольная группа - (n=9)</i>			
1	Печень	-	0,002 в органах и тканях
2	Легкие	-	
3	Почки	-	
4	Грудные мышцы	-	
5	Бедренные мышцы	-	

**Заключение** Мясо кроликов по органолептическим показателям соответствовало мясу больных животных. 1,1 диметилгидразин при экспериментальном токсикозе накапливается в более высокой концентрации во внутренних органах кроликов: в печени - 2,07±0,71 мг\кг, затем в легких -1,69±0,75 мг\кг, в почках-0,74±0,4 мг\кг. В меньшем количестве он содержится в наиболее съедобных частях тушки: в грудных и бедренных мышцах 1,1 диметилгидразин содержится меньше. В грудных мышцах 0,13±0,02 мг\кг, в бедренных мышцах меньше 0,1±0,0 мг\кг.

Мясо кроликов характеризуется плохим обескровливанием, содержит повышенное количество аммиака и солей аммония, летучих жирных кислот и присутствие продуктов первичного распада белка в бульоне.

### Литература

1. Жубатов Ж.К. Экологическое нормирование ракетно - космической деятельности космодрома «Байконур» // Вестник Казахского национального технического университета им. К.И Сатпаева - 2008. - №3 (66). - С.13 – 18.

2. Saspugayeva G.Y., Khanturin M.R., Beysenova R.R. Dynamics of Plasma Proteins under the Influence of Hydrazine and Vanadium Oxide Derivatives // David Publishing. Journal of Environmental science and Engineering. - 2011. - N 9. - Vol.5. - P. 1155 - 1161.

3. Богданов Н.А. Патология, клиника и терапия поражений жидкими ракетными топливами. - Л.:ВМОЛА,1970. - С. 36 - 38.

### Сведения об авторах:

Аутелеева Л.Т. – докторант факультета «Ветеринарии и технологии животноводства», Казахский Агротехнический Университет имени С. Сейфуллина

Майканов Б.С. - доктор биологических наук, профессор, декан факультета «Ветеринарии и технологии животноводства», Казахский Агротехнический Университет имени С. Сейфуллина

### Түйін

## 1,1 ДИМЕТИЛГИДРАЗИННІҢ ҚОЯН АҒЗАЛАРЫМЕН ҰЛПАЛАРЫНДА ТАРАЛУЫ ЖӘНЕ ЖИНАЛУЫ

Аутелеева Л.Т., Майқанов Б.С.

С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті

Алынған мәліметтер бойынша 1,1 диметилгидразиннің ағзалармен ұлпаларда жиналу дәрежелі әртүрлі. 1,1 диметилгидразинмен жүргізілген тәжірибелік токсикозда қоян етінің сапасы сезімдік және физико-химиялық көрсеткіштері бойынша ауру мал етіне сәйкес келеді.

*Кілттік сөздер:* 1,1 диметилгидразин, ветеринарлық - санитарлық баға, еттің сапасы

### Summary

#### DISTRIBUTION AND ACCUMULATION OF THE 1,1 DIMETHYLHYDRAZINE IN THE ORGANS AND TISSUES OF RABBITS

Auteleyeva L.T., Maikanov B.S.

Kazakh AgroTechnical University named after S. Seifullin

The analysis of the obtained information shows that the degree of accumulation of 1,1 dimethyl hydrazine in organs and tissues is different. According to organoleptic and physicochemical indicators the rabbit meat under the experimental toxicosis by the 1,1 dimethyl hydrazine was the same as the diseased animal meat.

*Keywords:* 1,1 dimethylhydrazine, veterinary and sanitary assessment, quality meat

УДК 636.616.993.192

#### ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗРАБОТАННОГО СРЕДСТВА ПРОТИВ ЭКТОПАРАЗИТОВ И САРКОПТОИДОВ ЖИВОТНЫХ В ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Базарбаев М., Сулейменов М.Ж., Абуталип А., Дюсенов С.

Филиал «Карагандинская научно – исследовательская ветеринарная станция» ТОО «КазНИВИ»

**Резюме** В статье приводятся результаты НИР по разработке препарата против эктопаразитов и саркоптоидозов сельскохозяйственных животных в виде порошка или дуста и испытание ее эффективности в производственных условиях.

*Ключевые слова:* инсекто-акарацидное средство, псороптоз, акароз

**Актуальность** Повышение эффективности сельскохозяйственного производства является одним из важнейших шагов к улучшению экономики государства. Однако, распространение болезней, вызываемые эктопаразитами значительно снижают продуктивность крупного рогатого скот, особенно является весомой проблемой для молочного скотоводства.

В последнее время разработано и утверждено большое количество препаратов, предназначенных для борьбы с членистоногими [1,2].

Однако в большинстве случаев паразитические насекомые и клещи достаточно быстро приобретают устойчивость к используемым препаратам, что заставляет ученых разрабатывать и испытывать новые инсекто-акарицидные средства для борьбы с эктопаразитами животных.

Между тем, обработка животных методом орошения растворами инсекто-акарицидного средства при низкой температуре окружающей среды не всегда приемлемы. В связи с чем совершенствование методов лечения животных и профилактики эктопаразитозов остается актуальной проблемой.

Целью проводимых исследований явилось получение на основе Диазинона-С 60 средства против эктопаразитов и саркоптоидозов сельскохозяйственных животных в виде порошка или дуста и испытание ее эффективности в производственных условиях.

**Материалы и методы** Нами было изготовлено инсекто-акарицидное средство состоящее из действующего вещества О,О-диэтил-О-(2-изопропил-4-метил-6-пиримидил)-тиофосфата и относящееся к II классу токсичности (среднетоксичные вещества) по ГОСТ 51569 - 2000 и наполнителя гидрофобной инертной пыли относящееся к IV классу токсичности по ГОСТ 19113 и в качестве гидрофобизирующего вещества стеариновой или олеиновой кислоты по ГОСТ 19113 или канифоль, таллаловый (сосновый) по ГОСТ 14201.

В процессе работы были использованы, камера для восходящей хроматографии, пластинки Сорбифил УФ-254 размером 10x15 (ТУ 26-11-89) или пластинки Силуфол УФ-254, (бетономешалка) сито №1 или 2 химические стаканчики. Из реактивов: бензол, аммиак, вода очищенная.

После определения соответствия сырья сертификационным показателям, инсекто-акарацидное средство изготавливали следующим образом: определяли навеску гидрофобной инертной пыли, засыпали в смеситель (бетономешалка) и дробно, небольшими порциями капельным

методом добавляли жидкий «Диазинон» по АДВ, после чего смесь смешивали около 10-15 минут и оставляли на 30-40 минут.

Средство, изготовленное по вышеуказанной технологии, считали готовым, и испытывали на наличие кожно-резорбтивного действие в опытах на трех кроликах (вес 1,5-2 кг) и морских свинках (вес 250-300 г) путем однократных аппликаций средства на предварительно подготовленный без пигментный участок кожи животных. По продолжительности экспозиции - 4 часа и по характеру эритемы на месте аппликации оценивали кожно-резорбтивное действие средства. У животных на кожном покрове в месте аппликации средства никаких изменений не фиксировали.

Производственные опыты по испытанию инсекто-акарицидной активности средства проводили в животноводческих хозяйствах Бухаржырауского и Шетского районов Карагандинской области на 69 головах крупного, 22 головах мелкого рогатого скота, больных псороптозом и 12 головах свиней, пораженных акарозом.

**Результаты исследований** В КХ «ДАРНИН» с/о Акой Шетского района для испытания было отобрано 8 голов молодняка крупного рогатого скота в возрасте 9-12 месяцев с выраженной клиникой псороптоза (зуд, складчатость кожи, хариоптозной корочки, облысение). Диагноз на псороптоз был подтвержден при микроскопии соскобов, где в 2-х случаях были обнаружены клещи из рода *Psoroptes*.

Животные были изолированы и разделены на 2 группы: опытная, состоящая из 5 животных и контрольная - из 3-х животных. Животных опытной группы обрабатывали путем припудривания инсекто-акарицидным средством с последующим легким втиранием в кожу.

На 7-8 дни у 6 (75%) животных опытной группы наблюдали клиническое выздоровление, а у 2-х (25%) - клинические признаки все еще сохранялись (незначительный зуд, местами облысение). После повторной обработки и у этих животных к 5-6-му дню наступило полное выздоровление.

У животных контрольной группы наблюдали обострение течения болезни, и клинические признаки псороптоза стали более выраженными. В последующем эти животные также подвергались двукратной обработке инсекто-акарицидным средством. Результаты их лечения были положительными. У животных после первичной обработки на 8-10 дни наблюдали снижение интенсивности клинических признаков, а после повторной на 7-8 дни наступило полное выздоровление.

За время лечения у животных не наблюдали отклонений физиологического состояния от нормы (снижение аппетита, угнетение общего состояние, температура и т. д.).

В КХ «Куаныш» с/о Уштобе Бухаржырауского района для испытания было отобрано 11 голов больных псороптозом молодняка крупного рогатого скота в возрасте 12-14 месяцев.

Животные были изолированы и их обрабатывали путем припудривания инсекто – акарицидным средством с последующим легким втиранием в кожу пораженного участка. У 7 (63,6%) животных на 8-10 дни отмечали выздоровление.

При микроскопии соскобов от 3-х животных после лечения в поле зрения находили мертвых имаго, а также личинок с признаками деформации хитинового покрова, причем тела взрослых клещей были преимущественно засохшими.

У 3 (27,3%) животных клинические признаки сохранялись и их повторно обработали препаратом по вышеописанному способу. Выздоровление животных наступило на 7-8 дни после повторной обработки.

В КХ «Валентина» с/о Уштобе Бухаржырауского района для испытания было отобрано 12 голов свиней в возрасте 8-9 месяцев с выраженной клиникой акароз. При исследовании соскобов с пораженных участков кожи у 4 –х животных были обнаружены клещи из рода *Acarus*.

Животные были изолированы и разделены на группы: опытную - из 9 животных и контрольную - из 3-х животных. Перед обработкой животных провели туалет пораженных участков кожи. Расход препарата из расчета на 1 голову составил от 50 до 100 граммов.

На 7-8-ые дни у 6 (66,7%) животных опытной группы наблюдали клиническое выздоровление, а у 3-х (33,3%) - клинические признаки акароза все еще сохранялись (незначительный зуд, местами облысение). После повторной обработки к 6-му дню и у этих животных наступило выздоровление.

У животных контрольной группы наблюдали усиление зуда, следы расчесов, усиление гиперемии, местами трещины кожи с последующим выпотом клейкой прозрачной жидкости с прожилкой крови. В последующем их также обработали инсекто-акарицидным средством двукратно с интервалом 7 дней. У животных наступило выздоровление.

При повторной микроскопии соскобов от выздоровевших животных были обнаружены мертвые клещи и личинки. За время лечения у животных не наблюдали отклонений физиологического состояния от нормы, средство оказался безвредным и эффективным средством при лечении у свиней акароза. КХ «Валентина» с/о Уштобе Бухаржырауского района для испытания было отобрано 22 головы мелкого рогатого скота в возрасте 12-16 месяцев с выраженной клиникой псороптоза. Диагноз подтверждали путем исследования соскобов с пораженных участков кожи у 3 –х животных (по 1 пробе из каждой группы) под микроскопом непосредственно в хозяйстве. При микроскопии было обнаружено 3 экземпляра клещей из рода *Psoroptes*.

Животные были изолированы и разделены на опытную группу из 19 и контрольную группу - из 3-х животных. Перед обработкой проводили туалет пораженных участков кожи, шерсть вокруг пораженного участка



выстригали, удаляли высохшие корочки слепшей шерсти и т.д. Расход препарата из расчета на 1 голову составил от 50 до 80 граммов.

На 8-й день у 13 (68,4%) животных опытной группы наблюдали клиническое выздоровление, а у 6-х (31,6%) - клинические признаки псороптоза все еще сохранялись (незначительный зуд, местами облысение). После повторной обработки к 6-7-му дню и у этих животных наступило выздоровление. У животных контрольной группы наблюдали обострение течения болезни и клинические признаки псороптоза стали более выраженными. Наблюдались сильное беспокойство, зуд, кровоточащие трещины. В последующем их также обработали инсекто-акарицидным средством двукратно с интервалом 7 дней, в результате у животных наступило выздоровление.

При повторной микроскопии соскобов в поле зрения обнаружили мертвые клещи и личинки. Инсекто – акарицидное средство оказалось безвредным и эффективным средством при лечении накожной чесотки – псороптоза у мелкого рогатого скота.

**Выводы** Таким образом, нами разработано и испытано инсекто-акарицидное средство против эктопаразитов и саркаптоидозов сельскохозяйственных животных (СТ ТОО 071240018450-004-2014, согласован ГУ «Комитет Ветеринарного контроля и надзора» МСХ РК и утвержден генеральным директором ТОО «КазНИВИ» 06.05.2014г).

Лечебная эффективность инсекто – акарицидного средства при однократной обработке животных при псороптозе и акарозе достигает от 63,6% до 83,3%, при повторной обработке – до 100%.

Снижение интенсивности клинических признаков болезни после первичной обработки наступает 7-8-ые дни.

Инсекто–акарицидное средство является безвредным для сельскохозяйственных животных, не обладает кожно-резорбтивным действием для животных.

## Литература

1. Сулейменов М.Ж., Аманжол Р.А., Тулеуханов А. Қазақстандағы малдар паразитоздары. – А., 2011. - 363 с.
2. Шевцов А.А. Ветеринарная паразитология. - М., 1965. - 414 с.

## Сведения об авторах:

Базарбаев М. – доктор ветеринарных наук, доцент, главный научный сотрудник филиала «Карагандинская НИВС» ТОО КазНИВИ»

Сулейменов М.Ж. – кандидат ветеринарных наук, доцент, зам. генерального директора по науке РГП «Институт зоологии» КН МОН РК

Абуталип А. - доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник отдела эпизоотологического мониторинга и оценки рисков бактериальных и паразитарных болезней животных ТОО «КазНИВИ»

Дюсенов С. - кандидат ветеринарных наук, директор филиала «Карагандинская НИВС» ТОО КазНИВИ»

### **Түйін**

## **ЖАНУАРЛАР ЭКТОПАРАЗИТТЕРІ МЕН САРКОПТОИДОЗЫНА ҚАРСЫ ЖАСАЛЫНҒАН ДӘРМЕКТИҢ ӨНДІРІС ЖАҒДАЙЫНДАҒЫ ТИІМДІЛІГІ**

Базарбаев М., Сүлейменов М.Ж., Әбутәліп Ә., Дүйсенов С.

«Қарағанды ғылыми-зерттеу ветеринария станциясы» Қазақ ҒЗВИ ЖШС филиалы  
«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада жануарлар эктопаразиттері мен саркоптоидозына қарсы ұнтақ немесе дуст түрінде жасалынған дәрмектің өндіріс жағдайындағы тиімділігі туралы баяндалады.

*Кілттік сөздер:* инсекто-акарацидтік дәрмек, псороптоз, акароз

### **Summary**

## **EFFICIENCY OF THE DEVELOPED REMEDY AGAINST ECTOPARASITES AND SARCOPTIC MANGE OF ANIMAL IN PRODUCTION CONDITIONS**

Bazarbaev M., Suleimenov M.J, Abutalip A., Dyusenov S.

Branch «Karaganda Scientific - Research Veterinary Station»  
LLP «Kazakh scientific research veterinary institute»

The article presents the results of research work on the development of drugs against ectoparasites and sarcoptic mange farm animals in the form of powder or dust and test its effectiveness in a production environment.

*Keywords:* insecto-acaricide remedy, common scab, akaroz

УДК 619:636.2:618.14.002

## **МОНИТОРИНГ ЭНДОМЕТРИТОВ У КОРОВ В УСЛОВИЯХ МОЛОЧНО ТОВАРНЫХ ФЕРМ АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ**

**Горелов Ю.М., Телелева М.В.**

## ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме** В ветеринарной практике крупных молочно-товарных фермах Алматинской области большое распространение получили заболевания половой сферы в частности, эндометриты, развивающиеся в послеродовой период у коров.

*Ключевые слова:* крупный рогатый скот, эндометрит, мониторинг

**Введение** Заболевания половой сферы препятствуют увеличению молочной продуктивности и повышению плодовитости крупного рогатого скота [1-4]. Нормальное завершение послеродового периода у коров создает благоприятные предпосылки для оплодотворения самок в физиологические сроки. При болезнях, осложняющих течение послеродового периода, происходит значительное смещение сроков осеменения и оплодотворения, а у части самок возникают бесплодие, яловость, этому способствуют необратимые структурные изменения в репродуктивных органах [2]. Одной из основных причин текущего бесплодия коров являются гинекологические заболевания: метриты, маститы и патологии яичников (гипофункции, фолликулярные кисты, персистентное желтое тело). Согласно принятой на сегодняшний день градации, болезни органов размножения относят к незаразной патологии. Установлено, что доля этих болезней в нозологическом профиле незаразных болезней (заболевания органов пищеварения, дыхания; травмы; отравления и т.д.) составляет 46-48% [4]. В настоящее время в производственных условиях используется много методов терапии и профилактики гинекологических заболеваний у коров, но они не всегда оказываются эффективными в условиях интенсивного использования маточного поголовья даже при оптимальных условиях содержания и кормления [5]. Такая ситуация ставит задачи совершенствования комплекса технологических и ветеринарно - профилактических мероприятий, направленных на устранение основных причин текущего бесплодия.

**Материалы и методы исследований** Материалом для исследований явились данные ТОО «Байсеке-Агро», ТОО П/З «Алматы» Талгарского района и КХ ИП «Қаншайым» Каскеленского района Алматинской области, а также результаты акушерско-гинекологической диспансеризации за три последних года (2012-2014). При анализе воспроизводительной способности животных оценивались следующие показатели: выход телят (голов), количество абортос (голов), количество гинекологических больных животных (голов). Были взяты пробы сыворотки крови у 20 контрольных животных для биохимического исследования в разное время года.

**Результаты и обсуждение** По результатам акушерско-гинекологической диспансеризации коров в послеродовой период

установлено, что за три года в ТОО П/З «Алматы» заболеваемость послеродовым эндометритом составила в среднем 10,5%: 2009 — 6,62; в 2012 г. — 17,65%; в 2013 — 7,21%. В хозяйстве в результате регулярного клинико-гинекологического обследования за 2014 г. были выявлены патологии органов размножения у 122 коров, в том числе эндометриты — у 49, субинволюция и атония матки — в 2 случаях, задержание последа — у 71 животного. Необходимо отметить, что в большинстве случаев регистрировали гнойно - катаральную форму эндометрита. В возрастном аспекте чаще послеродовой эндометрит диагностировали у первотелок. В наблюдениях установлено, что послеродовым эндометритом коровы переболевают в течение года неравномерно. Наибольшее количество коров, больных эндометритом, зарегистрировано в марте и мае месяцах, пик заболеваемости отмечался в апреле (45%). Наименьшее количество больных животных к числу отелившихся зарегистрировано в июле, ноябре и декабре (5-14%). Видовой состав микрофлоры, вызывающей неспецифическое воспаление эндометрия, довольно разнообразен. Из бактерий преобладают диплококки, стрептококки, стафилококки, протей, кишечная и синегнойная палочки. В большинстве случаев в экссудате обнаруживали различные ассоциации патогенных бактерий. Основными причинами субинволюции матки в хозяйстве явились длительное отсутствие моциона, особенно во второй половине стельности, патологические роды, нарушение кормления. Субинвалиция матки у коров регистрировалась чаще всего в зимне-весенний стойловый период содержания. В условиях крупных промышленных ферм, таких как ТОО «Байсерке-Агро», эта патология матки является наиболее распространённой из всех послеродовых заболеваний у коров. Важнейшим фактором роста производства молока и мяса является увеличение выхода телят на 100 коров. Используя опыт передовых животноводов Республики Казахстан, можно получить от каждой телки в 28-месячном возрасте и от каждой коровы через каждые 300 дней по одному телёнку. Биологические возможности животных позволяют получать в каждом хозяйстве ежегодно в расчёте на 100 коров по 100 телят и более. Считается, что при хорошей работе по репродукции стада с использованием искусственного осеменения оплодотворяемость от первого введения семени должна составлять 60-70%, а индекс осеменения - 1,5. При анализе воспроизводства коров в Алматинской области процент плодотворного осеменения достигал 44, а индекс — 2,15, что является негативным показателем. Для корректировки репродукции в постнатальный период у коров нами была предложена схема проведения ранней акушерско-гинекологической диспансеризации. На первом этапе работа была направлена на профилактику постнатальных осложнений. С этой целью во время родового акта корове-роженице по возможности выпаивались околоплодные воды. В первые сутки после отела назначали аутогемотерапию в дозе 50 мл или аутомолозивотерапию в дозе 20 мл. На третий день проводили клиническую диагностику скорости инволюции

матки, используя ректальный метод. При вагинальном исследовании определяли сужение просвета канала шейки матки и наличие выделения лохий. При подозрении на развитие патологического процесса проводили лабораторные исследования с целью диагностики субклинической формы эндометрита. При положительном диагнозе назначали терапевтическую схему с использованием маточных свечей и стимулирующих препаратов. Патологии органов воспроизводства коров представлены в таблице 1.

Таблица 1- Основные показатели воспроизводства стада

Год	Сервис период, дней	Выход телят на сто коров,%	Аборты, гол.	Мертворождаемость, гол	Количество коров, переболевших гинекологическими заболеваниями, гол
2012	80	85	2	10	121
2013	79	79	0	38	98
2014	82	90	1	46	225

Из таблицы 1 следует, что выход телят на 100 коров составляет не более 82 телят, количество мертворожденных увеличивается и за последний год достигло 46, количество коров, больных гинекологическими заболеваниями также возросло и составило в 2014 году 225 голов.

На 6-й день проводили повторное комплексное исследование животных для определения динамики инволюции внутренних половых органов коров, при этом особое внимание уделяли рассасыванию желтого тела беременности.

Завершающее исследование матки проводили на 10-й день после отела. В этот период при пальпации матки через прямую кишку на месте карбункулов прощупывали небольшие сосудистые клубочки, что свидетельствует о нормальной инволюции. Следовательно, такое животное перемещали из родильного отделения и направляли в производственных участок. В случае обнаружения патологических состояний животным назначали интенсивную терапию.

Плодовитость коров зависит не только от оплодотворяемости при их осеменении, но и от эмбриональной смертности. Оплодотворение у коров после осеменения может достигать 90%, но из-за гормональной недостаточности яичников, недостаточной секреторной активности эндометрия зародыш погибает у 25%.

Для стимуляции стадии возбуждения полового цикла у коров апробировали следующую схему: на 1-й и 8-ой дни вводили препарат Стимулл в дозе 20 см<sup>3</sup> на 350 кг веса животного. На 8-й день полового цикла коровам вводили некробактерин в дозе 20 см<sup>3</sup> на 500 кг живой массы; на 10-11-й день проводили искусственное осеменение коров. У коров, оставшихся бесплодными, через 21-23 дня появлялись полноценный половой цикл. Животных можно было осеменять без гормональной

обработки. При применении ранней акушерско-гинекологической диспансеризации в опытной группе коров оплодотворяемость от первого осеменения составила 46,1%; общая оплодотворяемость - 96,2%; индекс осеменения -  $1,71 \pm 0,19$ ; срок восстановления половой цикличности -  $44,6 \pm 1,81$  день; период от отела до оплодотворения -  $65,3 \pm 3,74$ . В большинстве случаев эндометриты возникают в результате травмирования и инфицирования матки при родах, задержании последа, аборт и т.д. Немаловажное значение имеют предрасполагающие факторы: неполноценное кормление, преобладание кислых кормов, минерально-витаминная недостаточность. Биохимические исследования сывороток крови коров, проведенные от 12 февраля 2013 года, показали содержание в крови ниже нормы следующих показателей: каротин - 8 проб (80%); кальций - 1 проба (10%); резервная щелочность - 8 проб (80%); витамин Е - 4 пробы (100%); выше нормы: кальций - 1 проба (10%); фосфор - 2 пробы (20%); магний - 10 проб (10%). Содержание общего белка отмечалось в пределах физиологической нормы. Кетоновые тела в сыворотках крови коров не обнаруживались. Анализ физико-химических показателей сыворотки крови, проведенный коров 3 декабря 2010 г., показал содержание ниже нормы следующих показателей: каротин - 3 пробы (30%); кальций - 9 проб (90%); фосфор - 3 пробы (30%); магний - 4 пробы (40%). Кетоновые тела в сыворотках крови коров не обнаружены, витамин Е регистрировался в пределах физиологической нормы. Для профилактики алиментарного бесплодия предложено применение концентрированного витаминного премикса «Фелуцен». В результате применения премикса в сыворотках крови коров, исследованных 10 января 2014 года, отклонений биохимических показателей от физиологической нормы не обнаружено. Важным аспектом комплексной программы интенсификации воспроизводства крупного рогатого скота является гормональный статус органов репродуктивной системы коров. В результате, в среднем по молочно-товарным фермам Алматинской области гормональные препараты для эффективного восстановительного процесса необходимо назначать 46-66,5% коров, содержащихся в крупных молочных фермах. Во многих животноводческих хозяйствах Алматинской области к решению проблемы активизации полового цикла подходят целенаправленно, считая, что введение синтетических аналогов женских половых гормонов сразу решит все проблемы. В результате без точного диагноза невозможно составить эффективную схему проведения лечения болезней половой сферы коров, приводящих к бесплодию. На первом этапе необходима постановка точного диагноза. Для проведения клинической диагностики гинекологических патологий коров только визуального метода недостаточно. Для подтверждения гормональных нарушений, ведущих к бесплодию самок, необходимы современные методы исследования.

**Заключение** Современные методы диагностики возбуждения полового цикла самок и гинекологических патологий, а также внедрение

современных ветеринарно - зоотехнических приемов повышают эффективность репродукции коров.

### Литература

1. Зюбин И.Н. Патогенетические аспекты, терапия и профилактика метритов у коров и телок. - Новосибирск, 2001. - 190 с.
2. Животягина Е.В. Цитологическая диагностика субинволюции матки у коров в послеродовой период // Современные проблемы и достижения аграрной науки в животноводстве, растениеводстве и экономике. Сб. науч. тр. регион. науч.-практ. конф. - Томск, 2004. - Вып. 7. - С. 69 - 73.
3. Полянцев Н.И. Ветеринарное акушерство и биотехника репродукции животных. - Ростов-на-Дону: Феникс, 2001. - 480 с.
4. Никоноров П.Н. Проблемы бесплодия и маститов животных. - Новосибирск, 1999. - 320 с.
4. Федоров С.В., Симонов П.Г. Мониторинг гинекологических болезней // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2011. - №9. (83)
5. СТ 1114-2002. «Эндомет»-препарат для лечения эндометритов. Технич. условия. - Введ. 2002-29-12-02. - Астана: Госстандарт РК. - 30 с.

### Сведения об авторах:

Горелов Ю.М. – доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Телелева М.В. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

### Түйін

#### АЛМАТЫ ОБЛЫСЫНЫҢ ТАУАРЛЫ СҮТ ФЕРМАСЫНЫҢ ЖАҒДАЙЫНДАҒЫ СЫЫРЛАРДЫҢ ЭНДОМЕТРИТІНІҢ МОНИТОРИНГІ

Горелов Ю.М., Телелева М.В.

«Қазақ ғылыми - зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Гинекологиялық ауытқуларды және ұрғашы сиырлардың күйлеу кезеңінің қозуын заманауи әдістермен балау, сол сияқты заманауи ветеринарлық-зоотехникалық шарттарды енгізу сиырлардың көбеюінің тиімділігін жоғарылатады.

*Кілттік сөздер:* ірі қара мал, эндометрит, мониторинг

## **Summary**

### **MONITORING ENDOMETRITIS IN COWS IN THE CONDITIONS MILK FARM ALMATY REGION**

Gorelov J. M., Telelyaeva M. V.

LLP «Kazakh scientific research veterinary institute»

In veterinary practice, large dairy farms of Almaty region received widespread diseases of the sexual sphere in particular, endometritis, developing postpartum cows.

*Keywords :* cattle, endometritis, monitoring

УДК 619: 618.2:636.2: 636.9.22/28

### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПЫТАНИЙ ПРЕПАРАТА « ЭНДОМЕТ- СТИМУЛ»**

**Горелов Ю.М, Телеляева М.В.**

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме** На поголовье 309 голов коров с патологиями органов воспроизводства показана лечебная эффективность препарата «Эндомет» при острых и хронических эндометритах (50-88%), метритах (90%), болезнях яичников (80%), задержании последа (100%). Препарат стимулирует половую охоту у самок (86%).

*Ключевые слова:* эндометрит, микрофлора, антибиотики

**Введение** Эндометриты ( воспаление слизистой оболочки матки) являются наиболее распространенными заболеваниями маточного поголовья всех видов сельскохозяйственных животных. На их долю приходится до 60% от всех патологий органов размножения. Причинами эндометритов могут быть незаразная и инфекционная патология репродуктивных органов. Они возникают при патологических родах, при неправильной подготовке маток к родам, включая не сбалансированное кормление по макро-микро элементам и витаминам, при несоблюдении зоогигиенических норм по содержанию животных или при наличии воспалительных процессов в близлежащих органах, а также при наличии других факторов.

Инфекционные эндометриты возникают на фоне инфекционных



болезней (кампилобактериоз, хламидиоз, бруцеллез, сальмонеллез и др.).

В зависимости от этиологического фактора лечение эндометритов направлено на устранение основной причины и на обеспечение перманентной эвакуации содержимого матки [1, 2,].

Из общих средств терапии эндометритов применяют внутриматочно антибиотики широкого спектра действия в различных формах, сульфаниламиды, промывание дезинфицирующими растворами и др. Однако, вышеперечисленные манипуляции трудоемки, дорогостоящие и не редко малоэффективны. Было выявлено, что многие антибактериальные средства обладают раздражающим действием и вызывают некроз эндометрия. Эти вещества оказывали влияние и на длительность цикла и угнетали самостоятельный защитный механизм матки [2, 3,4].

Комплексных средств лечения эндометритов, направленных как на местное воздействие, так и на организм в целом, нами не выявлено. Все это послужило основанием к разработке нового подхода, обеспечивающего эффективность лечения и профилактику болезней репродуктивных органов маточного поголовья.

Одним из основных факторов, определяющих эффективность и рентабельность животноводства является воспроизводство. Сокращение послеродового периода является одним из способов достижения этой цели. Однако, очень часто после родов у маточного поголовья животных возникают эндометриты, метриты, циститы и другие патологии в органах воспроизводства, которые удлиняют сроки послеродового периода, препятствуют появлению половой охоты у самок и полноценному оплодотворению. Данной проблеме посвящены научные труды многих отечественных и зарубежных исследователей. Однако, до настоящего времени нет единого мнения по поводу этиологии и патогенеза эндометритов у коров и рациональных методов их купирования. Многие считают, что основными причинами широкого распространения эндометритов являются недостатки организационно-экономического, технологического, технического, селекционно-генетического и ветеринарно-санитарного характера. Экономический ущерб причиняемый эндометритами выражается в перегулах маток, абортах, бесплодии, снижении молочной продуктивности, преждевременной выбраковке коров и недополучении телят, неполноценного использования генетического потенциала маточного поголовья [2,5]. Остаются слабо изученными вопросы причин снижения половой охоты у самок. Более того, при применении новых лекарственных средств не всегда учитывают их влияние на иммунобиологическую реактивность организма, что является причиной низкой эффективности проводимых лечебно-профилактических мероприятий при данных патологиях

**Результаты и обсуждение** Работа выполнялась в 2015г в отделе по разработке и внедрению ветеринарных препаратов ТОО «КазНИВИ» и хозяйств Алматинской области на коровах и телках 16-20 месячного возраста алатауской и черно-пестрой пород.

Для проведения производственных испытаний было изготовлено 10 литров (1000 доз) препарата «Эндомет-стимул» в соответствии с регламентированными документами, предпатент РК № 14164.

Изготовленный препарат «Эндомет-стимул» отвечал поставленным целям и имел следующие физико-химические показатели, таблица 1.

Таблица 1– Физико-химические и биологические свойства препарата «Эндомет»

п	Наименования показателя	Характеристика и норма
	Внешний вид, цвет	Однородная маслянистая жидкость, темно-коричневого цвета
	Массовая доля: ихтиол, % глюкоза, % аскарбиновая кислота,% спирт этиловый , % фуразолидон,% этоний, % стимулирующие и нейротропные вещества, %	 2,0-4,0 4,0-6,0 1,0 -3,0 1,0 -3,0 2,0- 4,0 0,5-1,5  0,02 -0,04
	Концентрация водородных ионов (рН)	2,6 ± 0,2
	Стерильность	Стерильный
	Безвредность	Безвредный

Из данных таблицы 1 видно, что «Эндомет» стерильный и безвредный препарат, содержит антимикробные, стимулирующие и нейротропные вещества.

Результаты лечебной эффективности данного препарата оценивали по срокам наступления половой охоты у самок, и по результатам осеменения животных. Препарат вводили глубоко внутримышечно в область кресцовых мышц в дозе 10-15 мл однократно. Повторные инъекции препарата проводили через 6-12 часов при задержании последа, через 24-36 часов при лечении эндометритов, метритов и через 36-48 часов -для стимуляции половой охоты у самок.

В первом опыте испытание препарата «Эндомет» проводили в в кх «Айдарбаева», Алматинской области. Проведенные опыты показали, что 30-40 % животных с диагнозом серозный и катаральный эндометрит приходят в половую охоту на 3-5 сутки, после 1-2 кратного введения препарата «Эндомет». С диагнозом хронический эндометрит (18 голов), препарат применяли от 3 до 6 раз ( согласно наставлению по применению ). Было осеменено 12% животных в первые 10 дней и 7 голов в течение 30-40 дней.

У животных с диагнозом метрит, а также при болезнях яичников, атонии матки и прочих болезнях органов воспроизводства эффективность

составила 50-80 %. Препарат «Эндомет» обладает лечебными и стимулирующими свойствами на репродуктивные органы животных. Из 230 голов находящихся в опыте, пришло в половую охоту и осеменено 176 животных (78%). Наилучший эффект получен при лечении эндометрита в острой форме, метрита, болезнях яичников, где выздоровление животных составило 75-80%. Низкий эффект (50%), получен при лечении эндометритов в хронической форме.

Экономический эффект от применения препарата на 230 животных составил:

$230 \times 196,9 = 45218$  тенге, или в расчете на одно животное- 196,9 тенге.

где: 230 количество животных в опыте;

196,9- разница в стоимости затраченных средств на лечение в опытной и контрольной групп животных .

Во втором опыте испытание препарата «Эндомет» были проведены в СХПК п/з «Алматы», Талгарского района Алматинской области. Клиническое обследование животных и ректальные исследования выявили 106 голов коров с различными патологиями органов воспроизводства, которые имели перегулы от 60 дней до 1,5 лет. В опыте находилось 74 головы крупного рогатого скота, с патологиями органов воспроизводства и 88 животных, в основном нетели, для стимуляции половой охоты. Препарат «Эндомет» оказывает высокий терапевтический эффект: при лечении острых (88%) и хронических (61%) эндометритов. При метритах, выздоровление составило 90% животных, из 10 животных в опыте. При болезнях яичников, которые занимают 6-13% от всех патологий органов воспроизводства и проявляются в различной форме и тяжести течения воспалительного процесса, наиболее легко выздоравливали и приходили в половую охоту на 20-25 дни животные с гипофункцией яичников, при оплодотворяемости 75-84%. При гидрофильности яичников и фолликулярных кистах яичников лучшие результаты получены при хирургическом и затем стимулирующим воздействием препаратом Эндомет. Выздоровление животных в этой группе составило 80%.

Наиболее эффективно применение препарата «Эндомет-стимул», 1-2 кратно с интервалом 6-12 часов при задержании последа. Во всех пяти случаях отмечено отделение последа без дополнительного вмешательства.

Для стимуляции половой охоты и последующего осеменения животных, «Эндомет» вводили внутримышечно 1-2-х кратно с интервалом 36-48 часов. Из 88 опытных животных пришло в охоту и осеменено 75, или 86%. Установлено, что наиболее эффективно применение препарата с учетом полового цикла животного, т.е за 1-2 дня до его проявления.

**Результаты и обсуждение** Из результатов испытания препарата «Эндомет-стимул» в производственных условиях установлено, что препарат обладает лечебными и стимулирующими свойствами на репродуктивные органы животных. Под действием препарата «Эндомет»

стимулируются биологические процессы в организме коров, активизируется выработка прогестерона, усиливается функция эндометрия и создаются оптимальные условия для оплодотворения.

Установлено, что наиболее чувствительными к препарату животные черно-пестрой масти, особенно при одномоментном введении внутримышечно дозы в 15 мл препарата. В этих случаях, животные резко реагировали, появлялось слюнотечение, позывы к дефекации, дрожь, потливость. В дальнейшем, животным черно-пестрой масти, дозу препарата в 15 мл, вводили дробно с интервалом 10-15 минут.

Подсчитанный экономический эффект от применения препарата в этом опыте на 74 животных с патологиями органов воспроизводства, составил 210 тенге в расчете на одно животное.

**Заключение** Препарат «Эндомет-стимул» обладает высокими лечебными свойствами при эндометритах, метритах и болезнях яичников (75- 80 %), а также при задержании последа у коров. Препарат оказывает стимулирующее действие на появление половой охоты у самок.

### **Литература**

1. Михайлов Н.Н. Антисептики, применяемые в гинекологии , текст /Ветеринария,-1973.-№ 3.-С.82-83.
2. Григорьева Т.Е. Лечение и профилактика эндометритов у коров. М. Росагропромиздат.-1988.-63 с.
3. Патент РФ 32108784, 20.04.98 г. Способ профилактики и лечения эндометритов у коров /Куклин, А.Д., Косорлукова, З.Я./.
4. Патент РФ № 2164407, опубл. 20.11.2000. Способ лечения и профилактики воспалительных заболеваний органов половой сферы у коров /Попов, Ю.И., Лимаренко, А.А., Турченко, А.Н./.
5. Патент РФ (заявка) 2000113775/13, 30.05.2000, опубл. 20.03.2002. Препарат для профилактики и лечения эндометрита / Гуськов, А.М., Мамаев, А.В., Давыдов, А.Н., Масалов, В.Н., Кузнецов, Ю.В./.

### **Сведения об авторах:**

Горелов Ю.М. - доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Телелеева М.В. - кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

### **Түйін**

**«ЭНДОМЕТ-СТИМУЛ» ДӘРМЕГІН СЫНАҒАНДА АЛЫНҒАН  
НӘТИЖЕЛЕР**

Горелов Ю.М, Телеляева М.В.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Өсіп-өну ағзаларының аурулары тіркелген 309 бас сиырға «Эндомет» дәрмегін қолданғанда, тиімділігі жіті және созылмалы эндометриттерде (50-88%), метриттерде(90%), аналық бездің қабынуында(80%), шуы кідіргенде(100%) жоғары болды. Сонымен қатар дәрмек аналық малдардың күйінде үдетеді(86%).

*Кілттік сөздер:* эндометрит, микрофлора, антибиотиктер.

### **Summary**

#### **TEST RESULTS OF DRUG "ENDOMET-STIMULUS"**

Gorelov Ur.M., Telelyayaeva M. V.

LLP «Kazakh scientific-research veterinary institute»

On population 309 cows with pathology of reproduction shows therapeutic efficacy of the drug "Endomet" acute and chronic endometritis (50-88%), metritis (90%), diseases of the ovary (80%), the detention afterbirth (100%). The drug stimulates sexual libido in females (86%).

*Key words:* endometritis, microflora, antibiotiks

УДК 619:618.7:636.2

#### **СОПОСТАВЛЕНИЕ МИКРОБНОГО ПЕЙЗАЖА СОДЕРЖИМОГО МАТКИ И СЕКРЕТА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КОРОВ ПРИ ПОСЛЕРОДОВОЙ ПАТОЛОГИИ**

**Горелов Ю.М., Телеляева М.В.**

ТОО «Қазақстан ғылыми-зерттеу ветеринария институты»

**Резюме** Исследованные пробы содержимого матки коров, больных эндометритом, содержали ассоциации микроорганизмов, тогда как большинство изолятов из секрета молочной железы были представлены в монокультуре.

*Ключевые слова:* микрофлора, эндометрит, коровы

**Введение** Одними из главных факторов, тормозящим рост молочной продуктивности коров и снижающим санитарное качество молока на

молочно-товарных фермах, являются патологические процессы в молочной железе и матке коров. В основном заболевания обусловлены патогенностью специфической и неспецифической микрофлоры, способной при понижении резистентности организма животных провоцировать субинволюцию матки, задержание последа, эндометрит, мастит и другие болезни, обусловленные нарушениями ветеринарно-зоотехнических правил, послеродовыми осложнениями и травмами [1]. Патогенная микрофлора, проникая через железистую ткань вымени, попадает в кровь, а далее - в гениталии. В 60-80% случаев у больных коров при тщательном осмотре можно выявить скрытую форму мастита и эндометрита [2,3]. При послеродовом гнойно-катаральном эндометрите в содержимом матки чаще выявляют ассоциацию *Streptococcus pyogenes* и *Proteus spp.*, при гнойном – ассоциацию *Str. pyogenes*, *Escherichia coli*, *Streptococcus*, и *Mannheimia haemolytica* [4,5]. При маститах наиболее часто выделяют *Streptococcus agalactiae* и *Streptococcus disgalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* и *Pseudomonas aeruginosa* [3]. Поэтому заключительным этапом при постановке диагноза при маститах и эндометритах являются микробиологические исследования.

Целью настоящего исследования явилось изучение видового состава микрофлоры содержимого матки и секрета молочной железы коров при сочетанной патологии этих органов.

**Материал и методы исследований** Объектами исследований служили коровы черно-пестрой породы в возрасте от 2 до 8 лет, массой тела от 550 до 600 кг, с годовой молочной продуктивностью до 5000 кг. Всего исследовано 150 коров с симптомами эндометритов и маститов в хозяйствах Талгарского и Енбекшиказахского районов Алматинской области. Для изучения видового состава микрофлоры содержимого матки и секрета молочной железы коров с острым послеродовым эндометритом и маститом нами было отобрано 22 пробы экссудата из матки и 34 пробы молока от 32 животных. При проведении исследований использовали общепринятые методы бактериологических исследований. Посев микрофлоры проводили на жидкие, плотные и элективные питательные среды. Для идентификации выделенных микроорганизмов после изучения их культурально-морфологических и биохимических свойств использовали «Определитель бактерий Берджи» (1997) [6]. Патогенность выделенных культур определяли постановкой биопробы на белых мышах массой 16-18 г (n=52) путем внутрибрюшинного введения 0,2-0,3 см<sup>3</sup> суточных бульонных культур в концентрации 1,0×10<sup>9</sup> м.т. по оптическому стандарту мутности.

**Результаты и обсуждение** В результате проведенных исследований установлено, что на двух молочно-товарных фермах с поголовьем около 1500 коров в структуре общей заболеваемости коров акушерско-гинекологическими болезнями удельный вес маститов составил 21% (315 голов). Заболеваемость коров послеродовыми эндометритами, в зависимости от сезона года, колебалась от 13 (195 гол.) до 27% (405 гол.).

При патологии гениталий и молочной железы микробиоценоз был представлен смешанной условно-патогенной микрофлорой, которая по культурально – морфологическим и биохимическим свойствам отнесена к девяти родам: *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Proteus*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Candida* (таблица 1).

Таблица 1 – Микрофлора, выделенная от коров при послеродовых эндометритах и маститах

№	Выделенные микроорганизмы	Исследуемые пробы	
		Секрет вымени	Содержимое матки
1	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	+
2	<i>Escherichia coli</i>	+	+
3	<i>Candida</i>	-	+
4	<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	-
5	<i>Klebsiella pneumonia</i>	+	+
6	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+
7	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+	+
8	<i>Streptococcus agalactiae</i>	+	-
9	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-	+
10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	+
11	<i>Proteus vulgaris</i>	+	+

Из таблицы 1 видно, что при бактериологическом исследовании проб содержимого матки коров, больных эндометритом, что все 22 пробы (100%) содержали ассоциации микроорганизмов. В процентном отношении наиболее часто изолировали кокковую (*Strep. epidermidis* - 26%, *Staph. aureus* - 14%, *E. faecalis* -17%, *Strep. pyogenes* – 4,0%) и кишечную микрофлору (*E. coli* - 17%, *P. vulgaris* - 7%), синегнойную палочку (*Pseudomonas aeruginosa* - 7%), (грибы рода *Candida* - 7%), *Klebsiella oxytoca* и *Kl. pneumonia* 1%.

Изоляты, выделенные от коров, не обладали патогенностью для белых мышей. При определении антибиотикорезистентности выделенных культур было установлено, что микроорганизмы обладали высокой чувствительностью к гентамицину, стрептомицину и проявляли резистентность к цефазолину, тилозину и энрофлоксацину.

При бактериологическом исследовании 34 проб секрета вымени коров, больных маститом, также была выделена преимущественно кокковая микрофлора. В 90% проб были выделены следующие микроорганизмы: *Strep. agalactiae* (24,3%), *Staph. aureus* (23%), *Strep. epidermidis* (11,4%), *E. coli* (11,4%), *P. vulgaris* (7,14%), *Kl. pneumonia* (4,3%), *Strep. haemolyticus* (2,8%). Большинство (70%) изолятов представлены в монокультуре, остальные 20% - в виде ассоциаций стафилококков с иерсиниями, протеем или кишечной палочкой. 10% проб молока были стерильными. Определение патогенности микроорганизмов

показало, что 5,7% выделенных культур (*Strep. arietiae* в ассоциации с *Y. enterocolitica*) обладали патогенностью для белых мышей. Выделенные микроорганизмы обладали высокой чувствительностью к гентамицину, стрептомицину, энрофлоксацину, ампициллину, но проявляли резистентность к тилозину.

**Заключение** Микрофлора, выделенная из содержимого матки и секрета молочной железы, относилась к условно-патогенным микроорганизмам, основная часть которых (88%) была представлена стрептококками, стафилококками и кишечной палочкой. Микроорганизмы, выделенные из содержимого матки и секрета молочной железы больных коров, в 57% изолятов совпадали по видовому составу, в 80% - по уровню чувствительности к противомикробным препаратам.

### Литература

1. Ивашура, А.И. Система мероприятий по борьбе с маститами коров. - М.: Росагропромиздат, 1991. – 240 с. 3. Карташова, В.М.
2. Маститы коров / В.М. Карташова, А.И. Ивашура. - М.: Агропромиздат, 1988.–256с.4. Муртазин,
3. Епишин, В.А. Пробиотик зоонорм при эндометрите коров / В.А. Епишин, В.И.Сенников, С.А. Епишин, Ф.Ф.Мягих // Ветеринария, 2004, № 7 - С.33.
4. Муртазин, Б.Ф. К этиологии эндометритов у коров / Б.Ф. Муртазин // Ветеринария. - 1995. - № 4. - С. 41-44. 5.
5. Епанчинцева О. С. Семеруненко С. О. Микробиология органов размножения сельскохозяйственных животных в норме и при патологии. /Тр.Омского гос.унив, //2011.-195-210
6. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т. Т.1: Пер. с англ. / Под ред. Дж.Хоулта, Н.Крига, П.Снита. Дж.Стейли, С.Уильямса. -М.: Мир, 1997. - 432с.

### Сведения об авторах:

Горелов Ю.М. - доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ».

Телелева М.В. - кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

### Түйін

СИЫРДЫҢ ТУҒАННАН КЕЙІНГІ АУЫТҚУЫНДАҒЫ ЖАТЫР МЕН  
СҮТ БЕЗІНІҢ СЕКРЕТІНІҢ МИКРОБТЫҚ ЛАСТАНУЫНЫҢ  
ҚОЛАЙЛЫЛЫҒЫ



Горелов Ю.М., Телелева М.В.

«Қазақ ғылыми - зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Сыырдың жатыры мен сүт безінің секретінен бөлінген микроағзалар шартты-патогенді микроағзаларға жатқызылды, негізгі бөлігі (88 %) стрептококктарға, стафилококктарға және ішек таяқшаларына жатқызылды. Ауру сыырдың жатыры мен сүт безінің секретінен бөлінген микроағзалар, 57 % изоляттары түрішілік құрамымен сәйкес келді, ал 80 % - микробқа қарсы препараттардың сезімталдығының деңгейінде болып отыр.

*Кілттік сөздер:* микрофлора, эндометрит, сиырлар

### **Summary**

## **THE CONFRONT OF MICROBAL LANDSCAPE OF CONTENT OF UTERUS AND SECRET OF MAMMARY GLAND OF COWS AT POSTPARTUM PATHOLOGY**

Gorelov Ur.M., Telelyayeva M. V.

LLP «Kazakh scientific-research veterinary institute»

The microflora abstracted from content of uterus and secret of mammary gland behaved to the conditionally-pathogenic microorganisms, basic part of that (88%) was presented by streptococci, staphylococuss and collibacillus. Microorganisms abstracted from content of uterus and secret of mammary gland of sick cows, in 57% isolates coincided on specific composition, in 80% - on the level of sensitiveness to antibiotiks preparations.

*Key words:* microflora, endometrit, cows

УДК 619-616.33-002.084.08:636.22/28

## **ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВЕТЕРИНАРНО - САНИТАРНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ И ВЫРАЩИВАНИИ ТЕЛЯТ**

**Горелов Ю.М., Телелева М.В.**

ТОО «Қазақстан ғылыми-зерттеу ветеринария институты»

**Резюме** Представлены ветеринарно-санитарные мероприятия при получении и выращивании телят, обеспечивающие интенсивный рост, развитие, сохранность и здоровье животных.

*Ключевые слова:* телята, микрофлора, антибиотики, микроэлементы, незаразные болезни

**Введение** Основными условиями развития животноводства и повышения продуктивности животных, наряду с оптимальными условиями содержания и кормления, является интенсивное воспроизводство животных, а также обеспечение максимальной сохранности телят.

Кормление животных по рационам, не сбалансированным по белкам, углеводам, минеральным веществам и витаминам, а также кислыми или недоброкачественными кормами при избытке концентратов и недостатке сочных и грубых, обычно приводит к нарушению обмена веществ, снижению продуктивности. К таким же результатам приводит недостаток в рационе фосфора, кальция, йода, кобальта, меди, цинка, марганца и других микроэлементов. Все это в конечном итоге вызывает нарушение половых циклов у коров, снижение оплодотворяемости, задержание последа после родов, субинволюцию матки, эндометриты и сказывается на полноценном развитии и сохранности молодняка [1,2].

Ветеринарная статистика показывает, что более 95% от числа павших телят заболевает и гибнет от диспепсии, гипотрофии, бронхопневмонии, авитаминозов и нарушений обмена веществ. Причинами их возникновения являются нарушения обмена веществ в организме коров-матерей, условия содержания и кормления, отсутствие профилакториев, скученное содержание разных возрастных групп молодняка, антисанитарные условия в помещениях, выпойка молозива и молока в охлажденном или прокисшем виде, а также несвоевременная и некачественная подкормка микроэлементами. Нарушение микроклимата, которое вызывает массовое заболевание телят, проявляется в значительных колебаниях температуры в помещениях, высокой относительной влажности воздуха, наличия сырости, сквозняков, повышение концентрации углекислого газа, аммиака и сероводорода в воздухе.

В первые дни жизни телят до 15 дней, а в некоторых случаях до 1,5 месяцев, в период, когда у них еще не закончено функциональное развитие кожи и внутренних органов и не развиты связи с окружающей средой, отмечено состояние пониженной иммунологической реактивности или естественной резистентности, они очень восприимчивы к желудочно-кишечным, легочным, септическим заболеваниям и нарушениям обмена веществ. По мнению многих исследователей для предупреждения желудочно-кишечных болезней у телят основное внимание необходимо уделять своевременному запуску коров - за два месяца до отела [3,4,5]. За месяц до отела необходимо резко сократить или исключить дачу кислых

кормов, провести ветеринарно-санитарные мероприятия по предупреждению мастита, эндометритов и задержаний последа. В комплексе мер борьбы с желудочно-кишечными болезнями у телят существенное значение имеют санитарные меры в родильном отделении, профилактории, использование чистой посуды для выпойки молока, качественное молоко-молозиво, витаминизация новорожденных, своевременная дача микроэлементов и др.

Для предупреждения диспепсии телятам утром и вечером за 30 мин до выпойки молозива рекомендуют давать раствор содержащий: глюкозы-40 г, натрия двууглекислого-10 г, аскорбиновой кислоты-0,5 г, соли йодированной-5 г, воды кипяченой-500 мл [4]. М.И. Голубев в целях профилактики и лечения желудочно-кишечных болезней у телят эффективно применил лактоглобулин по 100 мл за 30 минут до первого кормления молозивом, дачу препарата повторяли через 24 часа [5]. Лактоглобулин готовили в июле-октябре из свежего молозива. Для этого в подогретое до 39 °С молозиво, полученное от здоровых коров первого и второго удоев, добавляли при помешивании 2% водный раствор пепсина из расчета 100 мл на 900 мл молозива. Смесь ставили на 10-12 часов в прохладное место (до 10 °С) для образования сгустка, затем фильтровали через ватно-марлевый и стерилизующий фильтр. Лактоглобулин консервировали 5% раствором фенола (110 мл на 1 л сыворотки), фасовали во флаконы, закрывали пробками, этикетировали и хранили при 2-8 °С в темном месте. При диспепсии у телят хорошие результаты отмечены после внутривенного введения стерильного раствора, содержащего: сыворотки крови стельных здоровых коров или сыворотки против паратифа и колибактериоза-100 мл, глюкозы 40%-20-30 мл, 5% раствор аскорбиновой кислоты -10 мл, 5% раствор новокаина -60-70 мл [6].

Возникает необходимость всестороннего подхода к проведению лечебно-профилактических мероприятий при воспроизводстве, получении и выращивании телят.

**Материалы и методы исследований** Для изучения эффективности ветеринарно-санитарных мероприятий при получении и выращивании телят провели научно-хозяйственные опыты в СХПК ПЗ «Алматы» Талгарского района Алматинской области и ИП «Коншайым» Карасайского района Алматинской области.

Рацион дойных коров живой массой по 450-500 кг при среднегодовых удоях 2700-3500 кг и 3,4- 3,7 % жирности молока составлял (в среднем): кормовых единиц-12-13, переваримого протеина -900-1000 г, поваренной соли- 90-100 г, кальция -70-100 г, фосфора-40 г, каратина -400-420 мг на голову в сутки. В стойловый период животные содержались на привязи и в выгульных загонах. Параметры микроклимата в помещениях колебались в пределах: температура от 4 до 20<sup>0</sup> С, относительная влажность -82-97%, скорость движения воздуха- 0,05-0,35 м/сек,

содержание углекислого газа- 0,05-0,2%, аммиака- 0,01-0,02 мг/л. На выгульные дворы животных выпускали регулярно, с прогулкой 3-4 км.

За 3 месяца до отела коров разделили на две группы - опытную и контрольную. В рационе животных силос заменили сеном степным и люцерны. Питательность рациона составляла: кормовых единиц- 9,5-10, переваримого протеина -1000-1050 г, поваренной соли- 90-100 г, кальция - 70-100 г, фосфора-50 г, каратина -420 мг на голову в сутки.

Для лечения и профилактики мастита животным опытной группы в каждую долю вымени после последней дойки вводили препарат «Нафпензал ДС» или опытный препарата «Витамаст», в дальнейшем коров больше не доили [7]. Продолжительность сухостойного периода равнялась 50-60 дням. За 5-10 дней до отела коров переводили в родильное отделение. Животных исследовали на мастит и при его наличии вводили препарат «Витамаст» или «Мастьет-форте» два раза с интервалом 12 часов, или противовоспалительный препарат «Кобактан ЛС» 2-3 раза с интервалом 12 часов. Проводили исследования крови стельных коров на гематологические и биохимические показатели. При необходимости проводили бактериологическое исследование выделений из репродуктивных органов на хламидиоз, кампилобактериоз.

В опытных группах животным вводили тривитамин и Е-селен. В рацион добавляли морковь и соли микроэлементов (кобальт хлористый-20 мг, медь сернокислая-120 мг, марганец сернокислый -100 мг, цинк сернокислый-50 мг, йодистый калий- 4 мг) или лизунцы «Светеликс Прекалве».

Для профилактики кетозов и дистрофии печени у высокопродуктивных животных задавали с кормом кормовую добавку «Протамин» в дозе 1 г на голову в течение 8 недель до отела и 12 недель после отела.

Для профилактики и при задержании последа сразу после отела коровам вводили препарат «Эндомет» в дозе 5-10 мл или «Просольвин» в дозе 2 мл внутримышечно или 4 таблетки «Утракура» [8]. Таблетки вводили по окружности между маткой и последом. Дополнительно внутримышечно вводили препарат «Дупоцилин» в дозе 1 мл/ 25 кг массы тела.

Для профилактики родильного пореза внутрь матки заливали бутылку препарата «Суперфос» или вводили подкожно-5-15 мл, или внутривенно по 100 мл препарата «Интоксан» [9].

Для поддержания защитной функции организма коровам вводили перорально 60 мл препарата «Супербустер» и в первый месяц после отела-энергетическую добавку «Светеликс Хай-энерджи». Если уровень мочевины в крови превышал норму и если был ниже нормы коровам вводили подкожно препарат «Светеликс Саклер кау» или внутривенно препарат «Интоксан».

Новорожденным телятам опытной группы сразу после рождения, обработки пуповины и обсушивания внутримышечно вводили по 10 мл

опытной иммуноспецифической сыворотки крови против пневмоэнтеритов, полученной от здоровых животных данного хозяйства, или неспецифический опытный иммуноглобулин лошади по 5 мл ( 2-я опытная группа животных) [10, 11].

Первый раз молозиво теленок получал через 45-60 минут после рождения. Ежедневно особое внимание уделяли качеству молозива и молока ( чистота, температура, свежесть), а также соблюдению правил доения и санитарному состоянию молочной железы, посуды, сосковых поилок. При отсутствии молозива готовили искусственное молозиво: на 1 л парного молока добавляли 15 мл витаминизированного рыбьего жира, 10 г хлористого натрия, два свежих куриных яйца. Для второго кормления указанную смесь разводили на 1/3 кипяченой водой (+36-37°C), в последующие дни разводили кипяченой водой 1:1. Начиная с 3-4 дня, через 1,5-2 часа после кормления, телятам дополнительно давали 1 л кипяченой воды ( 15-20 С), а с 15-20 дня- чистую сырую воду.

Телят содержали в течение 15 дней в профилактории в индивидуальных клетках. Начиная с пятого дня, в клетки ставили подкормку из микроэлементов и концентратов. Затем телят переводили в групповые клетки (по 5-10 голов) на соломенной подстилке. Ежедневно телят осматривали и при обнаружении признаков заболевания или отставания в росте их выделяли в индивидуальные клетки и проводили комплекс ветеринарных мероприятий. В случае возникновения диареи телятам завали орально или вводили подкожно препараты «Антидеарин», «Интоксан», проводили дачу искусственного желудочного сока до кормления или заменяли молоко или его заменители на препараты «Старт Аид», «Бенефит» в течение 2-3 дней [12].

Клетки профилактория и телятника, а также стойла родильного отделения не менее двух раз в месяц дезинфицировали 2% раствором едкого натра, 0,1-0,2% раствором хлоргексидина и обрабатывали 6% раствором перекиси водорода, 0,5% раствором Virocid.

В процессе опытов у сухостойных коров изучали гематологические и биохимические показатели крови. Рост и развитие телят контролировали путем измерения температуры тела и кожи, пульса, дыхания, морфологических и биохимических показателей крови, а также ежемесячными взвешиваниями и определением экстерьерных промеров.

**Результаты и обсуждение** Организация диагностики, лечения и профилактики репродуктивных органов у коров с применением комплексных схем, включающих общестимулирующую, патогенетическую, симптоматическую и этиотропную терапию, позволили повысить продуктивность и сохранность новорожденных животных.

Среди регистрируемых акушерских заболеваний у коров во время родов и в послеродовой период отмечены задержание последа, болезни яичников, субинволюция матки, метриты-эндометриты и различные их осложнения.

При задержании последа к лечению коров приступали через 6 часов после рождения теленка. Внутримышечно вводили 10 мл препарата «Эндомет» или трехкратно с интервалом 2-3 часа в нарастающих дозах-30-40-60 ЕД окситоцина или внутримышечно утеротон в дозе 10 мл.

При отсутствии эффекта от консервативных методов лечения через 36-48 ч после выведения плода послед удаляли руками с последующим введением в матку комплексных антимикробных препаратов.

Установлено, что телята, полученные как от опытных, так и от контрольных коров, имели лучшие показатели по содержанию в крови эритроцитов, гемоглобина, общего белка и гамма-глобулинов, кальция, фосфора, каратина, щелочной фосфатазы. Концентрация гамма-глобулинов к суточному возрасту достигала 40-50% от общего количества белка в сыворотке крови. Для достижения подобного эффекта необходимо, чтобы новорожденный теленок в первые сутки получал не менее 6-8 л молозива ( по 2 л 4 раза в день). Молозивные иммуноглобулины, выполнив функцию экстренной защиты в первые дни жизни, уже с 6-8-го дня постепенно разрушаются и выводятся из организма. Взамен отторгнутых иммуноглобулинов в организме постепенно увеличивается синтез собственных неспецифических иммуноглобулинов, этот процесс завершается к 25-35-му дню. В этот период в организме телят возникает второй пик иммунодефицита (материнские защитные белки выведены из организма, а синтез собственных не обеспечивает физиологическую норму), являющийся благоприятным фоном для микроорганизмов, вызывающих патологию желудочно-кишечных и респираторных органов. При нарушении санитарных правил проведения родов, приема, размещения новорожденных и особенно скармливания материнского молозива отмечены желудочно-кишечные болезни новорожденных телят первых дней жизни и респираторные в 35-60-дневном возрасте.

При нарушении режима кормления телят, что происходит, когда теленок родился ночью, а материнское молозиво выпаивают утром, спустя 8-12 часов после рождения, а затем 2 раза в сутки.

В течение ночи теленок, облизав окружающие предметы с патогенной и условно-патогенной микрофлорой, подвержен инфицированию и спустя 2-3 часа микроорганизмы размножаются, и к утру теленок становится клинически больным с признаками диареи. Отмечено, что на фермах, в которых нарушаются правила приема родов и скармливания материнского молозива, вакцинация маток в период беременности вакцинами против колибактериоза и сальмонеллеза не обеспечивает полноценную защиту телят от желудочно-кишечных болезней, так как новорожденные не получают специфических антител с молозивом, и находясь в состоянии иммунодефицита, остаются чувствительными к патогенному действию возбудителей.

У опытных телят, по сравнению с контрольными, в крови было больше эритроцитов на 7,5%, гемоглобина на 7,2%, общего белка на 12,4,

гамма-глобулинов на 29,6, фосфора на 7,5, каротина на 38,5 и щелочного резерва на 26,4%.

Эффективность испытанных нами ветеринарно-санитарных мероприятий характеризовалась высокой сохранностью и повышенной энергией роста телят в опытных группах по сравнению с контрольными.

Так, в СХПК ПЗ «Алматы» сохранность подопытных телят составила 100%, а среднесуточные привесы их были выше на 23,3%. Во втором хозяйстве- ИП «Коншайым» сохранность составила 100% в опытной группе и 92,8% в контрольной группе. Заболеваемость и падеж происходили за счет энтеритов и бронхопневмонии. Таким образом, проведенные опыты свидетельствуют о том, что охрана здоровья телят и обеспечение высоких показателей роста и устойчивости к заболеваниям зависят от соблюдения ветеринарно-санитарных условий при получении и выращивании приплода, применения высокоэффективных лекарственных и биологических средств- сыворотки иммуноспецифической против пневмоэнтеритов, глобулина сыворотки крови лошади, а также препараты: эндомет, интоксан, антидиарин и др. Указанные выше мероприятия следует проводить в соответствующие периоды развития теленка ( в период внутриутробного развития, молозивный, молочный и послемолочный, профилакторный).

**Заключение** Комплекс мер по соблюдению ветеринарно-санитарного режима содержания, ухода и кормления стельных коров и их приплода, внедрение новых лекарственных и иммунобиологических препаратов, осуществленный нами в опытных хозяйствах, оказался эффективным и заслуживает широкого внедрения в практику получения и выращивания телят.

### Литература

1. Гугушвили Н.Н. Иммунобиологическая реактивность коров и методы ее коррекции // Ветеринария. – А., 2003. - № 3. - С. 34 - 36.
2. Сидоров М.А., Федоров Ю.Н., Савич О.М. Иммунный статус и инфекционные болезни новорожденных телят и поросят // Ветеринария.- А., 2006. - № 11. - С. 3 - 5.
3. Высокопоясный А.И. Респираторные болезни телят в промышленном животноводстве в условиях Краснодарского края: дис..... канд вет. наук. –Краснодар, 2003. - 140 с.
4. Идришев Ж., Старовойт И. Профилактика и лечение болезней молодняка // Ветеринария. – М., 1973. - № 3. - С. 97 - 100.
5. Голубев М.И. Профилактика и лечение болезней молодняка // Ветеринария. - М., 1973. - № 3. - С. 98 - 100.
6. Алиев Р. Профилактика и лечение болезней молодняка // Ветеринария. - М., 1973. - № 3. - С.100 - 103.
7. Горелов Ю.М., Сущих В.Ю. Препарат «Витамаст» для профилактики и лечения мастита у сельскохозяйственных животных. Предпатент РК №79532 от 09.08.2012.

8. СТ 1114-2002. «Эндомент»-препарат для лечения эндометритов. Технические условия. - Введ. 2002-29-12-02. - Астана: Госстандарт РК. - 30 с.

9. Горелов Ю.М., Сущих В.Ю. Противоинфекционное антитоксическое средство для животных. П/патент № 75797, изобр. № 26351 от 31.01.2012.

10. КР СТ 1115-2002. Сыворотка против пастереллеза и парагриппа - 3 у животных. Технические условия. - Введ. 2002-29-12-02. - Астана: Госстандарт РК. 21с.

11. Горелов Ю.М., Сущих В.Ю. Способ получения иммуноглобулинового препарата. Предпатент РК № 72085, изобр. № 25256 от 03.02.2011. .

12. Горелов Ю.М., Сущих В.Ю. Антитоксический глюкозо-солевой раствор для животных. П/патент № 72041, изобр. № 25232 от 15.03.2011.

### **Сведения об авторах:**

Горелов Ю.М. – доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Телелева М.В. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

### **Түйін**

#### **СЫЫР ТӨЛІН ӨСІРУ БАРЫСЫНДАҒЫ ВЕТЕРИНАРИЯЛЫҚ – САНИТАРЛЫҚ ШАРАЛАРДЫҢ ТИІМДІЛІГІ**

Горелов Ю.М., Телелева М.В.

«Қазақ ғылыми - зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада сыыр төлін алу және өсіру барысында олардың тез өсіп-өнуін, жетілуін, аурудан аман болуын қамтамасыз ететін ветеринариялық – санитарлық шаралардың тиімділігі туралы айтылады

*Кілттік сөздер:* бұзау, микрофлора, антибиотиктер, микроэлементтер, жұқпайтын аурулар

### **Summary**



## PERFORMANCE OF VETERINARY - SANITARY MEASURES IN RECEIVING AND CALF REARING

Gorelov J. M., Telelyaeva M. V.

LLP «Kazakh scientific research veterinary institute»

Suows the animal health activities in the preparation and cultivation of calves, providing intensive growth, development, safety and health.

*Keywords:* calves, microflora, antibiotics, trace elements, non-communicable diseases

УДК 619:576. 8.078:616.981.42

### ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОЛЕВЫХ ШТАММОВ БРУЦЕЛЛ МЕТОДОМ ПЦР В СРАВНЕНИИ С БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИМ МЕТОДОМ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Даугалиева А.Т., Барамова Ш.А., Адамбаева А.А., Тусипкан О.,  
Шытырбаева З.А., Мырзекеева А.А.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме** В статье сравнивается применение ПЦР с бактериологическим методом для идентификации возбудителя рода *Brucella* и дифференциации его видов *Br. abortus* и *Br. melitensis*.

*Ключевые слова:* ПЦР, бруцеллы, бактериология

**Введение** Бруцеллы - мелкие, не ферментирующие, аэробные, не подвижные, не образующие споры и капсулы, факультативные внутриклеточные, Грам-отрицательные коккобактерии. Бруцеллы поражают животных и людей [1, 2]. Род *Brucella* состоит из нескольких видов: *Br. abortus*, *Br. melitensis*, *Br. ovis*, *Br. suis*, *Br. canis*- патогены для человека. *Br. microti*, *Br. inopinata*, *Br. ceti*, *Br. pinnipedialis*, изолируют от животных, но могут иногда вызывать заболевание людей [2, 3]. Среди вышеназванных видов, самыми опасными для человека являются *Br. abortus* и *Br. melitensis*. Данные виды вызывают заболевание бруцеллез, также известное как Мальтийская лихорадка [4]. Это заболевание остается важным зоонозом и распространено во всем мире [5]. В большинстве развитых странах, бруцеллез хорошо контролируется, однако в Азии, Африке, Средней Азии, Южной и Центральной Америке, заболевание все еще широко распространено [6]. В Казахстане чаще всего встречаются виды *Br. abortus* и *Br. melitensis*. Эти виды, которые вызывают заболевание людей и животных, могут быть диагностированы только лабораторными

методами [7]. Так как клинические признаки при бруцеллезе не специфические, наиболее надежным способом в диагностике заболевания является изоляция бактерии из крови и инфицированных тканей. Такие факторы, как тип образца, время взятия образца (стадия заболевания), пробоподготовка, техника изоляции возбудителя, сказывается на эффективности культуральных методов [8,9]. Так как бактериологический метод не всегда выделяет культуры, трудоёмкий, занимает достаточное количество времени, требует значительных материальных затрат, в результате чего увеличивается время выявления больных животных, его заменяют серологическими реакциями (наиболее важный Стандартный Тест Агглютинации сыворотки – SAT) [10]. К сожалению, серологические методы низкочувствительные, особенно на ранних стадиях заболевания, так как вырабатывается малое количество антител [7-11]. Также серологическими методами невозможно произвести дифференциацию между *Br. abortus* и *Br. melitensis*, таким образом в настоящее время в разных частях мира, используют методы молекулярной диагностики бруцеллеза, которые различают разные виды бруцелл. Исследования показывают, что молекулярные тесты по сравнению с бактериологическими и серологическими методами имеют более высокую специфичность и чувствительность [13,14]. Несмотря на диагностическую ценность ПЦР, в арсенале ветеринарной практики нашей республики нет тест-систем отечественного производства, что связано с недавним внедрением этого теста в диагностическую лабораторную сеть. В РК официально зарегистрирована только одна тест-система российского производства "БРУ-КОМ", которая может определять бруцеллы только до рода и не позволяет определять их вид. Используемая в отдельных научных учреждениях тест-система AMOS для выявления 4-х основных видов бруцелл завезена научными партнерами - зарубежными колабораторами в научных целях и официально не зарегистрирована в РК. В связи с этим, наше исследование было направлено в сторону разработки праймеров, которые идентифицируют и дифференцируют виды *Br. abortus* и *Br. melitensis*, широко распространённые в РК и наиболее опасные для человека и животных.

**Материалы и методы** В данном исследовании использовались 13 штаммов микроорганизмов, предоставленных Национальным референтным центром по ветеринарии: *Brucella abortus* 544; *Brucella melitensis* 565; *Brucella melitensis* H-12; *Brucella abortus* 100; *Brucella abortus* 960; *Brucella abortus* 19; *Brucella canis* 1066; *Brucella suis* 1330; *Salmonella abortus- equi* E 841; *Pasteurella multocida bovis* 216; *E. coli* 25922; *E.coli* 015. В работе также использовались 9 полевых штаммов, изолированных от животных в течении 2015 года в «КазНИВИ»: 0041; 00134; 00192; 0044; 0013; 00011; 00194; 0037; 00055.

На специальных питательных средах были выращены 2-х суточные культуры разных видов бруцелл, из которых получили  $2 \times 10^9$  бактериальные взвеси по оптическому стандарту мутности им. Тарасевича,

инактивированы термической обработкой, проверены на стерильность путем высева на питательные среды. Таким образом, были подготовлены образцы антигенов бруцелл для последующего выделения ДНК. Экстракцию ДНК из бактерий проводили с помощью набора «PureLink Genomic DNA Kits» (Invitrogen) согласно инструкции по применению.

Оценку конформации шпилечных структур, образуемых праймерами в силу их связей и температуру плавления осуществляли с использованием web-ресурсов [15]. Расчет образования гетеро- и аутодимеров и энергию их связи проводили с использованием программы «OligoAnalyzer» [16]. Место отжига праймеров и выравнивание нуклеотидных последовательностей генов проводили с помощью программного пакета «Primer 3 Web».

**Результаты и обсуждение** В текущем году в «КазНИВИ» на исследование поступило 24 пробы биологического материала (внутренние паренхиматозные органы и лимфатические узлы) от 16 голов крупного и 8 голов мелкого рогатого скота с Западно- Казахстанской области. В результате проведенных бактериологических исследований было выделено 9 культур бруцелл (7 от КРС и 2 от МРС). Принадлежность к роду *Brucella* выделенных культур определяли следующими методами: изучением морфологии колоний, микроскопией окрашенных препаратов по Граму и пробой со специфической сывороткой в реакции агглютинации на стекле.

После первичного роста культур, они были пересеяны на эритроцит агар с добавками. По морфологии колонии бруцелл на агаре были бесцветные, выпуклые, имеющие гладкую поверхность, гомогенные. Из полученных 2-х суточных культур бруцелл были приготовлены мазки и окрашены по Граму и Козловскому. В мазках наблюдались кокковидные и палочковидные формы бруцелл, окрашенные в красный цвет. Реакция агглютинации на стекле была поставлена со специфической бруцеллезной сывороткой. Во всех случаях у изучаемых культур наступала агглютинация микробных клеток, что указывало на их принадлежность к роду *Brucella*.

На следующем этапе исследований культуры бруцелл проверяли на диссоциацию с использованием следующих тестов: проба с трипафлавином, проба с нагреванием и окраска по Уайт-Вильсону.

При постановке реакции с трипафлавином все культуры давали равномерную муть (капля оставалась гомогенной), что свидетельствовало об отсутствии изменчивости микроба. В результате проведения реакции термоагглютинации, суспензии всех исследуемых культур также оставались гомогенными, что указывало на S - форму. При окрашивании изолированных колоний по Уайт-Вильсону с использованием водного раствора кристаллвиолета установили, что выделенные от животных эпизоотические культуры находились в S – форме.

Таким образом, на основании результатов проведенных исследований, выделенные культуры были отнесены к роду *Brucella* и находились в S-форме.

Результаты по определению видовой принадлежности выделенных культур бруцелл показаны в таблице 1.

При изучении дифференциальных свойств выделенных культур бруцелл было установлено, что 7 культур относятся к виду *Br. abortus* и 2 культуры к виду *Br. melitensis*.

Параллельно с бактериологическим методом биологический материал был исследован при помощи ПЦР с разработанными нами аллель специфическими праймерами *Br. abortus* (Br. Va и Br. Va-r) и *Br. melitensis* (Br. Vm и Br. Vm-r). В результате подбора разных температур отжига праймеров и концентрации компонентов реакционной смеси, лучший ПЦР продукт был получен при следующих температурно- временных параметрах: пре-денатурация - 94° С – 3 минуты; далее следуют 30 циклов, 60° С –40 секунд, 94° С –15 секунд.

В результате оптимизации реакционной смеси и термических циклов амплификации, в агарозном геле наблюдались следующие специфические линии: для *Br. abortus* 102 bp и для *Br. melitensis* 68 bp, которые изображены на рисунке 1.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 ОК М

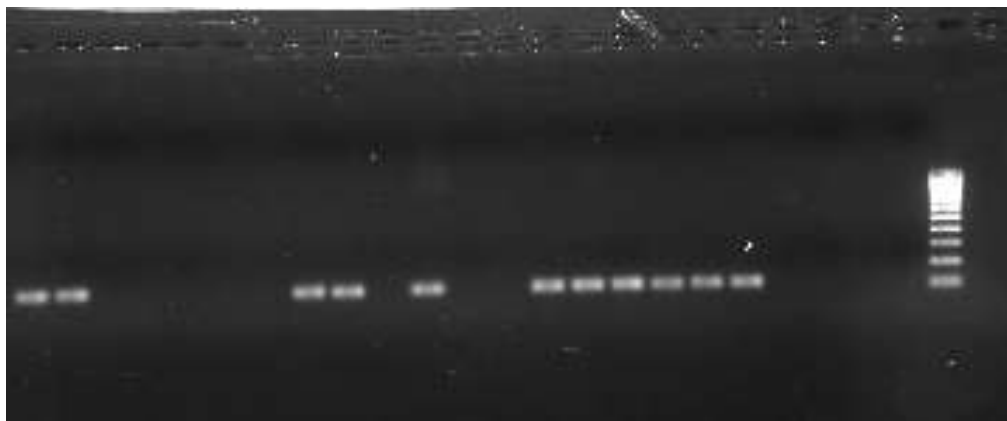


Рисунок 1- Электрофореграмма продуктов амплификации 24 образцов ДНК бактерий с праймерами Br. Va и Br. Va-r.

Как следует из рисунка 1, положительные результаты наблюдались в следующих пробах: 1-*Brucella abortus* 544; 2- *Brucella abortus* 100; 8-*Brucella abortus* 960; 9- *Brucella abortus* 19; 11-00134; 14- 00192; 15-0044; 16-0013; 17-00011; 18- 00194; 19-0037. В оставшихся пробах наблюдался отрицательный результат: 3-*Brucella melitensis* 565; 4-*Brucella melitensis* H-12; 5- *Brucella canis* 1066; 6-*Brucella suis* 1330; 7-0041; 10-*Pasteurella multocida bovis* 216; 12-*E. coli* 25922; 13-00055; 20-*Salmonella abortus- equi* E 841; 21- *E.coli* 015.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 ПК ОК М



Рисунок 2 - Электрофореграмма продуктов амплификации 24 образцов ДНК бактерий с праймерами Br. Vm и Br.Vm-г.

Как видно из рисунка 2, положительные результаты наблюдались в следующих пробах: 3-*Brucella melitensis* 565; 4-*Brucella melitensis* H-12; 7-0041; 13-00055. В оставшихся пробах наблюдался отрицательный результат: 1-*Brucella abortus* 544; 2- *Brucella abortus* 100; 5- *Brucella canis* 1066; 6-*Brucella suis* 1330; 8-*Brucella abortus* 960; 9- *Brucella abortus* 19; 10-*Pasteurella multocida bovis* 216; 11-00134; 12-*E. coli* 25922; 14- 00192; 15-0044; 16-0013; 17-00011; 18- 00194; 19-0037; 20-*Salmonella abortus- equi* E 841; 21-*E.coli* 015.

**Заключение** В результате проведенной работы из 24 образцов биологического материала с ЗКО, бактериологическим методом было выделено и определена родовая и видовая принадлежность 9 культур. Применение метода ПЦР позволяет так же выявлять возбудителя бруцеллеза, однако намного облегчает и ускоряет идентификацию инфекционных агентов, что позволит вовремя проводить эпизоотические мероприятия.

Таблица 1- Результаты исследования выделенных культур бруцелл.

№ инв. культуры бруцелл	вид животных	Реакция агглютинации на стекле				Окраска колоний по V-B	Термоагглютинация	Потребность в CO2	Выделение H <sub>2</sub> S (в мм)	Рост культур бруцелл на средах с содержанием					Реакция агглютинация с монорецепторным и сыворотками		Фаг ТБ		Рост штаммов с содержанием Penicillina		Рост на средах	
		Физ р-р (0,9%)	S =	S #	Трипафлавин					Фукусина	Тионина											
											1:50000	1:100000	1:25000	1:50000							1:100000	A/A
0011	КРС	-	-	#	-	S	-	--	7мм	+	+	+	+	+	640	-	л	л	+	150	PM	Тип
0044	КРС	-	-	#	-	S	-	-	3 мм			-	+	+	320	-	л	л	+	75	PM	Тип
0013	КРС	-	-	#	-	S	-	-	-	+	+	-	+	+	-	160	ол	ол	+	75	PM	Тип
0041	МРС	-	-		#	S			4мм	+	+	+	+	+	320	-	л	-	-	150	PM	Тип
00192	КРС	-	-	#	-	S	-	-	3 мм	+	+	+	+	+	640	-	л	л	+	150	PM	Тип
0055	МРС	-	-	#	-	S	-	-	-	+	+	-	+	+	-	160	ол	ол	+	75	PM	Тип
00194	КРС	-	-	#	-	S	-	-	4мм	+	+	+	+	+	640	-	л	л	+	150	PM	Тип
00134	КРС	-	-	#	-	S	-	-	3 мм	+	+	+	+	+	640	-	л	л	+	150	PM	Тип
0037	КРС	-	-	#	-	S			4мм	+	+	+	+	+	320	-	л	-	-	150	PM	Тип
Контр 16-М		-	-	#	-	S	-	-	-	+	+	-	+	+	-	160	ол	ол	+	75	PM	Тип
Контроль 19		-	-	#	-	S	-	-	6	+	+	-	-	-	640	-	л	л	-	-	PM	Тип

## Литература

- 1 Ficht T. Brucella taxonomy and evolution Future Microbiol 2010; 5 (6): 859-866.
- 2 Maria P.F., Maximillan M. Robert H. G., Henk L.S. Human brucellosis. Lancet Infect Dis 2007; 7:775-786.
- 3 Cristopher S.U., Umapathy B.L. Brucellosis: review on the recent trends in pathogenicity and laboratory diagnosis J Lab Physicians 2010; 2 (2): 55-60.
- 4 Guerra H. The brucellae and their success as pathogens. Crit Rev Microbiol 2007; 33 (4): 325-331.
- 5 Seimenis A., Morelli D., Montovani A. Zoonoses in the Mediterranean region. Ann Ist Super Sanita 2006; 42 (4): 437-445.
- 6 Pappas G., Metish Z.A. Brucellosis in the Middle East: a persistent medical socioeconomic and political issue. J. Chemother 2007; 19 (3): 243-248.
- 7 Araj G.F. Updata on laboratory diagnosis of human brucellosis. Int J Antimicrob Agents 2010; 36 (Suppl 1): S 12-S 17.
- 8 Mantur B.G., Amarnath S.K., Shinde R.S. Review of clinical and laboratory features of human brucellosis. Indian. J. Med Microbiol 2007; 25 (3): 188-202.
- 9 Alislan H. The value of culture ad serological methods in the diagnosis of human brucellosis. Microbiyol Bul 2008; 42 (1): 185-195.
- 10 Gall D., Nielsen K. Serological diagnosis of bovine brucellosis: a review of test performance and cost comparison. Rev Sci Tech 2004; 23 3): 989-1002.
- 11 Al Dahouk S, Tomaso H., Nockler K. Laboratory based diagnosis of brucellosis – a review of the literature. Part 2: serological tests for brucellosis. Clin. Lab 2003; 49 (11-12): 577-589.
- 12 Mert A., Ozaras R., Tabak F. The sensitivity and specificity of Brucella agglutination tests. Diagn Microbiol Infect Dis 2003; 46 (4): 241-243.
- 13 Y u WL, Nielsen K. Review of detection of Brucella spp. by polymerase chain reaction. Croat Med J. 2010; 51 (4): 306-13.
- 14 Bricker B.J. PCR as a diagnostic tool for brucellosis. Vet Microbiol 2002; 90 (1-4): 435-446.
- 15 URL: <http://www.atdbio.com/tools/oligo-calculator>.
- 16 <http://eu.idtdna.com/analyzer/Applications/OligoAnalyzer>.

## Сведения об авторах:

Даугалиева А.Т. – кандидат ветеринарных наук, заведующая лабораторией генетики микроорганизмов, биохимии и иммунологии ТОО «КазНИВИ»

Барамова Ш.А. – доктор биологических наук, профессор, заведующая отделом эпизоотического мониторинга и оценки рисков бактериальных и паразитарных болезней животных ТОО «КазНИВИ»

Адамбаева А.А. – научный сотрудник отдела эпизоотического мониторинга и оценки рисков бактериальных и паразитарных болезней животных ТОО «КазНИВИ»

Тусипкан О. – научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Шытырбаева З.А. – старший лаборант лаборатории генетики микроорганизмов, биохимии и иммунологии ТОО «КазНИВИ»

Мырзекеева А.А. – старший лаборант лаборатории генетики микроорганизмов, биохимии и иммунологии ТОО «КазНИВИ»

## **Түйін**

### **БРУЦЕЛЛАНЫҢ ДАЛАЛЫҚ ШТАМДАРЫН ЗЕРТХАНАЛЫҚ БАЛАУДАҒЫ БАКТЕРИОЛОГИЯЛЫҚ ӘДІСПЕН САЛЫСТЫРМАЛЫ ТҮРДЕ ПТР-ДА ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯЛАУ**

Даугалиева А.Т., Барамова Ш.А., Адамбаева А.А., Тусипкан О.,  
Шытырбаева З.А., Мырзекеева А.А.

«Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада *Brucella* туысының қоздырғышын идентификациялау үшін (түрге дейін ажырату үшін) бактериологиялық әдіспен салыстырмалы түрде ПТР қолдана отырып оның *Br. abortus* және *Br. melitensis* түрлерін өңделген праймерлермен дифференцияциялау.

*Кілттік сөздер:* ПТР, бактериология

## **Summary**

### **DIFFERENTIATION OF FIELD STRAINS OF BRUCELLA BY PCR COMPARED TO THE BACTERIOLOGICAL METHOD OF LABORATORY DIAGNOSTICS**

Daugaliyeva A.T., Baramova Sh.A., Adambaeva A.A., Tusipkan O.,  
Shytyrbaeva Z.A., Myrzekeeva A.A.

LLP «Kazakh scientific research veterinary institute»

The article compared PCR application with bacteriological methods for identify pathogens of the genus *Brucella* and differentiation of species *Br. abortus* and *Br. melitensis* with developed primers.

*Keywords:* PCR, brucellosis, bacteriology



## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММА SALMONELLA ABORTUS –EQUI E 841

Даугалиева А.Т., Егорова Н.Н., Мусаева А. К.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме** В статье приведены результаты изучения нуклеотидной последовательности фрагмента гена 16S rRNA штамма *Salmonella abortus –equi* E 841.

**Ключевые слова:** сальмонеллез, штамм, нуклеотидная последовательность гена, ПЦР

**Введение** Коневодство в Республике Казахстан является важнейшей отраслью животноводства в силу традиционных условий. По численности поголовья лошадей республика занимает одно из первых мест в СНГ. Сальмонеллезный аборт кобыл распространен во всех областях республики и наносит значительный экономический ущерб коневодческим хозяйствам, регистрируется в весенний период во время беременности, вызывает массовые преждевременные роды (аборты) и рождение нежизнеспособного плода. Жеребята болеют сальмонеллезом в первые дни жизни, болезнь протекает в виде бактериемии и токсикоза, хронического полиартрита и истощения, приводящих к гибели животного. Возбудитель *Salmonella abortus-equi* открыт в 1893 году Smith и Kilborne в Америке, в 1901 году Д.В. Поляковым в России. Первые сведения о болезни в республике регистрировались с начала 30 –х годов прошлого века. В разные годы аборты достигали 6 – 3%, из них свыше 50% сальмонеллезной этиологии. Имеются сведения, что в табуне abortируют до 80% кобыл на последних месяцах жеребости.

В настоящее время в связи с тем, что основное поголовье лошадей в республике сосредоточено в личных подворьях граждан и фермерских хозяйствах, возросла актуальность профилактики сальмонеллезного аборта кобыл, а также ведения статистического учета заболеваемости. Существенное значение в увеличении поголовья и продуктивности животных имеет профилактика инфекционных болезней. Аборты невозможно остановить, единственным способом профилактики инфекции является вакцинация кобыл. В настоящее время в ТОО «КазНИВИ» разрабатывают живую сухую вакцину против сальмонеллезного аборта кобыл из штамма *Salmonella abortus-equi* E 841. Вакцина не способна вызывать болезнь, но вырабатывает напряженный иммунитет к сальмонеллезному abortу.

В настоящее время фено- и генотипические методы исследования используются для оценки и родства многих микроорганизмов. Известно, что фенотипические признаки бактерий могут варьировать в зависимости от условий культивирования и от аллельного состояния ответственных за экспрессию генов [1]. Возможности фенотипических методов ограничены вследствие способности микроорганизмов, изменять экспрессию генов. Такие изменения могут происходить непредсказуемо или в ответ на влияние различных факторов окружающей среды [2].

Наиболее консервативной структурой, характеризующей вид микроорганизма, остается его геном. В связи с этим проведение генетического анализа штамма *Salmonella abortus-equi* E 841 послужит теоретической основой для получения высокоэффективного вакцинного препарата [3, 4].

**Материалы и методы исследований** С помощью общепринятых методов были изучены биологические характеристики штамма *Salmonella abortus –equi* E 841. После изучения фенотипических свойств указанной культуры сальмонеллы, подтверждающих сохранность ею исходных свойств, культура подвергалась последующему изучению нуклеотидной последовательности участка гена 16S rRNA.

Идентификация штамма *Salmonella abortus – equi* E 841 была осуществлена методом определения прямой нуклеотидной последовательности фрагмента 16S rRNA гена, с последующим определением нуклеотидной идентичности с последовательностями, депонированными в международной базе данных Gene Bank, а также построением филогенетического древа с нуклеотидными последовательностями референтных штаммов.

ДНК выделялась колоночным методом с помощью набора «PureLink Genomic DNA Kits» (*Invitrogen*) согласно инструкции по применению [5]. Для выделения ДНК использовали  $2 \times 10^9$  взвесь клеток бактерий. С целью лизирования бактерий к осадку клеток добавляли 180 мкл Digestion Buffer. После чего добавляли 20 мкл протеиназы K. Далее инкубировали пробирку 30 минут при 55°C с периодическими встряхиваниями. Для удаления фрагментов клеточной стенки, остаточных белков и полисахаридов, добавляли 500 мкл Wash Buffer 1. Заключительную очистку выполняли с Wash Buffer 2, с этой целью добавили 500 мкл данного буфера в колонку, центрифугировали при 14000 об/мин в течение 3 минут, удаляли жидкость из пробирки для сбора, а очищенные образцы ДНК элюировали с мембраны колонки в 200 мкл Elution Buffer и хранили при минус 20°C.

Определение нуклеотидной последовательности. Очистку ПЦР продуктов от несвязавшихся праймеров проводили ферментативным методом, используя Exonuclease I (*Fermentas*) и щелочную фосфатазу (*Shrimp Alkaline Phosphatase, Fermentas*) [6].

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 (Applied Biosystems).

**Результаты и обсуждение** Измеряли концентрацию ДНК спектрофотометрическим методом с использованием Dynaquant Halo DNAmaster при длине волны 260 нм. Образец ДНК показал высокую концентрацию - 30 ng/ul, с хорошей чистотой, значение 260/280 равняется 1,9.

Аmplification фрагмента 16S rRNA гена. Реакция ПЦР была выполнена с универсальными праймерами [7] 8F- 5' AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' и 806R- 5' GGACTACCAGGGTATCTAAT-3' в общем объеме 25 мкл. Мастер-микс содержал 150 нг ДНК, 2.5 x смеси, 10 пмоль каждого праймера. Программа ПЦР амплификации включала денатурацию 94°C в течение 3 минут; 27 циклов: 94°C – 30 секунд, 60°C- 30 секунд, 72°C – 30 секунд; заключительную элонгацию 7 минут при 72°C. ПЦР программа была выполнена с применением амплификатора фирмы Eppendorf. Результаты ПЦР амплификации приведены на рисунке 1.

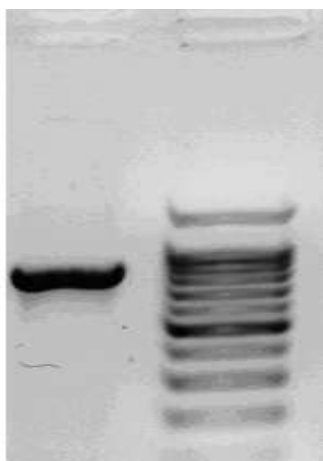


Рисунок 1 - Электрофореграмма ПЦР продукта амплификации фрагмента 16S rRNA гена ДНК

Как видно на рисунке 1, был амплифицирован специфический фрагмент с молекулярной массой 800 п.н.

*Анализ нуклеотидных последовательностей* Нуклеотидные последовательности 16S rRNA гена идентифицируемого штамма были анализированы в программном обеспечении SeqScape 2.6.0 (Applied Biosystems), после чего были удалены концевые фрагменты (нуклеотидные последовательности праймеров, фрагменты, имеющие низкий показатель качества). С учетом полученных результатов, были проведены дальнейшие исследования по проверке чистоты представленного штамма, которые были осуществлены на основе анализа электрограммы нуклеотидной последовательности 16S rRNA гена. Было установлено, что у анализируемого штамма отсутствует смешение сигналов, что свидетельствует об отсутствии в

предоставленной культуре посторонних видов бактерий. На рисунке 2 представлена ферограмма фрагментов нуклеотидной последовательности анализируемого гена *Salmonella abortus-equi* E 841.

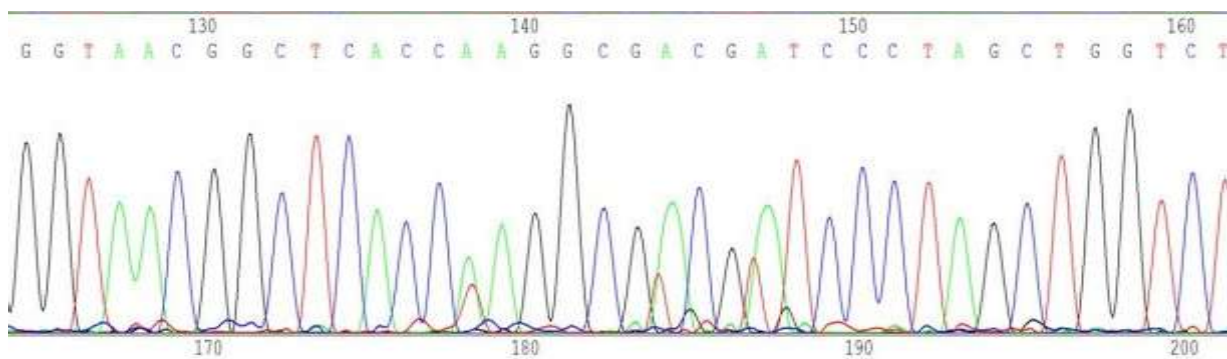


Рисунок 2 - Ферограмма фрагмента нуклеотидной последовательности гена 16S r RNA

Из рисунка 2 видно, что, проведенный анализ позволяет сделать выводы об отсутствии перекрестной контаминации культуры сальмонеллы посторонними бактериями.

Программным обеспечением SeqMan нуклеотидные последовательности были объединены в общую последовательность, что позволило нам получить нуклеотидную последовательность штамма протяженностью более 650 п.н., которая была идентифицирована в GeneBank по алгоритму BLAST. 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 [10] алгоритм BLAST		
		Инвентарный номер GeneBank (Accession number)	Наименование штамма	совпадения
Salmonella abortus-equi E 841	TGGAACGGTGGCTAATACCGCATAACGTC GCAAGACCAAAGAGGGGGACCTTCGGGC CTCTTGCCATCAGATGTGCCAGATGGGA TTAGCTTGTTGGTGAGGTAACGGCTCACC AAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAG GATGACCAGCCACACTGGAAGTGAAGACA CGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGT GGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCT GATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAG GCCTTCGGGTTGAAAGTACTTTCAGCGG GGAGGAAGGTGTTGTGGTTAATAACC	<a href="#">NR_074985.1</a>	<a href="#">Salmonella enterica subsp. enterica serovar Enteritidis str. P125109 strain P125109</a>	99
		<a href="#">NR_074934.1</a>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Paratyphi A str. ATCC 9150 strain ATCC 9150	99
		<a href="#">NR_074899.1</a>	<a href="#">Salmonella enterica subsp. enterica serovar Paratyphi C strain RKS4594 strain RKS4594</a>	99

Из таблицы 1 следует, что данные Международного банка GeneBank [8] показывают высокую степень однородности нуклеотидной последовательности 16S rRNA у всех разновидностей *Salmonella* spp. (~99%). На следующем этапе, мы провели построение филогенетического дерева с нуклеотидными последовательностями 16S rRNA гена референтных штаммов данных видов. Для построения филогенетического дерева использовали метод Fast Minimum Evolution (рисунок 3).

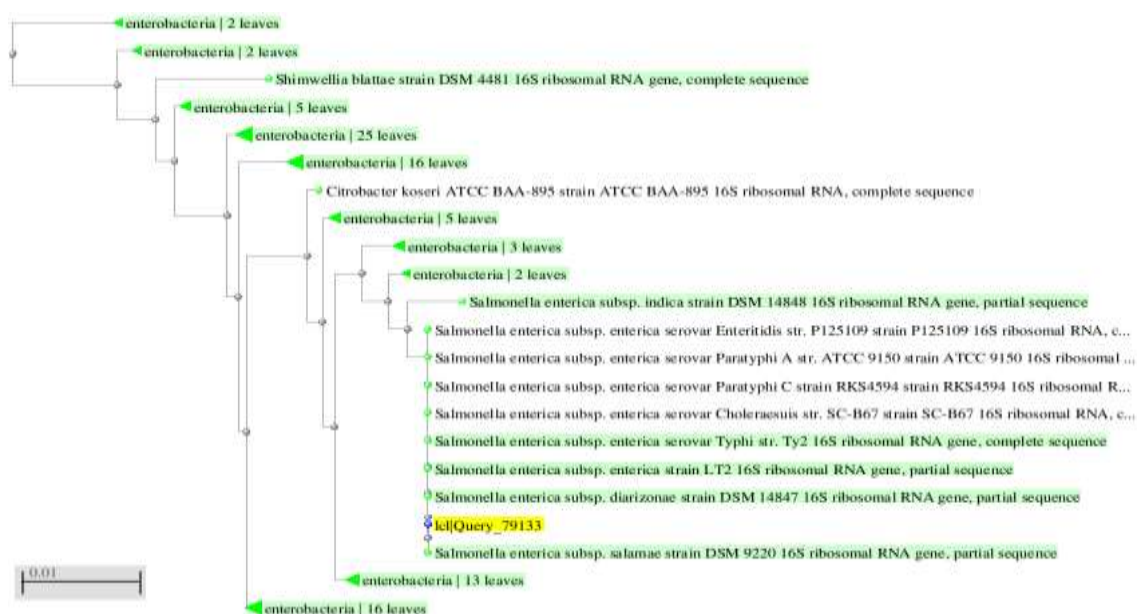


Рисунок 3 - Филогенетическое дерево, построенное на основании фрагмента гена 16S rRNA

Как видно из рисунка 3, анализируемый штамм находится на одной филогенетической ветви с разновидностями рода *Salmonella*.

**Заключение** Проведение генетического анализа фрагмента гена 16S rRNA штамма *Salmonella abortus-equi* E 841 подтверждает, что штамм не подвергался мутационным изменениям и пригоден для получения вакцинного препарата против сальмонеллезного аборта кобыл.

### Литература

1. Айала Ф., Кайгер Дж. Современная генетика // В 3-х т. Перевод с англ.- М.: Мир, 1987. – 762 с.
2. Carua I. et al. PCR// Acta Trop. -2002.- Vol.1. - P. 83.
3. Fanning N.G. et al. Genetics // Journal of Virology. - 2002. -Vol.76. - P.15.
4. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика // Новосибирск: Изд. Новосибирского университета, 2002.- 459 с.
5. URL: <http://www.Biochemmack.ru>

6. 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.

7. Vegas E. Z. S., Nieves B., Araque M., Velasco E., Ruiz J., Vila J. Outbreak of Infection With *Acinetobacter* Strain RUH 1139 in an Intensive Care Unit // *Infection control and hospital epidemiology.* – 2006. – Vol. 27. - № 4. - P. 397 – 404.

8. URL:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.

### **Сведения об авторах:**

Даугалиева А.Т. – кандидат ветеринарных наук, заведующая лабораторией генетики микроорганизмов, биохимии и иммунологии ТОО «КазНИВИ»

Егорова Н.Н. - кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Мусаева А.К. – доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

### **Түйін**

#### **SALMONELLA ABORTUS –EQUI E 841 ШТАМЫНЫҢ МОЛЕКУЛЯРЛЫ-ГЕНЕТИКАЛЫҚ СИПАТТАМАСЫ**

Даугалиева А.Т., Егорова Н.Н., Мусаева А.К.

«Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада *Salmonella abortus –equi* E 841 штаммының 16S rRNA геннің бөлігін нуклеотидті реттігін зерттеу нәтижелері көрсетілген.

*Кілттік сөздер:* сальмонеллез, штамм, геннің нуклеотидті реті, ПТР

### **Summary**

#### **MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS OF STRAIN SALMONELLA ABORTUS –EQUI E 841**

Daugaliyeva A.T., Egorova N.N., Musaeva A.K.

LLP «Kazakh scientific research veterinary institute»

The article shows the results of the study of the nucleotide sequence of fragment 16S rRNA gene of strains *Salmonella abortus –equi* E 841.

*Keywords:* salmonellosis, strains, the nucleotide sequence of the gene, PCR

ӘОЖ 619:616.98:578.831.11:615.371

## **ҚҰС ТҰМАУЫ МЕН НЬЮКАСЛ АУРУЛАРЫНА ҚАРСЫ ИНАКТИВТЕЛГЕН ҚОСПАРЛЫ ВАКЦИНА ДАЙЫНДАУҒА БЕЛСЕНДІ ВИРУС ЖИЫНТЫҒЫН АЛУ ТӘСІЛІ**

**Даутпаева З. Ж., Мырзахметова Б.Ш.**

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

**Түйін** Мақалада құс тұмауы мен Ньюкасл ауруларына қарсы инактивтелген қоспарлы вакцина дайындауға белсенді вирус жиынтығын алу тәсілі туралы айтылған.

*Кілттік сөздер:* құс тұмауы, Ньюкасл ауруы, вирус жиынтығы, вирус титрі

**Кіріспе** Қазақстан Республикасының аймақтарында Ньюкасл ауруы және құс тұмауының А типті түршелерінің варианттары әлсін–әлсін ауру туғызады [1]. Өндірістік құс шарушылығында Ньюкасл ауруына қарсы қолданылатын вакциналар шет елден сатып алынады [2]. Ал аула маңында бағылатын құс бастарына бұл ауруға қарсы вакцинация жасалмайды. Сондықтан табиғи ортада, тек қана Ньюкасл ауруы вирусы емес басқа да ауру вирустары белсенді айналымда болуына осы жағдай себепкер болып отыр [3]. Біздің елімізде, әлемнің көптеген елдері сияқты шағын құс шарушылықтарына арналған вакцина жасап шығару жолға қойылмаған. Бұл секторларда кей жағдайда моновалентті түрдегі вакцина қолданылады. Құс тұмауына қарсы жоспарлы вакцинация тек қана шектеулі аймақтарда моновалентті вакцина түрінде жасалады. Осы әдістемелік жүйемен өндірістік құс шаруашылықтарында жүргізілетін індетке қарсы шаралар бұл шарушылықтарды құс тұмауынан толық қорғай алмайды. Ал өндірістік құс шаруашылықтарындағы құс тұмауына қарсы иммундеу жүйесінің жолға қойылмауы осы шарушылықтың «жабық» жүйедегі құс бағылымымен түсіндіріледі. Шағын шаруашылықтардағы құс тұмауы мен Ньюкасл ауруларына қарсы моновалентті вакцина қолдану ветеринария мамандары үшін қосалқы еңбек шығынын талап етіп, осы екі ауруға қарсы құс ағзасында жедел түрдегі иммунитет құрылуына кедергі келтіреді.

Сондықтан, отандық өндіріс саласында, өндірістік вирус штаммдарын алу және оның негізінде Ньюкасл ауруы мен құс тұмауына қарсы қоспарлы вакцина дайындау технологиясын жасау ғылыми негізделген экономикалық тиімді эпизотологиялық шаралардың бірі болып саналады [4].

Өткен жылдардың зерттеу нәтижелері бойынша құс тұмауы мен Ньюкасл ауруы вирустарының биологиялық қасиеттері кең көлемде зерттелініп соның нәтижелері бойынша, құс тұмауы мен Ньюкасл ауруларына қарсы қоспарлы инактивтелген вакцина дайындау технологиясын құрастыру үшін зерттеу жұмыстарын жүргізуге негіз болды. Технологиялық үрдіс тізбегі бойынша (а) өзіне тәнді иммуногеннің – вирустың белсенді биологиялық жиынтығын алу, (б) - сатысында зардапты агенттің антигендік қасиетін жоғары деңгейде сақтай отырып, ауру жұқтыру қасиетін жою (иннактивациялау), (в) - сатысында өзіне тәнді антигендік компоненттен құралатын иммундаушы кешен немесе антигенге қажетті иммуногендік қасиет беруші тасымалдаушының құрылуынан тұрады. Алайда, қоспарлы вакцина жасау технологияның соңғы сатысында вакцина құрамындағы құрамдас заттардың өзара сандық қатынастарын анықтау қажеттілігі бар.

**Зерттеу материалдары мен әдістері** Дамушы тауық эмбриондарын қолдана отырып, Ньюкасл ауруы мен құс тұмауының вирус штамдарын өсіру және вирус биожынтығын алудың технологиялық параметрлеріне эмбриондарды зарарлау мерзімі, осы нысандарды бірнеше қайталап зарарлау мерзімі, зарарланған эмбриондарды инкубациялау температурасы, мерзімі және вирус жиынтығын жинау үрдістері кіреді. Сондықтан, алғашқы тәжірибе барысында, дамушы тауық эмбриондарының тиімді зарарлау мерзімі (эмбрион жасы, күні), алынған экстраэмбриональды вирус сұйықтығының мөлшері анықталды. Бұл үшін, 10, 11 және 12- күндік дамушы тауық эмбриондарына жеке-жеке тәжірибе жүргізілді. Зарарланған эмбриондар 37-38 °С температурада, ауа ылғалдылығы 60% төмен емес инкубаторда өсірілді. Эмбриондар өле бастаған мезгілден бастап, 4±6 °С температурада 18-48 сағат бойы тоңазытқышқа қойылып суытылды, содан кейін экстраэмбриональды сұйық жиналып зерттелінді.

**Нәтижелерді талқылау** Зерттеу нәтижесінде жиналып алынған экстраэмбриональды сұйық көлеміне, құрамындағы қан жасушаларының бар-жоқтығымен, вирустың әтеш эритроциттерін гемагглютинацияға түсіруіне және вирус титріне қарап бағаланды. Зерттеу нәтижелері 1-ші кестеде келтірілген.

Кесте 1 – Экстраэмбриональды вирус сұйығының мөлшері

Зарарлау нысаны	Нысан жасы, тәулік	Зарарлаушы вирус	Нысан саны, дана	Вирус суспензиясының көлемі эмб/см <sup>3</sup>	Вирус титрі		Вирустың жалпы саны, (ЭИД <sub>50</sub> )
					ГА, log <sub>2</sub>	ЭИД <sub>50</sub>	
ДТЭ	10	ҚТ - Н5	13	8,5±0,7	8,1±0,6	10 <sup>6,91</sup>	69 088 000
		НА	12	7,8±0,2	7,3±0,2	10 <sup>8,2</sup>	126 800 000
	11	ҚТ - Н5	17	8,7±0,5	7,8±0,4	10 <sup>7,15</sup>	122 931 000
		НА	23	8,4±0,12	8,5±0,1	10 <sup>8,7</sup>	421 008 000



12	ҚТ - Н5	22	7,2±1,1	7,3±0,9	10 <sup>7,21</sup>	116 784 000
	НА	14	8,7±0,07	9,3±0,2	10 <sup>9,2</sup>	13789500000
Ескерту: ҚТ-Құс тұмауы; НА-Ньюкасл ауруы						

Бірінші кестеде көрсетілгендей, зарарланған 10-12 күндік дамушы тауық эмбриондарында (ДТЭ) ауру қоздырушысының түріне және таксономиялық түршелеріне, олардың өлу мерзімдеріне қарамастан әр вирус түршелерінен орташа 7,2 см<sup>3</sup> мөлшерінен 9,1 см<sup>3</sup> дейін экстраэмбриональды сұйық жиналып алынды. Орташа жиналған сұйық мөлшерлерінде өзара айырмашылық болған жоқ. Вирусты өсіруге пайдаланылған әр түрлі тәуліктік эмбриондардан жиналған экстраэмбриональды сұйықтағы вирус титрінің айырмашылығы да көп болған жоқ. Құс тұмауының А/Н5N3 түршесінің экстраэмбриональды сұйықтағы вирус гемагглютининнің титрі 7,3±0,9 log<sub>2</sub> -нен 8,1±0,6 log<sub>2</sub> дейін, ал Ньюкасл ауруының вирус гемагглютининнің титрі 7,3±0,2 log<sub>2</sub> -ден 9,3±0,2 log<sub>2</sub> дейін көрсетті. Бұл сандық көрсеткіштердің өзара көп айырмашылықтары жоқ. Осы сұйықтар үлгілеріндегі ауру қоздырғыштарының жұғу титрлері А/Н5N3 түршелерінде 10<sup>6,91</sup> ЭИД<sub>50</sub> -ден 10<sup>7,21</sup> мөлшеріне дейін, ал Ньюкасл ауруының жұғу титрі 10<sup>8,2</sup> ЭИД<sub>50</sub> ден 10<sup>9,2</sup> ЭИД<sub>50</sub> дейін көрсетті. Экстраэмбриональды сұйықтағы ЭИД<sub>50</sub> құрамындағы вирус бөлшектерінің жалпы санын есептегенде, әр вирусқа шаққанда А/Н5N3 түршесі вирус жиынтығы 11 – күндік ДТЭ-да, Ньюкасл ауруы вирус жиынтықтары 12-күндік ДТЭ-ында мол жиналды. Зерттеу деректері бойынша, вирулентті ауру қоздырғыштарының А/Н5N3 түршелерінің және везикулярды Ньюкасл ауруының антигендік жұғу титрі жоғары белсенді вирус жиынтығын алу үшін, даму мерзімі 11-12 күндік ДТЭ пайдалану тиімді.

Дамушы тауық эмбриондарының қажетті даму мерзімін таңдап алу, вирустың тиімді көбеюі үшін, оны зарарлау мөлшерін анықтауға мүмкіндік берді. Өзімізге қажетті параметрлерді таңдап алу үшін, 10-11 күндік дамушы тауық эмбриондары бірнеше топқа бөлініп, әр топқа белгілі вирустың зарарлаушы мөлшері алынды. Әр топқа 4-10 данаға дейін эмбрион қолданылды. Зарарланған эмбриондар бірдей температура көрсеткіштерінде гемагглютининнің белсенділігімен және ДТЭ-ғы жұғудың сандық дейгейімен анықталды. Зерттеу нәтижесі 2 кестеде берілген.

Кесте 2 – Вирустардың жұғу титрі мен гемагглютининдеуші белсенділігі

Зарарлаушы вирус, аты, түрі, түршесі	ДТЭ –да зарарлау – мөлшері, ЭИД <sub>50</sub>									
	10		10 <sup>2</sup>		10 <sup>3</sup>		10 <sup>5</sup>		10 <sup>7</sup>	
	ГА log <sub>2</sub>	ЭИД <sub>50</sub>	ГА log <sub>2</sub>	ЭИД <sub>50</sub>	ГА log <sub>2</sub>	ЭИД <sub>50</sub>	ГА log <sub>2</sub>	ЭИД <sub>50</sub>	ГА log <sub>2</sub>	ЭИД <sub>50</sub>
Құс тұмауының А/Н5N3	3,2	10 <sup>4,3</sup>	4,7	10 <sup>5,0</sup>	4,3	10 <sup>5,8</sup>	7,5	10 <sup>6,3</sup>	7,8	10 <sup>6,7</sup>

Ньюкасл ауруының «Алматы-03»	4,5	$10^{6,7}$	5,2	$10^{6,3}$	7,8	$10^{7,7}$	9,7	$10^{9,3}$	9,8	$10^{8,7}$
------------------------------	-----	------------	-----	------------	-----	------------	-----	------------	-----	------------

Екінші кесте деректерінде көрсетілгендей, ДТЭ-да көбейтілген құс тұмауы мен Ньюкасл ауруларының гемагглютинациялық белсенділігінің титрі мен вирустардың эмбриональдық инфекциялық дозасы қоздырғыштың зарарлау мөлшеріне тікелей тәуелді.

Зарарлаушы вирус мөлшері 10-нан 1000 ЭИД<sub>50</sub> болған кезде, А/Н5N3 түршесінің вирус титрі  $10^{4,3} - 10^{5,8}$  ЭИД<sub>50</sub> көрсетті. Ньюкасл ауруының велогенді вирусымен осы зарарлаушы мөлшермен зарарланғанда жинақталған вирус титрі  $10^{6,7} - 10^{7,7}$  ЭИД<sub>50</sub> болды. Барлық зерттелінген вирустардың жоғары титрі көп реттік зарарлау кезінде бір дамушы тауық эмбрионында  $10^5 - 10^7$  ЭИД<sub>50</sub> болды. Құс тұмауының А/Н5N3 түршесінің ең жоғары вирус титрі  $10^{6,3} - 10^{6,7}$  ЭИД<sub>50</sub>, ал Ньюкасл ауру вирусы –  $10^{8,7} - 10^{9,3}$  ЭИД<sub>50</sub> көрсетті. Вирустардың гемагглютининінің титрі жұғу титрінің өсу деңгейімен қатарлас болып, көп ретті зарарлау мөлшеріне тікелей пропорциональды болды. А/Н5N3 түршесінің гемагглютининінің титрі 7,5-7,8 log<sub>2</sub>, эмбриондарды  $10^5 - 10^7$  ЭИД<sub>50</sub> зарарлау мөлшерінде зарарлаған кезде Ньюкасл ауруының вирус гемагглютинині 9,7-9,8 log<sub>2</sub> деңгейде болды.

Осы жолмен алынған зерттеу нәтижелері бойынша, жоғары титрлі гемагглютиндеуші вирус экстраэмбриональды сұйығын көп рет зарарлау арқылы  $10^5 - 10^7$  ЭИД<sub>50</sub> мөлшерінде алынғаны айқындалды.

Зерттеудің келесі кезеңінде эмбриондармен жұмыс істеу тізбесіне сәйкес вирусты көбейту барысында олардың вирус титрінің белсенді жиынтығын алу мерзімі анықталды. Бұл үшін, 30 дана ДТЭ бар бір партиясын вируспен зарарлап, оларды 37-38°C ұстадық, эмбриондардың физиологиялық жағдайын күнделікті қарап, әр 24 сағат сайын овоскоппен бақылай отырып, инкубаторда өсірдік. Зарарланған эмбриондардың 6-10 данасынан өлгенге дейін 12-24 сағат бұрын, ал келесі 6-10 данасынан өлер алдында, үшінші осындай эмбриондарды өлгеннен кейінгі 12-24 сағаттан кейін вирус сұйықтары жиналды. Әр топтағы эмбриондардың экстраэмбриональды сұйықтары жеке жиналып жіктелді және олардың жұғу және гемагглютиндеуші титрлері ДТЭ-да титрацияланып, гемагглютинация реакциясында тексерілді. Вирус жинаудың оңтайлы мерзімі ретінде вирустың жоғары титрін көрсеткен мерзім алынды. Бұл деректер 3-ші кестеде көрсетілген.

Кесте 3 - Вирустың жұғу және гемагглютиндеуші белсенділігінің титрлері

Зарарлаушы вирус, түрі, түршесі	Зарарлан- ДТЭ саны (дана)	Зарарланған ДТЭ суыту мерзімі, мезгілі								
		Өлуге 12-24 с қалғанда				Өлген кезінде		Өлгеннен кейінгі 12-24 с кейін		
		ДТЭ саны	Титр бірлігі		ДТЭ саны	Титр бірлігі		ДТЭ саны	Титр бірлігі	
			ГАЕ	ЭИД <sub>50</sub>		ГАЕ	ЭИД <sub>50</sub>		ГАЕ	ЭИД <sub>50</sub>

			$\log_2$			$\log_2$			$\log_2$	
ҚТ А/Н5N3	28	8	4,8	$10^{4,5}$	12	7,8	$10^{6,7}$	8	5,2	$10^{5,5}$
ҚТ А/Н7N7	34	10	5,7	$10^{5,0}$	16	8,2	$10^{7,3}$	8	6,2	$10^{6,7}$
НАВ(вел ог.)	24	7	6,8	$10^{6,3}$	11	9,8	$10^{8,7}$	6	5,4	$10^{7,3}$

Үшінші кестеде көрсетілгендей, эмбриондарды суытуға жіберудің ең өнімді мерзімі эмбриондардың өлген кезеңінен бастап байқалды, бұл мерзімде құс тұмауының А/Н5N3 түршесінің гемагглютининің титрі 7,8  $\log_2$ , ал А/Н7N7 түршесінің - 8,2  $\log_2$  болғанда Ньюкасл ауруының гемагглютининің титрі 9,8  $\log_2$  көрсетті. Осы уақытта барлық вирустардың жұғу титрлері де жоғары болды. Құс тұмауы түршесінің А/Н5N3 -  $10^{6,7}$  ЭИД<sub>50</sub>, А/Н7N7 -  $10^{7,3}$  ЭИД<sub>50</sub> және Ньюкасл ауруының жұғу титрі -  $10^{8,7}$  ЭИД<sub>50</sub>. Вирустардың гемагглютининдеуші және жұғу титрлері өлгенге дейінгі 12-24 сағатқа және өлгеннен кейінгі 12-14 сағатта, эмбриондардың өлген уақыттағы экстраэмбриональды сұйық титрімен салыстырғанда әлде қайда төмен болды.

**Қорытынды** Зерттеу жұмыстарының нәтижесі бойынша, дамушы тауық эмбриондарында көбейтіліп алынған құс тұмауының Н5N3, Н7N7 түршелерінің және велогенді Ньюкасл ауру вирустарының жұғу және гемагглютинин титрлары жоғары вирус сұйықтарын алу үшін, технологиялық регламентке мына төмендегі параметрлер сақталуы керек:

- құс тұмауы мен Ньюкасл ауруы вирустарын көбейту үшін 11-12 күндік ДТЭ-ын қолдану қажет;

- құс тұмауы мен Ньюкасл ауруы вирустарын ДТЭ-да зарарлап инкубаторда 37-38 °С температурада 48 сағат өсіру керек;

- дамушы тауық эмбриондарында құс тұмауы мен Ньюкасл ауруы вирустарының суыту экспозициясы.

Зерттеу нәтижелері бойынша, құс тұмауы мен Ньюкасл ауруы вирустарын жұқтыру мөлшерімен  $10^5$ - $10^7$  ЭИД<sub>50/эмбрион</sub> 11-12 күндік ДТЭ-ын зарарлап 37-38°С температурада, ауа ылғалдылығы 60% төмен емес инкубаторда өлген уақытына дейін өсірілді, 4±6 °С температурада 18-48 сағат бойы тоңазытқышқа қойылып суытылды, содан қан жасушалары жоқ, жоғары титрлі вирусты экстраэмбриональды сұйық жиналып алынды.

## Әдебиеттер

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. – А., 2008. – С. 264 - 267.

2. Бочарников А.В. Средства специфической профилактики особо опасных болезней птиц: автореф..... дисс. докт. наук. – 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» мат. межд. конф., посвящ. 80 - летию академика НАН РК АН А.Н. Илялетдинова. – А., - 2009. - С. 260 - 266.

4. Кутумбетов Л.Б., Даутпаева З.Ж., Мырзахметова Б.Ш., Жантелиева Л.О. Иммунобиологические свойства ассоциированной инактивированной вакцины против гриппа птиц и болезни Ньюкасла // Проблемы теории и практики современной ветеринарной науки. – А., 2014. - С.129 - 134.

### **Иегерлер туралы мағлұмат:**

Даутпаева З.Ж. - ветеринария ғылымдарының кандидаты, «ҚазҒЗВИ» ЖШС індеттанулық мониторинг және жануарлардың вирусты ауруларының пайда болу тәуекелдерін бағалау бөлімінің жетекші ғылыми қызметкері

Мырзахметова Б.Ш. - биология ғылымдарының кандидаты, «ҚазҒЗВИ» ЖШС вирусология зертханасының меңгерушісі

### **Резюме**

#### **СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ АКТИВНОГО ВИРУССОДЕРЖАЮЩЕГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ГРИППА ПТИЦ И БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА**

Даутпаева З.Ж., Мырзахметова Б.Ш.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

В статье приведены результаты получения активного вирусодержащего материала для изготовления инактивированной ассоциированной вакцины против гриппа птиц и болезни Ньюкасла.

*Ключевые слова:* грипп птиц, болезнь Ньюкасла, биомасса вирусов, титр вирусов

### **Summary**

#### **A METHOD OF PRODUCING ACTIVE VIRUS DATABASES MATERIAL FOR THE MANUFACTURE ASSOCIATED INACTIVATED VACCINE AGAINST AVIAN FLUENZA AND NEWCASTLE DISEASE**

Dautpaeva Z.Zh., Myrzahmetova B.Sh.

LLP «Kazakh scientific research veterinary institute»

This article presents the result of research on the production of active virus databases material for the manufacture associated inactivated vaccine against avian fluensa and Newcastle disease.

*Keywords:* avian fluensa, Newcastle disease, biomass of viruses, titre of viruses

ӘОЖ 619.5

## **ЖҰҚПАЛЫ БУРСАЛ АУРУЫНЫҢ ВАКЦИНАЛЫҚ ВИРУСЫНЫҢ АНТИГЕНДІК БЕЛСЕНДІЛІГІ**

**Жантелиева Л.О., Мырзахметова Б.Ш.**

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринариялық институты» ЖШС

**Түйін** Мақалада жұқпалы бурсал ауруына қарсы AV -002 вакциндік штамының антигендік белсенділігі көрсетілген. Антигендік белсенділікті вирус жұқтырылған құстардың ағзасында арнайы вирусқа қарсы антидене түзе алу қасиетін ескере отырып анықталған.

*Кілттік сөздер:* жұқпалы бурсал ауруы, вакцина, антигендік

**Кіріспе** Жұқпалы бурсал ауруы ( Гамборо, жұқпалы бурсит) – жіті түрде өтетін, өте жұғымтал вирустық ауру. Тауықтың барлық тұқымы - табиғи жағдайда вируспен зарарланатын бірден бір тұқым болып саналады. Балапандардың барлық түрлері 2-15 аптадан бастап ауруға шалдығады, кейде 11 күннен бастап ауруы мүмкін деген деректер бар. Негізінен қоздырушы вирус асқазан, ішек арқылы, кейде жұмыртқадан немесе ауа арқылы жұғады [1]. ЖБА-мен күрестің басты тәсілі - тірі және инактивтелінген вакциналарды қолдану арқылы тауық ағзасында иммунитет туындату болып келеді. Вакциналардың тиімділігі сол дәрмектің құрамындағы вирустың антигендік белсенділігіне тәуелді [2]. Ауруға қарсы тұру сезімталдылығы құстарды белсенді түрде иммундеу арқылы жүзеге асады. Аналық иммунитеттің жоғары біртекті деңгейін құру үшін инактивирленген вакциналар қолданылады, олар адьюванттардың кең спектрін қолдану арқылы вирустың әртүрлі штамдарынан дайындалады [3]. Балапандарды белсенді түрде иммундеу үшін бірқатар зерттеушілердің ізденістерінің нәтижесінде тірі вакциналардың бірнеше түрі жасалған.

Біздің зерттеуіміздің басты мақсаты-арудың таралуының алдын-алуды қамтамасыз ететін жұқпалы бурсал ауруына қарсы жаңа вакцинаға жарамды вирустық штамм – алу, оны зертханалық тұрғыда дайындау мен бақылаудың

технологиясын құрастыру және осы әдіспен даярланған вакцинаның тиімділігін анықтау болып табылады.

**Зерттеу материалдар мен әдістері** Ғылыми зерттеу жұмысы Қазақ ғылыми зерттеу ветеринариялық институтының вирусология бөлімінде жасалды. Жұмыс барысында, клиникалық, бактериологиялық, вирусологиялық, серологиялық және патолого-анатомиялық зерттеу әдістемелері қолданылды. Вирустың антигендік белсенділігін анықтау: антигендік белсенділікті вирус жұқтырылған құстардың ағзасында арнайы вирусқа қарсы антидене түзе алу қасиетіне қарай анықталды.

**Зерттеу нәтижелері және талқылау** Вирустардың жоғары биологиялық белсенділігі антигендік белсенділікпен өзара байланыста болады. Вакциндік штамдардың екі түрі алынды: зардапты микрофлорадан таза (ЗМТ) -тауық эмбрионында және тауық эмбриондарының фибробласты (ТЭФ) жиналған вирустық материал. Жергілікті вакциндік штамының антигендік қасиетін 25-тәуліктік балапандарға КБК штамымен салыстыру арқылы зерттедік. Балапандардан әр қайсысында 10 бастан 5 топ құралды. Оларға ауыз қуысы арқылы (оральді) аталған препараттардан  $2,0 \text{ Ig ЭИД}_{50/\text{см}^3}$  және  $3,0 \text{ Ig ЭИД}_{50/\text{см}^3}$  мөлшерінде ішер сумен бердік. КБК штамын балапандарға өндіруші ұсынған мөлшерде берілді. Бақылау тобында вакцинамен егілмеген балапандар бөлек ұсталынды. Вирусты еккеннен кейін 3 аптадан соң телімді антиденені анықтау мақсатында қан алынды. Осы жиналған қан үлгілерінің сарысуын зерттеу 1 - кестеде келтірілген.

Кесте 1 - ЖБА вакциндік вирус штамының антигендік белсенділігін салыстырмалы түрде бағалау

Вирус штамы	Өндіргі-ші	Вирус мөлшері $\text{ЭИД}_{50/\text{см}^3} / \text{ТЦД}_{50/\text{см}^3}$	Қолданылған диагностикалық тесттер		
			ДПР	ИФА	НР
AV-002	ДТЭ	2,5	$3,24 \pm 0,21$	$1278 \pm 0,5$	$12,6 \pm 0,27$
	ТЭФ	3,0	$2,12 \pm 0,34$	$825 \pm 0,17$	$7,9 \pm 0,14$
КБК	ДТЭ	3,0	$2,34 \pm 0,19$	$944 \pm 0,48$	$8,7 \pm 0,25$
	ТЭФ	3,0	$1,84 \pm 0,41$	$778 \pm 0,29$	$7,4 \pm 0,13$
Бақылау	-	0	0	0	0
Ескерту: ДТЭ – дамушы тауық эмбрионы; ТЭФ – тауық эмбрионының фибробласты					

1 - кестенің нәтижесі бойынша КБК штамының эмбрионынан алынған нұсқасы жасуша өсіндісінен жиналған вирустың антигендік көрсеткішінен жоғарырақ болды. Антигендік белсенділігін зерттеу барысында, КБК штамының ТЭФ өсінді жасушасында вирусты екенде ДПР -  $1,84 \pm 0,41$ ; ИФА -  $778 \pm 0,29$ ; НР -  $7,4 \pm 0,13$ , ал КБК штамының эмбриональды вирусын екенде ДПР -  $2,34 \pm 0,19$ ; ИФА -  $944 \pm 0,48$ ; НР -  $8,7 \pm 0,25$  көрсеткіш болды. Жергілікті AV-002 штамының ТЭФ өсінді жасушасында вирусты екенде ДПР -  $2,12 \pm 0,34$ ; ИФА -  $825 \pm 0,17$ ; НР -

7,9±0,14, AV-002 штамының вирусын эмбриональді екенде балапандарда РДП- 3,24±0,21; ИФА-1278±0,5; РН -12,6±0,27 болды. AV-002 штамының ТЭФ жасушасынан алынған вакциндік материалмен егілген топта бұл көрсеткіштер төмен болды, ал AV-002 штамының эмбриональді нұсқасы өсінді жасушасында жиналған материалмен салыстырғанда жоғары болды.

**Қорытынды** Алынған нәтижелер екі штаммның да антигендік белсенділігі жеткілікті деңгейде екенін көрсетті. Алайда, AV-002 штамы жоғарғы ( $p < 0,05$ ) титрдағы антиделер түзді. Бұл жұмыстың ары қарай дамуына жол ашты. Осы деректерді ала отырып ЖБА вирусы ретінде ЗМТ-тауық эмбрионында репродукцияланған AV-002 штаммы алынды. Аталған вакциналық штамды вакцина өндіру технологиясын құрастыру үшін зерттеу жұмыстары жалғастырылуда.

### Әдебиеттер

1. Bond D.S., Edgar S.A., Gonzales Calderin G., Negron Karoos B. Infectious bursal disease in Puerto Rico broilers // Avian Dis., 1970. - Vol.14. - № 2. - P. 404 - 405.
2. Сюрин В.Н., Самуйленко А.Я., Соловьев Б.В., Фомина Н.В. Вирусные болезни животных. – М.: ВНИТИБИ, 1998. - 928 с.
3. Алиев А.С. Диагностика инфекционного бурита кур // Птицеводство. – М., 1991. - № 10. – С. 19 – 22.

### Иегерлер туралы мағлұмат:

Мырзахметова Б.Ш. - биология ғылымдарының кандидаты, «ҚазҒЗВИ» ЖШС вирусология зертханасының меңгерушісі

Жантелиева Л.О. – «ҚазҒЗВИ» ЖШС індеттанулық мониторинг және жануарлардың вирусты ауруларының пайда болу тәуекелдерін бағалау бөлімінің ғылыми қызметкері

### Резюме

#### АНТИГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ВАКЦИННОГО ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОЙ БУРСАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ КУР

Жантелиева Л.О., Мырзахметова Б.Ш.

ТОО «Казакский научно-исследовательский ветеринарный институт»

В статье приведены материалы по изучению антигенных свойств нового вакцинного штамма AV -002 вируса инфекционной бурсальной болезни кур. Антигенная активность вируса устанавливалась путем определения специфических антител в организме привитых цыплят.

*Ключевые слова:* инфекционная бурсальная болезнь кур, вакцина, антиген

### **Summary**

#### **ANTIGENIC ACTIVITY OF THE VACCINE VIRUS INFECTIOUS BURSAL DISEASE OF CHICKENS**

Zhantelieva L.O., Myrzakhmetova B.Sh.

LLP «Kazakh scientific research veterinary institute»

The article presents materials on the antigenic properties of a new vaccine strain AV-002 of virus infectious bursal disease virus of chickens. Antigenic activity of the virus was established by determination of specific antibodies in the organism of vaccinated chickens.

*Keywords:* infectious bursal disease, vaccine, antigenic

УДК 613:616.571

#### **АНАЛИЗ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО БРУЦЕЛЛЕЗУ В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН И РЕЗУЛЬТАТЫ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ МОЛОКА КОЗ НА БРУЦЕЛЛЕЗ В АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ.**

**Иванов Н.П., Арысбекова А.Т., Саримбекова С.Н., Бакиева Ф.А.**

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме** В статье приведен анализ эпизоотической ситуации и изучен материал, полученный от лактирующих коз на бруцеллез в Алматинской области.

*Ключевые слова:* эпизоотология, бруцеллез, диагностика, молоко, серологические реакции, козы

**Введение** В мире, в том числе и в Казахстане, ликвидация бруцеллеза среди мелкого рогатого скота представляет серьезную проблему.

Заражение людей происходит контактным, алиментарным и реже - аэрогенным путями или их сочетаниями. Чаще всего алиментарным путем человек заражается при употреблении сырого молока и молочных продуктов [1].

Козье молоко, как высокопитательный продукт, широко используется в рационе людей.



Борьба с бруцеллезом животных имеет весьма большое социальное значение, для этого необходимо знать и контролировать эпизоотологическую ситуацию по этому заболеванию.

По данным областных филиалов Департамента ветеринарного контроля и надзора в целом по республике наблюдается некоторое увеличение числа заболевших бруцеллезом животных [2].

В 2014 году в республике было 114 неблагополучных пунктов по бруцеллёзу МРС, где содержалось 254 436 овец и коз. В 2015 году зарегистрировано 53 новых пункта: в Акмолинской области – 7; Актюбинской – 5; ВКО – 17; Жамбылской – 8; ЗКО – 6; Карагандинской – 9; Кызылординской – 1.

В 2014 году самые высокие показатели заболеваемости бруцеллезом овец и коз имели место в Семипалатинской – 1,24%, ВКО - 0,83%, Жамбылской – 0,70%, Алматинской – 0,56%, Талдыкорганской – 0,4% областях.

В 2015 году (за первый квартал) на территории РК зарегистрировано свежих очагов бруцеллеза среди МРС– 11, в том числе – в Акмолинской области – 1; Атырауской – 2; ВКО – 1; Жамбылской – 4; ЗКО - 3.

Самые высокие показатели заболеваемости бруцеллезом МРС в названном году отмечены в ВКО–2,37%, Атырауской – 1,06%, Алматинской – 0,35% областях.

Так, в частности, в Алматинской области в период 2014 года и 6 месяцев 2015 года по информации областной ветеринарной лаборатории были получены следующие данные серологических исследований на бруцеллез среди коз (таблица 1) [3].

Таблица 1- Результаты серологических исследований на бруцеллез среди коз в разрезе районов Алматинской области

№	Наименование районов	2014 год		6 мес.2015 г.	
		Кол-во проб	Полож. реагир-ло	Кол-во проб	Полож. реагир-ло
1	Аксуский	26 873	234	46 062	263
2	Алакольский	11 755	58	21 509	73
3	Балкашский	108	67	115	67
4	Енбекшиказ.	8 700	153	4 100	33
5	Ескельдинский	5 751	-	12 951	2
6	Жамбылский	1 521	11	527	-
7	Илийский	4 542	110	785	33
8	Карасайский	265	6	119	11
9	Караталский	6 315	84	8 424	300
10	Кербулакский	12 903	94	19 859	51
11	Коксуский	29 045	-	6 417	-
12	Панфиловский	338	-	6 329	4
13	Райымбекский	3 040	36	1 294	34
14	Саркандский	11 568	99	14 460	215

15	Талгарский	2 981	24	132	-
16	Уйгурский	5 231	60	529	27
17	г.Капшагай	12 568	73	3 944	43
18	г.Талдыкорган	3 604	-	158	-
19	г.Текели	976	5	250	-
	<b>Итого</b>	<b>178 084</b>	<b>1 114</b>	<b>147 964</b>	<b>1 157</b>

Из таблицы 1 видно, что в 2014 году на бруцеллез проверено 178 084 коз, за первые 6 месяцев 2015 года - 147 964. Из названного числа животных в 2014 году 1 114 имели позитивные показания иммунологических тестов на бруцеллез, а в 2015 году - 1 157. Как видно, заболеваемость среди коз за первые 6 месяцев 2015 года выше, чем за весь период 2014 года.

Таким образом, по республике в 2015 году были объявлены неблагополучными по бруцеллёзу МРС 38 пунктов, а заболеваемость колебалась от 0,35% до 2,37%.

В 2015 году в благополучных по бруцеллёзу хозяйствах содержалось 3005686 голов МРС, из них исследовано –147 738, что свидетельствует о не полном охвате диагностическими исследованиями имеющегося поголовья.

Особо следует отметить, что в республике отсутствуют отдельно данные по эпизоотической ситуации овце - и козепоголовья.

Однако, имеющиеся отрывочные данные показывают о наличие бруцеллезной инфекции среди коз.

**Материалы и методы исследований** Для проведения исследований был взят материал от 49 коз. Исследование крови животных проводили по общепринятым методикам (РБП, РА, РСК). Дополнительно подвергли исследованию молоко коз осадочной реакцией и кольцевой молочной пробой.

Перед взятием для исследования проб молока у коз обмывали вымя теплой водой, соски обрабатывали 70° спиртом. Для исследования из каждой доли вымени брали последние порции молока в отдельные стерильные пробирки [4]. Молоко от лактирующих коз брали либо катетером, либо выдаиванием из каждой доли вымени в отдельную пробирку.

**Результаты и обсуждение** Нами изучена ситуация в Алматинской области, Карасайского, Талгарского и Илийского сельских районах (таблица 2).

Таблица 2 – Результаты исследований материала взятого от коз в Алматинской области

№ п/п	Кол-во исслед. животных	Результаты исслед. сыв. крови			Резул. исслед. секрета молочной железы	
		РБП	РА	РСК	ОС	КМП
Карасайский район, село Алгабас						
1	2	-	-	-	-	-
Карасайский район, село Кемертоган						
2	5	-	-	-	-	-
Илийский район, село Бурундай						

3	4	-	-	-	-	-
4	1	++	+++	+++	+++	+++
Илийский район, село Ескелди						
5	7	#	#	#	#	#
Талгарский район, село Белбулак (отгон)						
6	6	-	-	-	-	-
Талгарский район, село Панфилов						
7	6	-	-	-	-	-
Талгарский район, Кербулакский отгонный участок						
8	28	-	-	-	-	-

Как видно из таблицы 2 при исследовании, выявлено 8 положительно реагирующих по всем диагностическим тестам (ОС, КМП, РБП, РА, РСК) в Илийском районе (с. Бурундай -1, с. Ескелди -7).

Результаты исследования сыворотки крови серологическими тестами и секрета молочной железы осадочной и кольцевой молочной пробы имеют несущественные отличия.

Показания осадочной и кольцевой реакций отражены в рисунках 1,2.



Рисунок 1- Осадочная реакция с молоком коз



Рисунок 2- Кольцевая молочная проба с молоком коз

От положительно реагирующих на бруцеллез коз, при исследовании молока осадочной реакцией, нами взят биоматериал для бактериологического исследования. При этом, из молока положительно реагирующих животных сделаны бактериологические высевы на селективную питательную среду и помещены в термостат при 37-38° С. Одновременно с этим поставлена биопроба на морских свинках из расчета два лабораторных животных на одну пробу и проведена бактериоскопия биоматериала.

Положительно реагирующих морских свинок подвергли убою и бактериологическому исследованию. Однако культура не была выделена.

**Заклучение** Результаты наших исследований показывают, что в Алматинской области имеет место бруцеллез среди коз. При чем заболеваемость животных в первые 6 месяцев 2015 года была выше, чем за весь период 2014 года.

В связи с этим возникает острая необходимость исследования молока этих животных на данную инфекцию, с целью обеспечения пищевой безопасности этого продукта.

Исследования молока коз на бруцеллез целесообразно проводить осадочной реакцией и кольцевой молочной пробой.

### **Литература**

1. Иванов Н.П. Бруцеллез животных и меры борьбы с ними. - А., 2007. - 609 с.
2. Отчетные данные по бруцеллезу за 2014 год Комитета Ветеринарного контроля и надзора, Астана, 2014.
3. «Информация по проведению серологических исследований на бруцеллез среди коз в разделе районов Алматинской области» 2015 г.2. с.
4. Наставление по диагностике бруцеллеза животных. Астана, 1999 г.

### **Сведения об авторах:**

Иванов Н.П. - доктор ветеринарных наук, профессор, академик НАН РК, главный научный сотрудник отдела по научно-методическому обеспечению эпизоотического и ветеринарно-санитарного благополучия ТОО «КазНИВИ»

Арысбекова А.Т. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела по научно-методическому обеспечению эпизоотического и ветеринарно-санитарного благополучия ТОО «КазНИВИ»

Саримбекова С.Н. – младший научный сотрудник отдела по научно-методическому обеспечению эпизоотического и ветеринарно-санитарного благополучия ТОО «КазНИВИ»

Бакиева Ф.А. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела по научно-методическому обеспечению эпизоотического и ветеринарно-санитарного благополучия ТОО «КазНИВИ»

### **Түйін**

**ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНДАҒЫ БРУЦЕЛЛЕЗ АУРЫНЫҢ  
ИНДЕТТІК ЖАҒДАЙЫН ТАЛДАУ ЖӘНЕ АЛМАТЫ ОБЛЫСЫНДА  
ЕШКІ СҮТІН БРУЦЕЛЛЕЗГЕ СЕРОЛОГИЯЛЫҚ ӘДІСТЕРМЕН ЗЕРТТЕУ  
НӘТИЖЕСІ**

Иванов Н.П., Арысбекова А.Т., Саримбекова С.Н., Бакиева Ф.А.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада біздің зерттеуіміздің нәтижесінде Алматы облысында ешкілер арасында бруцеллездің алатын орны көрсетіледі. 2014 жылғы қарағанда 2015 жылдың алғашқы 6 айында ауруға шалдығу көрсеткіші жоғары болды.

Осыған орай, осы жануарлардың аталған індетке сүтті зерттеу, тағам қауіпсіздігінің қамтамасыз ету қажеттілігін тудырады.

Ешкі сүтін бруцеллезге зерттеу тұнба және сақиналы сүт сынамасы реакцияларымен жүзеге асырылады.

*Кілттік сөздер:* бруцеллез, балау, сүт, серологилық реакциялар, ешкі

### **Summary**

#### **THE ANALYSIS OF THE EPIZOOTIC SITUATION ON THE BRUCELLOSIS IN THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN AND RESULTS OF SEROLOGICAL RESEARCHES OF MILK OF GOATS ON THE BRUCELLOSIS IN ALMATY REGION**

Ivanov N.P., Arysbekova A. T., Sarimbekova S. N., Bakiyeva F.A.

LLP «Kazakh scientific research veterinary institute»

Results of our researches shows that in Almaty region the brucellosis among goats takes place. Number of incidences of disease in the first 6 months 2015 is higher, than for the whole period of 2014.

In this regard there is an urgent need of research of milk of these animals on this infection, on purpose to ensuring food safety of this product.

It is reasonable to conduct researches of milk of goats on a brucellosis with sedimentary reaction and ring dairy test.

**Keywords:** brucellosis, diagnosis, milk, serum reactions, preservatives, goats

УДК 619:614.484

#### **ДЕЗИНФЕКЦИЯ ОБЪЕКТОВ ВЕТЕРИНАРНОГО НАДЗОРА В ТОО «БАЙСЕРКЕ-АГРО»**

**Искаков М.Ш., Егорова Н.Н., Жумаш А.С., Косаев Д., Султанбай Д., Байгоболов Н.О., Тургумбеков А.А.**

ТОО «Казаский научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме** В статье приведены результаты дезинфекции раствором Повидон-йода и щелочным раствором формальдегида объектов ветеринарного надзора в ТОО «Байсерке-Агро».

*Ключевые слова:* дезинфекция, микроорганизмы, Повидон-йод, щелочной раствор формальдегида

**Введение** В системе основных противоэпизоотических мероприятий особое место занимает дезинфекция как элемент существенного снижения общего количества микроорганизмов, так и полного обеззараживания патогенной микрофлоры на объектах внешней среды. Объектами дезинфекции в хозяйстве являлись помещения для животных и находящееся в них оборудование, инвентарь, спецодежда и т.д.

Эффективность обеззараживания химическими дезинфицирующими средствами зависит от ряда факторов, в том числе от биологических свойств возбудителей, концентрации рабочего раствора, его температуры, экспозиции, физических и химических свойств препаратов. При этом важное значение имеет контакт дезинфицирующего средства с возбудителем, норма расхода дезсредства на квадратный метр обрабатываемой площади, защищенности возбудителя органическими веществами и др. [1, 2, 3].

**Материалы и методы исследований** Исследования проводились согласно Правилам проведения дезинфекции и дезинвазии объектов государственного ветеринарного надзора, М., 2002. В качестве тест-культуры использовали музейный штамм кишечной палочки (штамм *Escherichia coli* 1257 – первая группа устойчивости) и золотистого стафилококка (штамм *Staphylococcus aureus* 209P – вторая группа устойчивости). При проведении работы применялись общепринятые методы бактериологических исследований. Эффективность обеззараживания обработанных поверхностей определяли с помощью тест-объектов в виде пластинок размером 10x10x2 см, контаминированных тест-культурами. Перед обработкой на тест-объекты наносили 1 мл 2 млрд взвеси культур по оптическому стандарту мутности ГИСК им. Л.А.Тарасевича и 0,2 г на 100 см<sup>2</sup> поверхности сухого стерильного навоза крупного рогатого скота в качестве белковой защиты. Подготовленные таким образом тест-объекты обрабатывали испытуемым дезинфицирующим средством с помощью ручного опрыскивателя при расходе до 1,0 л/м<sup>2</sup>. Контаминированные тест-объекты перед орошением располагали в различных местах горизонтально и вертикально. По истечении заданной экспозиции проводили смывы с поверхности материалов при помощи стерильных тампонов, которые после этого помещали в пробирки со стерильной водопроводной водой. Затем содержимое в лаборатории переносили в центрифужные пробирки и центрифугировали три раза по 20 минут при 3000 оборотов в минуту. Посевы

проводили на МПБ, МПА, элективную питательную среду для эшерихий - агар Эндо, среду Сабуро для грибковой микрофлоры.

С целью определения качества дезинфекции подсчитывали общее количество выросшей микрофлоры до дезинфекции и общее количество выросшей микрофлоры после дезинфекции. Пробы (смывы) брали с пола, стен, кормушек, поилок, перегородок и т.д. через 60-90 минут после дезинфекции. Площадь исследуемого объекта составляла 10 см x 10 см<sup>2</sup>. Высевы делали на МПБ и МПА. Подсчет колоний осуществляли через 24 часа после культивирования в термостате при 37<sup>0</sup>С.

**Результаты и обсуждение** Дана оценка ветеринарно-санитарного состояния молочно-товарного комплекса и молочно-товарной фермы ТОО «Байсерке-Агро». В помещениях молочно-товарного комплекса, где содержались коровы, в основном преобладали условно-патогенные микроорганизмы (протей, сенная палочка, сарцины и плесень). В телятниках же преобладали кокковые бактерии, кишечная палочка (стафилококки, диплококки, кокки).

В высевах из проб, взятых загонов и помещений молочно-товарной фермы, на питательных средах были обнаружены условно-патогенные микроорганизмы и кокковые бактерии. На среде Сабуро отмечался рост плесени и другой грибковой микрофлоры.

В помещениях молочно-товарного комплекса, где содержались коровы, нами проведена дезинфекция путем орошения раствором Повидон-йода в присутствии животных с применением дезинфекционной установки УД-3. Перед дезинфекцией была проведена механическая очистка помещений.

Разведение раствора Повидон-йода проводили согласно инструкции в пропорции 1:400:800 для помещений в присутствии животных. Дезинфекцию проводили методом орошения. Проверка качества дезинфекции проведена согласно «Методическим указаниям по контролю качества ветеринарной дезинфекции объектов животноводства». С целью определения качества дезинфекции подсчитывали общее количество выросшей микрофлоры до дезинфекции и общее количество выросшей микрофлоры после дезинфекции. Пробы (смывы) брали с пола, стен, кормушек, поилок, перегородок и т.д. через 60-90 минут после дезинфекции. Площадь исследуемого объекта составляла 10 см x 10 см<sup>2</sup>. Высевы делали на МПБ и МПА. Подсчет колоний осуществляли через 24 часа после культивирования в термостате при 37<sup>0</sup>С. Общее количество микроорганизмов до дезинфекции в среднем составило 2,6 млн микробных тел, после дезинфекции около 0,6 млн микробных тел – эффективность обеззараживания – 76,9%.

Полученные результаты свидетельствуют о низкой эффективности обеззараживания растворов Повидон-йода или недостаточно высокой концентрации его в растворе. Из смывов с контаминированных тест-объектов также была выделена культура *Escherichia coli*. При повышении концентрации Повидон-йода в 3 раза получены аналогичные результаты, т.е. обеззараживающая эффективность



раствора была низкой. На рисунке 1 представлен рост суточной культуры *Escherichia coli*, выделенной из объекта внешней среды (в телятнике).

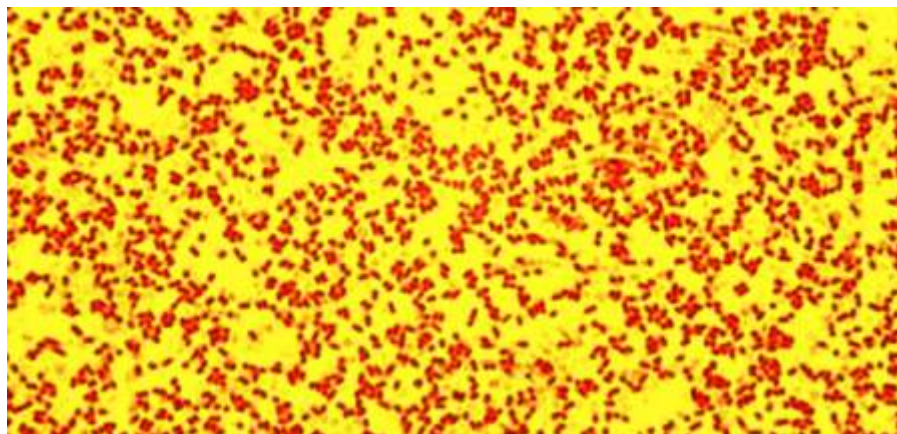


Рис. 1 - Рост суточной культуры *Escherichia coli*, выделенной из объекта внешней среды.

На рисунке видны грамтрицательные крупные палочки с закругленными концами, типичные для *Escherichia coli*.

На рисунке 2 изображен рост кокков, изолированных из телятника до дезинфекции.

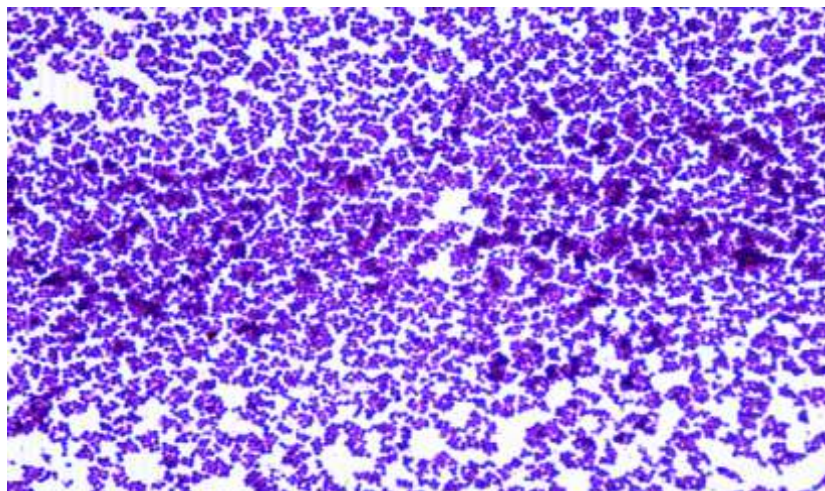


Рис. 2 – Рост кокков, выделенных из телятника.

На рисунке 2 видны крупные грамположительные кокки.

Проведена дезинфекция дезинфицирующей установкой УД-3 (Рис. 3), в телятнике в отсутствие животных, клеток для телят (Рис. 4), выгульных площадок и прилегающей территории 2,0%-ным щелочным раствором формальдегида, расход дезинфицирующего средства до 1 литра на 1 квадратный метр. Перед дезинфекцией была проведена механическая очистка помещений.

Схема приготовления рабочего раствора 2%-ного раствора формальдегида: в 500 литровую емкость заливали 250 литров воды, растворяли в ней 10 кг каустической соды, затем в емкость добавляли 25



литров раствора формалина, перемешивали, затем доводили раствор до 500 литров, разбавляя водой. Эффективность обеззараживания в телятнике составила 90,1%, выгульных площадок - 92,0%, а прилегающей к комплексу территории – 95%. Культуры *Escherichia coli* и кокков после дезинфекции из тест-объектов не выделены.



установка

Рис.4 - Дезинфекция клеток для телят  
УД-3

Рис. 3 -Дезинфекционная

В течение месяца на территории молочно-товарной фермы дезинфекцию проводили путем орошения щелочным раствором формальдегида в концентрации 3,0% - 4,0%, расход дезинфицирующего средства до 1 литра на 1 квадратный метр. После механической очистки проводили дезинфекцию в следующих загонах и прилегающих к ним территориях: загон для дойного гурта, площадь; загон для дойного гурта; загон для телок случного возраста; загон для породы Ангус (изолятор); загон для сухостойных коров; загон для телят; загон для быков производителей; загон для дойного гурта; загон для молодняка. На дезинфекцию каждого загона приходился 1 день, с утра до обеда проводили механическую очистку загона и прилегающей к нему территории, после обеда готовили дезинфицирующий раствор и проводили дезинфекцию. Для механической очистки и дезинфекции баз уходило по 2 дня: база № 1; база № 2; база для откорма бычков (бычатник); родильное отделение + загон. С целью определения качества дезинфекции подсчитывали общее количество выросшей микрофлоры до дезинфекции и общее количество выросшей микрофлоры после дезинфекции. Пробы (смывы) брали с пола, стен, кормушек, поилок, перегородок и т.д. через 60-90 минут после дезинфекции. Площадь исследуемого объекта составляла 10 см<sup>2</sup> x 10 см<sup>2</sup>.

Высевы делали на МПБ, МПА и среду Сабуро. Подсчет колоний осуществляли через 24 часа после культивирования в термостате при 37<sup>0</sup>С. Среду Сабуро с посевами оставляли на 21 сутки при комнатной температуре. Количество микробных тел на рабочую поверхность до дезинфекции составляло от 5 до 7 млн микробных тел, после дезинфекции происходило резкое снижение микроорганизмов – до 260-280 тысяч. Эффективность обеззараживания составила более 94%. Из смывов тест-объектов тест-культуры *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* после дезинфекции выделены не были.

**Заключение** Результаты проведенных исследований свидетельствуют о низкой эффективности обеззараживания растворами Повидон-йода при дезинфекции объектов ветеринарного надзора. Высокая концентрация Повидон-йода в дезинфицирующем растворе не влияет на обеззараживающую эффективность.

После дезинфекции 2,0%-ным щелочным раствором формальдегида, расход дезинфицирующего средства до 1 литра на 1 квадратный метр с экспозицией 60-90 минут тест-культуры кишечной палочки выделены не были, а в концентрации более 3,0% - культуры золотистого стафилококка также не высевались.

## Литература

1. Досанов К.Ш., Еспембетов Б.А., Исаков М.Ш., Ромашев К.М. Эффективность применения альдегидсодержащих препаратов для санации объектов ветеринарного надзора. // Матер. Межд. науч-пр. конф., посв. 60-летию ТаджНИВИ. – Душанбе. – 2003.
2. Ощепков В.Г., Аржаков В.Н. Устойчивость микобактерий к дезинфицирующим средствам // Ветеринария.-2002.-№3.-С.49-52.
3. Поляков А.А. Ветеринарная дезинфекция. //М., Колос, 1975, 560 с.

## Сведения об авторах:

Исаков М.Ш. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела по научно-методическому обеспечению эпизоотического и ветеринарно-санитарного благополучия ТОО «КазНИВИ»

Егорова Н.Н. – кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»;

Жумаш А.С.- доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник отдела по научно-методическому обеспечению эпизоотического и ветеринарно-санитарного благополучия ТОО «КазНИВИ»;

Косаев Д. - главный ветеринарный врач ТОО «Байсерке-Агро»;

Султанбай Д. - главный технолог-животновод молочно-товарного комплекса ТОО «Байсерке-Агро»;

Байгоболов Н.О. - ветеринарный врач молочно-товарной фермы ТОО «Байсерке-Агро»;

Тургумбеков А.А. - ветеринарный врач гинеколог молочно-товарной фермы ТОО «Байсерке-Агро»;

### **Түйін**

#### **«БАЙСЕРКЕ-АГРО» ЖШС АУМАҒЫНДАҒЫ ВЕТЕРИНАРЛЫҚ БАҚЫЛАУ ОБЪЕКТТЕРІН ДЕЗИНФЕКЦИЯЛАУ**

Искаков М.Ш., Егорова Н.Н., Жұмаш А.С., Қосаев Д., Сұлтанбай Д.,  
Байгоболов Н.О., Тургумбеков А.А.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада «Байсерке-Агро» ЖШС ветеринариялық бақылау нысандарында Повидон-йод және сілтілі формальдегидтің дезинфекциялық ерітінділерімен жүргізілген дезинфекция нәтижелері баяндалады.

*Кілттік сөздер:* дезинфекция, микроорганизмдер, Повидон-йод, сілтілі формальдегид ерітіндісі

### **Summary**

#### **DISINFECTION OF OBJECTS OF VETERINARY SUPERVISION IN LLP «BAYSERKE-AGRO»**

Iskakov M.Ch., Egorova N.N., Zhumach A.S., Kosaev D., Sultanbay D.,  
Baigobolov N.O., Tyrgymbekov A.A.

LLP «Kazakh scientific research veterinary institute»

In the article the results of disinfection with a solution of Povidone-iodine and an alkaline solution of formaldehyde of objects of veterinary supervision in LLP «Baysreke-Agro»

*Keywords:* disinfection, microorganisms, Povidone-iodine, alkaline formaldehyde solution

ӘОЖ 619:616.982.636.2

#### **ӘР ТҮРЛІ АЙМАҚТА ОРНАЛАСҚАН ІРІ ҚАРА МАЛ КЕШЕНДЕРІНДЕГІ НЕКРОБАКТЕРИОЗ АУРУЫНЫҢ ТАРАЛУЫ**

**Канатов Б., Сущих В.Ю., Горелов Ю. М., Егорова Н.Н.**

**Түйін** Мақалада Алматы облысының үш аймағында орналасқан мал кешеніндегі ақсақ сиырлардан алынған сынамаларды зерттеу нәтижелері келтірілген. Зерттеу нәтижесінде ақсақ сиырлардың арасындағы некробактериоз ауруы, басқа аймақтармен (шығыстағы мал кешенінде – 9,7%; оңтүстік (тау бөктеріндегі) аймақта - 5%) салыстырғанда солтүстік аймақтағы мал кешенінде жиі - 16% және ауру барысы ауыр түрде өтетіндігі анықталған

*Кілттік сөздер:* бақайкұрт (некробактериоз), ауру қоздырғышы, аймақ, шектелген аймақта таралған (энзоотия), ақсақ мал.

**Кіріспе** Қазақстан халқын жоғары сапалы және қауіпсіз, таза мал өнімдерімен толық қамтамасыз ету, дүниежүзілік сауда ұйымына мүше болу алдында тұрған біздің елдің алдында тұрған ең басты міндеттердің бірі. Бұл мақсатқа жету үшін Қазақстан Республикасында мал шаруашылығын қарқынды дамытуды бірінші орынға қою керек. Осы міндетті орындау жолында мал шаруашылығының дамуына кері әсер ететін факторлар бар. Олардың бірі – сауын сиырлардың некробактериоз жұқпалы ауруы.

Некробактериоз ауруы дүние жүзінде, оның ішінде Қазақстанда кездеседі [1]. Некробактериоз (Necrobacteriosis) – көбінесе созылмалы өтетін, малдың аяғының табанының тері және тері асты қабатының, кейде ауыз қуысының, жыныс жолдарының, желін, бауыр, өкпе және басқа мүшелерінде ұлпасын зақымдап, іріңдетіп-шірітетін үрдіспен өтетін жұқпалы ауру. Ауру қоздырғышы – *Fusobacterium Necrophorum* – анаэроб, Грамм әдісі бойынша теріс боялады. Бұл аурудың сүт шаруашылығына келтіретін экономикалық шығыны өте үлкен. Басқасын айтпағанның өзінде некробактериозға ұшыраған мал азып, 50% дейін салмағын жоғалтады, ал сүт өнімі – 20-40% түсіп кетеді. Некробактериоз ірі және ұсақ қара малдарда, бұғы, үй және жабайы жануарларда, құстарда кездеседі [2]. Аурудың қоздырғышы мал организміне сыртқы тері, тері асты қабаты, ауыз қуысының кілегей қабығы зақымданғанда, ластанған жем-шөп арқылы алиментарлық жолмен таралады. Табиғи жағдайда көбіне асыл тұқымды ірі қара малы жиі ұшырайды, ал жергілікті мал арасында сиректеу келеді. Ауру жыл мезгіліне байланысты көктем және күзде, жаңбырлы, ылғалды, сулы, батпақты жерлерде көп кездеседі. Инкубациялық кезеңі 1-3 күн. Жиі - созылмалы, сирек - жіті түрі кездеседі. Өлген малдарды патологиялық-анатомиялық сойып көргенде, мал ұшасы арық, зақымданған жерлерден жағымсыз иіс шығады, жараланған жер іріндеген, шіріген, қанаған, кейде некробактериоздың асқынған ауру түрінде тіпті тұяқ сүйектерінің жалаңаштанып, түсіп қалуы да кездеседі. Некробактериоз (бақайкұрт) ауруының жеңіл, орташа және ауыр түрі кездеседі. Ауырған мал ақсаңдап, қатты ақсаңдап, ауырған аяғын баса алмай жүреді, ал аурудың асқынған ауыр түрінде ауырған мал жатып қалады, малды арасында аударып тұрмаса, жатқан жағы іріндеп, тесіліп, жауыр болып қалады. Бақайкұрт көбіне энзоотия түрінде өтеді [4]. Бұл ауруды емдеу үшін әртүрлі шаралар дәрі-

дәрмектер қолданылады. Бұрыннан келе жатқан емдеу әдістері қазіргі заманауи шетелдік және отандық фармацевтиканың шығарған дәрі-дәрмектерімен толықтырылуда [3,5].

**Зерттеу мақсаты** Алматы облысының әртүрлі аймағында (солтүстік, шығыс және оңтүстік (тау бөктерінде)) орналасқан сүтті ірі қара мал шаруашылығы кешендеріндегі малдар арасында некробактериоз ауруының таралуын анықтау, эпизоотологиялық мониторинг жүргізу, малдың орналасқан жерінің, күтіп-бағуының, өсіру режимінің осы аурудың таралу барысына әсерін, ауру қоздырғышын бөлу, қоректік ортада бөлінген олардың биологиялық, морфологиялық, өсу, антигендік, иммуногендік, вируленттік қасиеттерін зерттеу.

**Материалдар және зерттеу әдістері** Жұмысты орындау барысында эпизоотологиялық мониторинг, бактериологиялық, биохимиялық зерттеу әдістері қолданылды. Некробактериоз қоздырғышының өсу-морфологиялық қасиеттерін алынған сынамаларды етті-пептонды-бауырлы сорпадан (ЕПБС) жасалынған 1% глюкоза ерітіндісі қосылған Китт-Тароции қоректік ортасына сеуіп өсіру арқылы зерттедік. Грамм және қарапайым әдіс арқылы боялған тәуліктік өсіндіден жұғынды жасап, микроскоппен көріп морфологиясын анықтадық. Қоздырғыштың вируленттілігін зертханалық ақ тышқандар мен теңіз шошқаларына биопроба қою арқылы зерттедік. Бөлінген қоздырғышты Берджи анықтағышы бойынша анықтап, ажыраттық [6].

**Зерттеу нәтижелері** Зерттеу нысаны ретінде Алматы облысының үш аймағында (солтүстік, шығыс және оңтүстік – тау етегіндегі) орналасқан ірі қара мал өсіретін, сүт шаруашылығымен айналысатын үш кешенде жүргізілді. Эпизоотологиялық мониторинг жүргізу барысында осы шаруашылықтарда некробактериоз ауруының кездесетінін анықтадық. Ақсақ малдарды барлық сауын сиырларды сауын алдында және сауыннан кейінгі мацион кезінде бақылап, визуалды әдіспен анықтап, бөліп алдық. Олардың ауру аяқтарын алдымен «марганцовка» ( $KMnO_4$ ) қосылған жылы сумен жақсылап жуып-шайып, ауру себебін, оның деңгейін анықтадық. Алматы облысының солтүстік аймағында орналасқан мал кешенінде 200 бас сауын сиырдың 32 (16%) басы ақсақ мал болды; шығыста 92 бастың 9 (9,7%) басы және оңтүстікте (тау бөктері) 101 бастың 5 (4,8%) басы ақсақ болды. Анықтау барысында тек қана тұяқтарының уақытында кесілмей өсіп кеткендігінен ғана ақсап жүрген малдардың тұяқтарын кесіп, қысқартып, қалыпқа келтірдік. Ал, тұяқтары әр түрлі деңгейде зақымдалған малдардан, зақымдалған жер мен сау ұлпаның шектескен шекаралық жерінен зертханалық жағдайда зерттеу үшін сынамалар алдық. Емдеу барысында шаруашылықтың қаржылық шамасына қарай әр түрлі дәрі-дәрмектер қолданылды. Көбіне емдеу сұлбасы ұқсас. Зарарсыздандыратын дәрі ( $KMnO_4$ ,  $H_2O_2$ , фурацилин, бор қышқылы, глютекс және т.с.с.) қосылған жылы сумен жақсылап жуып-шайып, тазалап, аурудың деңгейін, этиологиясын анықтадық. Аурудың сипатына қарай АСД-3, әр түрлі (окситетрациклин, пенициллин, стрептомицин, бициллин 2,3; стрептоцид) антибиотиктер және сульфаниламидтер қосылған жақпа майлар, деготь, креолин, Вишневский

линименті, Конков, синтомицин майлары қолданылып, дәкемен байланды. Ауырған жақ аяқтағы бұлшық етке әр түрлі антибиотиктер (окситетрацилин, бициллин-5 және т.с.с.) және ҚазҒЗВИ жасалынған некробактерин дәрісі де егілді. Осы аурудың алдын алу үшін формалин, тотыяйн (мыс купоросы), ас тұзы, глютекс қосылған аяқ моншалары қолданылды. Ең тиімдісі: ҚазҒЗВИ дайындалған некробактериоз және тұяқ шірімесіне қарсы ассоциацияланған вакцинаны қолдану.

**Қорытынды** Зерттеу нысаналары болған үш аймақтан некробактериоз ауруы салыстырмалы түрде Алматы облысының басқа аймақтарына (шығыс-9,7%; оңтүстік (тау бөктері)-5%) қарағанда, солтүстік аймағында жиі кездеседі- 16% және ауру барысы асқынған ауыр түрде өтеді.

### **Әдебиеттер**

1. Сайдулдин Т. Индеттану және жануарлардың жұқпалы аурулары.- Алматы, 2009.
2. Молдагулов М.А., Ермаханов А.М., Есходжаев У.К., Камбарбеков А.Т. Жануарлар ауруларының клиникалық диагностикасы.- Алматы, 2007.
3. Самоловов А.А. Некробактериоз крупного рогатого скота и пути решения проблемы//Аграрная Россия.-М.,2001.-№3.
4. Сидорчук А.А. Некробактериоз: прошлое, настоящее, будущее//Ветеринарная медицина.- М., 2002.- №2.
5. Брылин А.П. Лечение крупного рогатого скота при некробактериоз//Ветеринария.-М., 2005.
6. Хоулт Дж. Определитель бактерий Берджи.-М.: Мир, 1997.

### **Иегерлер туралы мағлұмат:**

Канатов Б. – ветеринария ғылымдарының кандидаты, «ҚазҒЗВИ» ЖШС індеттік және ветеринариялық-санитариялық қолайлылықты ғылыми-әдістемелік қамтамасыз ету бөлімінің аға ғылыми қызметкері

Сущих В.Ю. – ветеринария ғылымдарының кандидаты, «ҚазҒЗВИ» ЖШС індеттік және ветеринариялық-санитариялық қолайлылықты ғылыми-әдістемелік қамтамасыз ету бөлімінің аға ғылыми қызметкері

Горелов Ю.М. – биология ғылымдарының докторы, профессор, «ҚазҒЗВИ» ЖШС жаңа биопрепараттарды ойластыру және өндіріске ендіру бөлімінің бас ғылыми қызметкері

Егорова Н.Н. - ветеринария ғылымдарының кандидаты, «ҚазҒЗВИ» ЖШС жаңа биопрепараттарды ойластыру және өндіріске ендіру бөлімінің аға ғылыми қызметкері

### **Резюме**

## РАСПРОСТРАНЕНИЕ НЕКРОБАКТЕРИОЗА В ЖИВОТНОВОДЧЕСКИХ КОМПЛЕКСАХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНОВ

Канатов Б., Суших В.Ю., Горелов Ю. М., Егорова Н.Н.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

В статье приводятся результаты исследований проб от хромых коров, содержащихся в животноводческих комплексах трех регионов Алматинской области. Установлено, что у таких коров уровень обнаружения некробактериоза с клинически тяжелой формой в северном регионе выше (16%) по сравнению с южным (5%) и восточным (9%) регионами.

*Ключевые слова:* некробактериоз, возбудитель, регион, энзоотия, хромые животные

### Summary

#### DISTRIBUTION OF NECROBACILLOSIS AMONG LIVESTOCK COMPLEX, LOCATED IN DIFFERENT REGIONS.

Kanatov B., Suchshikh V. U., Gorelov Y.M., Egorova N.N.

LLP «Kazakh scientific – research veterinary institute»

The article presents results of testing of samples from lame cows kept in breeding complexes in three regions of Almaty oblast. It was found that the detection rate of cows' necrobacteriosis with clinically severe form of the disease is higher (16%) in the northern region compared with the south (5%) and east (9%) regions.

*Keywords:* necrobacteriosis, disease agent, region, enzootic disease, lame cows

УДК 578.832.1:578.4

#### ВЫДЕЛЕНИЕ ПАРАМИКСОВИРУСА СЕРОТИПА 1 (ПМВ-1) ОТ ОГАРЯ В 2013 ГОДУ В ЮЖНОМ КАЗАХСТАНЕ

Касымбеков Е.Т., Карамендин К.О., Кыдырманов А.И., Даулбаева К.Д., Асанова С.Е., Хан Е.Я., Сейдалина А.Б., Хожамжарова М.О., Сулейменова С. А., Жуматов К.Х., Саятов М.Х.

РГП на ПХВ «Институт микробиологии и вирусологии КН МОН РК»

**Резюме** В статье представлены данные об идентификации и молекулярно-генетического анализа парамиксовирусов птиц серотипа 1 (ПМВ-1), выделенных от диких птиц в природных биоценозах юга Казахстана. Показана его принадлежность к филогенетическому классу I, который включает в себя в основном низко- или апатогенные варианты ПМВ птиц.

*Ключевые слова:* парамиксовирус, возбудитель, вирус болезни Ньюкасла, серотип, птица, секвенирование

**Введение** Со времени обнаружения в 1926-1927 гг. в Индонезии и Великобритании, ПМВ-1 остается одним из патогенных агентов, вызывающим тяжелые заболевания многих видов птиц и наносящим большой экономический ущерб птицеводческим хозяйствам [i, ii].

Особенностью вируса болезни Ньюкасла (ВБН), принадлежащего к этому серотипу является способность различных изолятов и штаммов вызывать заболевания самой разной степени тяжести, даже в пределах одного восприимчивого вида. Геном ВБН представлен однонитевой РНК негативной полярности, кодирующий 6 белков: поверхностные - гемагглютинин-нейраминидазу (HN), белок слияния (F) и внутренние – РНК-зависимую РНК-полимеразу (L), матриксный протеин (M), фосфопротеин (P) и нуклеопротеин (NP) [iii].

Исследования, выполненные во многих странах, показали, что ВБН различных филогенетических линий, представляющие разные географические регионы мира, одновременно подвергаются эволюционным изменениям, что значительно затрудняет контроль и диагностику болезни [iv].

В настоящем сообщении приводятся результаты изоляции и идентификации ПМВ, выделенного в 2013 г. от диких птиц в природных биоценозах юга Казахстана.

Чокпакский перевал в Южном Казахстане известен как один из основных путей массового пролета птиц. Мигрирующие птицы с огромной территории республики встречают на своем пути хребты Тянь-Шаня высотой в 3500 – 7000 м. Для многих видов птиц они являются существенной преградой, поэтому птицы изменяют полет по направлению к этому межгорному участку. Видовой состав птиц в этом районе во время осенних миграций насчитывает около 150 видов [v].

Скопления птиц в период весеннего и осеннего перелетов создают условия для широкой циркуляции орто- и парамиксовирусов с возможным появлением вариантов с новыми биологическими свойствами. В этой связи мониторинг этих вирусов среди диких птиц в Южном и Юго-Восточном регионах республики является актуальной задачей.

**Материалы и методы** Биологические образцы собирали стерильными ватными тампонами в криобирки со средой 199, содержащей комплекс антибиотиков и бычий сывороточный альбумин в конечной концентрации 0,5%.



Изоляцию вируса проводили путем инокуляции каждой пробы в аллантаисную полость трех 10-11 дневных куриных эмбрионов с последующей инкубацией при 37°C в течение 48-72 ч. Аллантаисную жидкость на наличие вируса проверяли в реакции гемагглютинации (РГА) микрометодом с использованием 0,75% суспензии куриных эритроцитов.

Вирусную РНК выделяли с использованием набора QIAampViral RNA Minikit (Qiagen GmbH, Hilden) в соответствии с рекомендациями производителя. Обратную транскрипцию - полимеразную цепную реакцию (ОТ-ПЦР) выполняли в одношаговом формате с использованием набора Access Quick RT-PCR Kit (Promega, США) на амплификаторе Eppendorf Gradient с праймерами к участку L-гена ВВН.

Секвенирование проводили на приборе Illumina MiSeq, используя комплект MiSeq Reagent v.3 (Illumina, США). Полученные последовательности были проанализированы и собраны с использованием программного обеспечения Genome Sequencer (v. 2.8, Roche, Германия).

Выравнивание и филогенетический анализ секвенированных генов ПМВ с полными нуклеотидными последовательностями таковых из Генбанка проводили с помощью компьютерной программы MEGA 5.2 методом присоединения соседей на основании 1000 выборок, модель Tamura-Nei.

**Результаты и обсуждение** В сентябре 2013 г. во время осеннего перелета птиц в природных биоценозах Чокпакского перевала для вирусологических исследований собраны 109 биопроб (свежие пометы, трахеальные и клоакальные смывы) от семи видов птиц относящихся к четырем семействам: *Anatidae*, *Accipitridae*, *Charadriidae*, *Scolopacidae*. Характеристика собранных проб приведена в таблице 1.

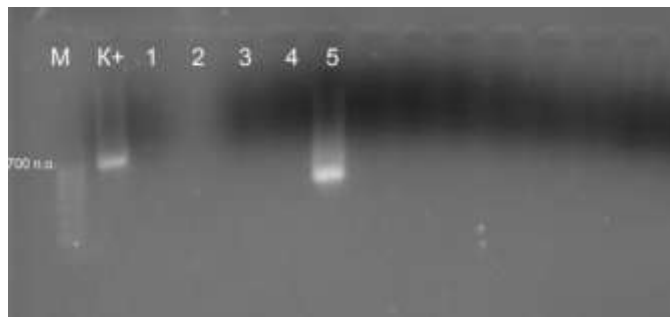
Таблица 1 - Характеристика биопроб от диких птиц, отловленных на Чокпакском перевале

Вид:	Отряд:	Семейство:	Кол-во особей	Кол-во проб
Огарь ( <i>Tadorna ferruginea</i> )	Пластинчатоклювые ( <i>Anseriformes</i> )	Утиные <i>Anatidae</i>	39	39
Ястреб переплятник ( <i>Accipiter nisus</i> )	Соколообразные ( <i>Falconiformes</i> )	Ястребиные ( <i>Accipitridae</i> )	1	2
Щеголь ( <i>Tringa erythropus</i> )	Ржанкообразные ( <i>Charadriiformes</i> )	Ржанковые ( <i>Charadriidae</i> )	2	4
Кулик-воробей ( <i>Calidris minuta</i> )			6	12
Вёк ( <i>Charadrius alexandrinus</i> )			1	2
Чернозобик ( <i>Calidris alpina</i> )			3	6
Турухтан ( <i>Phylomachus pugnax</i> )		Бекасовые <i>Scolopacidae</i>	22	44

В результате заражения 9-10 дневных куриных эмбрионов собранными материалами были выделены четыре гемагглютинирующих агента (ГАА), при этом два изолята были получены при первичном заражении с титрами в

реакции гемагглютинации от 1:16 до 1:512. Два других ГАА были выделены в результате трех последовательных пассажей.

Для идентификации выделенных агентов применяли ОТ-ПЦР с последующим секвенированием с праймерами к фрагменту консервативной последовательности L гена ПМВ, которые охватывают участки геномов в 700 п.о. В результате реакции обнаружен положительный образец, что свидетельствует о циркуляции ПМВ на территории Южного Казахстана (рисунок 1).



Примечание: «М» – ДНК маркер; «К+» – положительный контроль; № 1-5 – нумерация проб

Рисунок 1 – Электрофореграмма результатов ПЦР с биопробами от птиц Южного Казахстана

Для определения серотипа казахстанского изолята от дикой птицы из Южного Казахстана проведено секвенирование ПЦР-продукта в Национальном центре биотехнологии (Астана).

В результате сравнительного BLAST-анализа секвенированной нуклеотидной последовательности с другими, депонированными в Genbank, установлено, что изолят из Южного Казахстана ПМВ-1/огарь/Чокпак/5717/2013 относится к первому серотипу и проявляет близкое сходство (99%) со штаммом APMV-1/Pochard/Finland/13193/06, выделенным в 2008 г. от дикой утки в Финляндии.

Таким образом, установлено, что казахстанский изолят ПМВ-1/огарь/Чокпак/5717/2013 принадлежит к филогенетическому классу I, который включает в себя в основном низко- или апатогенные ПМВ, что согласуется с предыдущими исследованиями, указывающими на то, что семейство Утиные является одним из основных резервуар ПМВ-1 в дикой природе.

**Заключение** В 2013 г. от диких птиц в природных биоценозах юга Казахстана выделен и идентифицирован изолят парамиксовируса ПМВ-1/огарь/Чокпак/5717/2013 и установлена его принадлежность к группе низкопатогенных вирусов класса I.

## Литература

1 Kraneveld F.C. A poultry disease in the Dutch East Indies // Nederlands-Indische Bladen voor Diergeneeskunde. - 1926. - Vol. 38. - P. 448 - 450.

2 Doyle T.M. A hitherto unrecorded disease of fowls due to a filter-passing virus // J. Comparative Pathology and Therapeutics. - 1927. - Vol.40. - P. 144 - 169.

3 Alexander D.J. Newcastle disease and other avian Paramyxoviruses // Rev. sci. tech. Off int. Epiz. – 2000. -Vol. 19(2). - P. 443 - 462.

4 Cattoli G., Fusaro A., Monne I. et al., Emergens of a new genetic lineage of Newcastle disease virus in West and Central Africa implications for diagnosis and control. Vet. Microbiol. - 2010. - 142 (3-4), 168 - 176.

5 Ковшарь А.Ф. Осенний пролет птиц в заповеднике Аксу-Джабаглы. В кн.: Орнитология. - М., 1963. - Вып. Б. - С. 360 - 363.

### **Сведения об авторах:**

Касымбеков Е. Т. - магистр ветеринарных наук, РГП «Институт микробиологии и вирусологии»

Карамендин К. О. – кандидат ветеринарных наук, РГП «Институт микробиологии и вирусологии»

Кыдырманов А. И. – доктор ветеринарных наук, РГП «Институт микробиологии и вирусологии»

Асанова С. Е. - кандидат биологических наук, РГП «Институт микробиологии и вирусологии»

Дауылбаева К. Д. - кандидат биологических наук, РГП «Институт микробиологии и вирусологии»

Хан Е. Я. - магистр ветеринарных наук, РГП «Институт микробиологии и вирусологии»

Сейдалина А. Б. - магистр биологических наук, РГП «Институт микробиологии и вирусологии»

Хожамжарова М. О. – лаборант, РГП «Институт микробиологии и вирусологии»

Сулейменова С. А. – лаборант, РГП «Институт микробиологии и вирусологии»

Жуматов К. Х. – доктор биологических наук, профессор, РГП «Институт микробиологии и вирусологии»

Саятов М. Х. - доктор биологических наук, Академик НАН РК, РГП «Институт микробиологии и вирусологии»

### **Түйін**

**2013 ЖЫЛЫ ҚАЗАҚСТАННЫҢ ОҢТҮСТІГІНЕН САРЫАЛА ҚАЗДАН  
СЕРОТИПІ 1 ПАРАМИКСОВИРУСЫН (ПМВ-1) АЖЫРАТЫП АЛУ**

Касымбеков Е.Т., Карамендин К.О., Кыдырманов А.И., Даулбаева К.Д.,  
Асанова С.Е., Хан Е.Я., Сейдалина А.Б., Хожамжарова М.О., Сулейменова  
С. А., Жуматов К.Х., Саятов М.Х.

ҚР ҒК БЖҒМ РМК «Микробиология және вирусология институты»

Мақалада Қазақстанның оңтүстігіндегі табиғи биоценоздарда түз құстарынан ажыратып алынған құстардың серотипі 1 пармиксовирусын (ПМВ-1) ажырату мен молекулалы-генетикалық талдау мәліметтері келтірілген. Оның құстардың төмен- немесе апатогенді ПМВ жататын филогенетикалық I класына кіретіні көрсетілген.

*Кілттік сөздер:* парамиксовирус, қоздырғыш, Ньюкасл ауруының вирусы, серотип, құс, секвендеу

### Summary

#### ISOLATION OF SEROTYPE 1 (PMV-1) PARAMYXOVIRUS FROM RUDDY DUCK IN 2013 IN SOUTHERN KAZAKHSTAN

Kasymbekov E.T., Karamendin K.O., Kydyrmanov A.I., Asanova S.E.,  
Daulbayeva K.D., Khan E.Y., Seidalina A. B., Khozhamzharova M.O.,  
Suleimenova S. A., Zhumatov K. Kh., Sayatov M. Kh.

RSE «Institute of microbiology and virology» CS MES RK

The article presents data on the identification and molecular genetic analysis of avian serotype 1 (PMV-1) paramyxovirus isolated from wild birds in natural biological communities of southern Kazakhstan. Its belonging to the phylogenetic class I, which comprises mainly low- or nonpathogenic variants PMA birds is shown.

*Keywords:* paramyxovirus, the causative agent, Newcastle disease virus, bird, serotype, sequencing

УДК 619:616.993.

#### ҚАЗАҚСТАННЫҢ ОҢТҮСТІК ӨңІРІНДЕ ҚОЙЛАРДЫҢ АРАЛАС ГЕЛЬМИНТОЗЫНА ҚАРСЫ КЕҢ КӨЛЕМДІ ӘСЕРІ БАР «ГРЕТЫКОЛ» ДӘРІСІН ЖАСАУ

Кожабаяев М., Лесов Б., Калаубаев А., Тохтарова Г.К., Алтаева К.

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

**Түйін** Мақалада жаңа «Гретыкол» дәрісін жергілікті жердің өсімдіктерінен жасау және оны 2% тотияйынның ерітіндісімен біргелікте жануарлардың аралас инвазиясына цестодоздарға және нематодоздарға қолданылғанда олардың антигельминттік белсенділігі артады. Экстенсивтілігі интенсификациясы 90% пайыздан жоғары болады.

*Кілттік сөздер:* гельминт, гемонхоз, мониезиоз, трихостронгилидоз

**Кіріспе** Қойлардың гельминтоз аурулары оңтүстік өңірінде негізінен қой шаруашылығы дамыған жерлерде жаппай тарқалған.

Субтропикалық климатта қойлардың паразитоз ауруларының экстенсивтілігі, интенсификациясы бірден көтеріліп көптеген паразитоз ауруларының дамуына үлкен әсерін тигізеді, әсіресе гельминтоздық инвазия аралас түрінде кездеседі және оңтүстік өңірінде кеңінен таралуына қолайлы жағдай туғызады. Сонымен бірге метеорологиялық жағдайдың көрсеткіші орташа болған жылдары, қуаңшылық алқаптардада қойлардың гемонхоз, мониезиоз, нематодоз, диктиокаулез аурулары бұрқ ете түсіп негізінен аралас инвазия түрінде жаппай және өте ауыр түрінде өтуі мүмкін.

Оңтүстік өңірінде қойлармен және басқа күйіс қайтарушылардың арасында инвазияның қоздырушылары өзара алмасу қарамал, ешкілер, түйелерде кездеседі. Паразитарлық аурулар Қазақстанның оңтүстік өңірінде қой шаруашылығының өркендеп өсуіне көптеген кедергілер келтіріп отыр.

Қазақстанның оңтүстік өңірінде ұсақ малдардың ішек-қарын бойында кездесетін мониезиоз және трихостронгилидоз гельминттері барлық жерледе көп таралған болып олар аурудың клиникалық белгілерін шақырады, өлімге алып келеді, әсіресе жас қозылар ауруға тез шалдығады. Ауру көбінесе аралас мониезиоз-трихостронгилидозды инвазия түрінде өтеді [1,2,3,4,5].

Антигельминтиктерді дайындағанда жаңа заттармен әдістемелер қолданылса олардың қасиеттерінің өзгеруіне әсер етіп, химиялық төзімділігі, персистенттілігі өзгереді және жануарлардың гельминтоздарына қарсы препараттардың мөлшері азаяды.

Бұрын қолданылып келген және оған ұсыныс берген авторлардың (Н.В.Демидов, 1969; П.П.Диденко, 1972; А.И.Кротов, 1973; А.О.Орипов, 1973, 1983; И.А.Архипов, 1990; С.В.Березкина, 1992 и др.) әртүрлі белгілі антигельминтиктер: фенасал, ареколин, нафтамон, тетрализол және басқалары қазіргі кезде өндіріліуі тоқтатылған.

Жаңа антигельминтиктерді табу және сынау, өндіріске енгізу оларды ветеринариялық клиникалық практикада қолдану өзекті мәселе болып саналады.

Жаңадан жасалған антигельминтті препараттардың қасиеттерін жетілдіру, полимеризациялау, терапевтикалық, токсикологиялық және экономикалық аспектілерін толық зерттеу және оларды өндіріске енгізу.

**Материалдар және зерттеу әдістемесі** Ғылыми әдістерде қолданылатын, қойылған мақсаттарға жету үшін таңдап алынған әдістерді негізделуін сипаттау.

Паразитарлық аурулардың таралуын зерттеу. 2012-2014 жылдары қойлардың ауруларын ветеринариялық құжаттарды саралау негізінде жүргізілді. Ресми деректер оңтүстік өңірінің базалық қожалықтарында малдардың экстенсивті және интенсивті инвазиялануы меншікті зерттеулермен толықтырылды.

Негізгі паразитоздардың эпизоотологиясын зерттеу. Қойлардың негізгі паразитоздарының эпизоотикалық жағдайын өту динамикасының заңдылықтарын стандартты әдістермен базалық қожалықтарда Төлеби ауданындағы ш/қ «Бекшеге», Қазығұрт ауданының «Қарабау» элиталық-ұрықтық қожалығында жүргізілді.

Паразитарлық зерттеу жыл сайын типтік саулық отарларында, өткен жылы туылған тұсақтарда және биылғы жылы туылған ұрғашы тоқтыларда, жоғарыда көрсетілген қожалықтарда зерттеулер жүргізілді.

Гельминтоздарға паразитологиялық зерттеулер Котельников және Хренов, Фюллеборн әдістерімен жүргізілді. Нематодтардың жұмыртқаларын микроскоппен МБИ БС және МБР-ды қолдану арқылы идентификацияланды, инвазияның интенсивтілігін Горяевтің камерасы бойынша 1 г нәжістің ішіндегі нематодалардың жұмыртқаларын санау арқылы өткізілді. Трематодалардың жұмыртқаларын – біртіндеп шаю әдісімен, стронгиляталардың инвазиялық балаң құрттарын А.Поляковтың әдісімен анықталды. Гельминттердің систематикалық орны олардың түрлері және туысы (1952) Скрябин К.И., Шихобалова Н.П., Шульц Р.С. анықтамалығымен өткізілді.

**Зерттеу нәтижелерін талқылау** Қазақстанның оңтүстік өңірінде қойлардың аралас гельминтозына қарсы кең көлемді әсері бар антигельминтті жаңа «Гретыкол» дәрісін жасау экономикалық тұрғыдан қарағанда, басқа химиялық антигельминтті препараттармен салыстырғанда тиімділігі өте жоғары болады. Негізінен «Гретыкол» дәрісінің құрамына жергілікті жердің өсімдіктері және 2% пайызды тотияйын қолданылады, соның арқасында қойлардың аралас гельминтоздарынан қысқа мерзім ішінде сауықтыруға болады. «Гретыкол» дәрісін Төлеби ауданының "Бекшеге" шаруа қожалығында сынақтан өткіздік. Алдын ала осы қожалықтың 200 бас уақ малдарынан нәжістер алынып, копрологиялық, ларвоскопиялық тексеру жүргізгенімізде қойлардың аралас гельминтоздарымен зақымданған ЭИ - 100% (монезиоз, гемонхоз) 40 бас қойлар бөлініп алынып, олардан 4 топ түзілді, әрбір топқа 10 бастан соның 3 тобы тәжірибе жүргізу үшін және 4ші сынақ тобы.

Бірінші топқа «Гретыкол» дәрісін әрбір басқа 50 мл берілді. Екінші топқа тотияйын ( $CuSO_4$ ) 20 мл ден 100 мл дейін салмағына қарай берілді. Үшінші топқа «Гретыкол» және тотияйынның аралас қоспасы жоғарыда көрсетілген мөлшері бойынша қолданылды.

Дәріленгеннен кейін 14 күн өткеннен соң қайта копрологиялық тексерулер өткізілді. Бірінші топтағы нәжістер зерттелгенде 2 сынамадан гемонхустың балаңқұрттары және 2 сынамада мониезиоздың жұмыртқалары анықталып ЭТ (экстенстиімділігі) әр қайсы гельминттердікі 80% пайызды құрады. ИТ (интенстиімділігі) 79,1% құрады. Екінші топтағы малдардың нәжісінен гемонхустың 5 балаңқұрты, яғни 5 бастан және мониезиоздың 4 жұмыртқасы 4 бастан анықталды. ЭТ (экстенстиімділігі) гемонхустың 50% пайызын құрады сонымен бірге мониезиоздың ЭТ (экстенстиімділігі) 60%, ИТ (интенстиімділігі) гемонхоз 49,1%, мониезиоз 48% құрады.

Үшінші топтан гемонхустың балаңқұрты 1 бастан, мониезиоздың жұмыртқасы 1 бастан нәжістерді копрологиялық, ларвоскопиялық тексергенде анықталып ЭТ (экстенстиімділігі) гемонхустың және мониезиоздың 90% пайызын, ИТ (интенстиімділігі) гемонхоз 90,1%, мониезиоз 90,2% құрады.

Төртінші сынақ тобындағы малдардың гельминтоздары өзгеріссіз қалды. Осындай тәжірибе Қазығұрт ауданының «Қарабау» элиталық асыл тұқымды қожалығында да 40 бас қойларда өткізілді. Нәтижесінде бұл қожалықтада «Гретыкол» және тотияйынның аралас қоспасы бойынша Эктенс және интенстиімділігі 90% пайыздан жоғары болды.

Қойлардың аралас инвазиясында (мониезиоз + гемонхоз) тірі салмағы және ет өнімдері төмендейді экономикалық шығын әр бір басқа шаққанда 20230 дан 20290 тенгені құрайды. Қазақстанда алғашқы рет қойлардың аралас гельминтозына қарсы жаңа дәрі «Гретыкол» істеп шығарылды, осы дәрі цестодалар мен нематодаларға тиімді әсер етеді. «Гретыкол» препаратының уыттылығы және оның қойлардың физиологиялық ахуалына әсері тексеріліп оның тиімділігі оң нәтиже берді. Сонымен бірге осы препараттың қойлардың аралас инвазиясына антигельминттік белсенділігі мониезияға және трихостронгилидтерге тиімді әсері анықталды.

Жануарлардың әртүрлі гельминтоздарында «Гретыкол» препаратын 2% тотияйынның ертіндісімен біргелікте қолданылғанында алдын алу, емдеу тиімділігіне баға берілді.

**Қорытынды** «Гретыкол» препаратының уыттылығы және оның қойлардың физиологиялық ахуалына әсері тексеріліп оның тиімділігі оң нәтиже берді. Сонымен бірге осы препараттың қойлардың аралас инвазиясына антигельминттік белсенділігі мониезияға және трихостронгилидтерге тиімді әсері анықталды. Жануарлардың әртүрлі гельминтоздарында «Гретыкол» препаратын 2% тотияйынның ертіндісімен біргелікте қолданылғанында алдын алу, емдеу тиімділігіне баға берілді.

#### **Әдебиеттер**

1. Сабаншиев М.С., Шабдарбаева Г.С., Сулейменов Т.Т., и др.. Паразитология и инвазионные болезни животных. – А.: КазНАУ, 2003. – 257с.

2. Сабаншиев М., Шабдарбаева Г., Сүлейменов Т., Қожабаев М., Бердіқұлов М. Паразитология және жануарлардың инвазиялық аурулары. - Шымкент, 2010. - 500б.

3. Мухаметалин Қ.Д. Малдын паразит аурулары. – А.: Қайнар, 1966. – 159б.

4. Абуладзе К.И. и др. Паразитология и инвазионные болезни сельскохозяйственных животных. - М.:Колос, 1982. – 199 с.

5. Абуладзе К.И. и др. Практикум по диагностике инвазионных болезней сельскохозяйственных животных. - М.: Колос, 1984. – 394 с.

### **Иегерлер туралы мағлұмат:**

Қожабаев М. – биология ғылымдарының докторы, «ҚазҒЗВИ» ЖШС «Оңтүстік Қазақстан ҒЗВС» филиалының бас ғылыми қызметкері

Лесов Б. - «ҚазҒЗВИ» ЖШС «Оңтүстік Қазақстан ҒЗВС» филиалының кіші ғылыми қызметкері

Қалаубаев А. - «ҚазҒЗВИ» ЖШС «Оңтүстік Қазақстан ҒЗВС» филиалының кіші ғылыми қызметкері

Тохтарова Г.К. - М. Ауэзов атындағы ОҚМУ «Ветеринариялық клиникалық диагностика» кафедрасының оқытушысы

Алтаева К. - М. Ауэзов атындағы ОҚМУ «Жануарлар патологиясы» кафедрасының оқытушысы

### **Резюме**

#### **РАЗРАБОТКА АНТИГЕЛЬМИНТНОГО ПРЕПАРАТА «ГРЕТЫКОЛ» ШИРОКОГО СПЕКТРА ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВ СМЕШАННЫХ ГЕЛЬМИНТОЗОВ ОВЕЦ НА ЮГЕ КАЗАХСТАНА**

Қожабаев М., Лесов Б., Қалаубаев А., Тохтарова Г.К., Алтаева К.

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

Южно-Казахстанский государственный университет им. М.Ауэзова

В статье приведены данные по изготовлению нового препарата «Гретыкол» из растительности местного происхождения и совместного применения 2% раствором медного купороса усиливается антигельминтное действие против смешанных инвазий цестодозов и нематодозов животных. Экстенсивность и интенсивность составляет свыше 90%.

*Ключевые слова:* гельминт, гемонхоз, мониезиоз, трихостронгилидоз

### **Summary**



## DEVELOPMENT ANTHELMINTIC DRUGS "GRETYKOL" BROAD-SPECTRUM AGAINST MIXED HELMINTHIASES OF SHEEP ON THE SOUTH OF KAZAKHSTAN

Kozhabayev M., B. Woods, Kalaubaev A. Tokhtarov GK, Altaeva K.

Branch «South Kazakhstan Scientific - Research Veterinary Station»  
South-Kazakhstan State University M.Auezov

The article presents data on manufacturing a new drug "Critical" of vegetation of local origin and the joint application of 2% solution of copper sulfate increases anthelmintic activity against mixed invasions cestodosis and nematodes in animals. Extrafacial and intensifications is over 90%.

*Keywords:* helminth, gamehot, monithes, trichostrongylids

УДК:619:616.988:636.1

## БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЛИСТЕРИОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

**Мусаева А.К., Егорова Н. Н.**

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме** В статье приводятся результаты исследования патологического материала от 2-летней коровы и быка-производителя. От животных выделена культура *Listeria monocytogenes* – возбудитель листериоза с/х животных, которая отнесена к 1-му серотипу.

*Ключевые слова:* крупный рогатый скот, листериоз, диагностика, биотип, биопроба

**Введение** Листериоз относится к зооантропонозам и в рамках борьбы с инфекционными заболеваниями заслуживает особого внимания. Впервые листерии выделили в 1926 году Мюррей и др. при септической болезни кроликов и морских свинок, протекавшей с поражением верхних дыхательных путей, отеком легких и сильным отеком селезенки, в виварии Кембриджа. Листериоз распространен повсеместно и регистрируется в любое время года.

Листериоз – инфекционная болезнь животных практически всех видов, в том числе и домашней птицы, характеризующаяся поражением нервной системы, септическими явлениями, абортами и маститами [1]. К листериозу восприимчив и человек. Листериоз отличается многообразием клинической симптоматики. При листериозе у различных видов животных, а также у человека отмечается значительное повышение числа моноцитов в крови

(отсюда и название *Listeria monocytogenes*). У павших животных характерных патологоанатомических изменений обычно не обнаруживают. Гистологическое исследование мозга указывает на моноцитарную инфильтрацию.

Листерриоз нередко наблюдается стационарно и протекает в трех формах, нервной (энцефалит, менинго-энцефалит), септической и бессимптомной. Нервная форма заболевания наблюдается у взрослого крупного рогатого скота и овец. В начале заболевания температура тела повышается до 41-42 °С, в дальнейшем снижается до нормы, а иногда ниже нормальной. У телят и ягнят заболевание обычно протекает в септической форме и часто заканчивается их гибелью в течение 1-2 дней. У свиней листерриоз как вторичная или смешанная инфекция (при чуме, роже, пастереллезе, болезни Ауески, инфлюэнце, паратифе и др.), а у поросят как самостоятельное заболевание с поражением центральной нервной системы. Листерриоз у плотоядных (собак, кошек, лисиц), а также кроликов, зайцев и других грызунов проявляется в нервной форме, с поражением нервной системы. Возбудителем является небольшая бактерия – листерия, устойчивая во внешней среде, длительно сохраняющаяся в почве, воде, на растениях. Общеизвестные дезинфицирующие средства быстро ее дезактивируют [2].

Интенсификация промышленного животноводства, повышение санитарной культуры, массовое использование антимикробных средств в лечебно-профилактических целях, с одной стороны, контролирует распространение листерриоза, с другой стороны - приводит к возникновению популяций листеррий с повышенной резистентностью. Листеррии продуцируют антимикробные агенты, которые сопротивляются как дезинфектантам, так и антибиотикам [3].

Листерриозом человек заражается в результате контакта с инфицированными грызунами либо с сельскохозяйственными животными, особенно с свиньями [4]. Листеррии, распространяясь различными путями, преодолевая защитный барьер, проникают в головной мозг. В результате поражается нервная система и головной мозг. Обнаруживаются кровоизлияния в мозговой ткани, отек мозга. У женщин при поражении листерриозом отмечаются аборт листерриозной этиологии, эндометриты и метриты, маститы. Заболевание человека возможно также после поедания инфицированной пищи, в частности молока и мяса больных животных. В естественных условиях человек может заразиться через пищеварительный тракт, а также через поврежденную кожу. Внедрение листеррий в организм человека может привести к развитию сепсиса, поражению отдельных органов и систем, а также к бессимптомному заболеванию. Распространение листеррий в организме происходит нейрогенным, лимфогенным, гематогенными путями. У человека листерриоз протекает в форме моноцитарной ангины и листерриозного менингита, который во многих случаях заканчивается смертельно. Поражается центральная нервная

система, отмечаются приступы судорог, возбуждение. Температура тела в начальный период заболевания повышена, а затем снижается.

Листерии имеют устойчивость к низким температурам. При исследовании контаминированных листериями объектов было установлено, что отрицательные температуры не оказывают влияния на морфологию и жизнеспособность популяций листерий.

**Материал и методы исследований** Культурально-морфологические свойства листерий изучают общепринятыми методами исследований. Посевы делают на общепринятые (МПБ, МПА) и дифференциально-диагностическую среды из печени, селезенки, брыжеечных лимфатических узлов, легкого сердца. После 20 часового культивирования культуры исследуют на типичность культурально - морфологических, тинкториальных, биохимических, агглютиногенных свойств. Серологические свойства культур определяют по результатам РА на стекле (пластинчатая реакция) с применением коммерческих поливалентной и О-агглютинирующих листериозных сывороток. В качестве антигена используют суточные культуры листерий, выращенные на плотных питательных средах.

*Цель работы* – установление этиологии инфекционных заболеваний в патматериале от павших коровы и быка-производителя, идентификация выделенного возбудителя на основе изучения биологических свойств .

**Результаты и обсуждение** 19 января 2015 был доставлен патологический материал от коровы 3-х летнего возраста из частного хозяйства Талгарского района Алматинской области. 18 марта 2015 из указанного хозяйства для исследования поступил патологический материал от быка-производителя породы ангус. Заболевание протекало в острой форме и закончилось гибелью животных.

Бактериологическое исследование проводили общепринятыми методами [5, 6]. Посевы на МПБ, МПА, дифференциально-диагностическую среду Palcam делали из печени, селезенки, почки, легкого, сердца, брыжеечных лимфатических узлов. Готовили мазки-отпечатки из печени, селезенки. В мазках, приготовленных из паренхиматозных органов, отмечались грампозитивные, короткие палочки, располагающиеся одиночно и попарно. Через сутки на МПА с 1 % глюкозы отмечался рост мелких бесцветных полупрозрачных росинчатых с перламутровым оттенком плоских, гладких, блестящих колоний, при пересеве которых бактериологической петлей отмечалась их суховатая консистенция. На МПБ отмечалось небольшое помутнение среды.

Для выделения листерий из патматериала использовали селективную диагностическую Palcam [7, 8]. Суточная культура листерии изображены на рисунке 1.

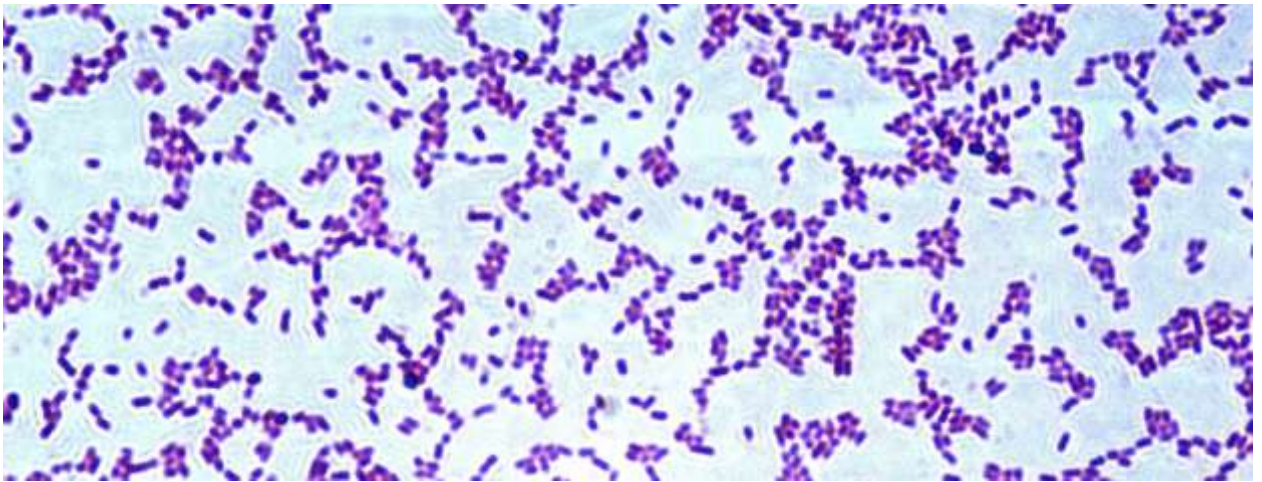


Рисунок 1- Суточная культура *Listeria monocytogenes*

На рисунке 1 видны мелкие грамположительные палочки с закругленными концами. В мазках, приготовленных из суточных агаровых культур, листерии имели вид грамположительных, овоидной формы бактерий. На МПА листерии формировали однородными колонии, популяции находились в S-форме.

На чашках Петри с агаром для селективного выделения и идентификации листерий Palcam фирмы Himedia Laboratories Pvt. Marg. Mumbai (Индия) отмечался обильный рост листерий. (Состав среды Palcam в г/л: пептический перевар животной ткани-23; крахмал-1; Н-5; Д-маннит-10; железа аммонийного цитрат-0,5; эскулин-0,8; АГлюкоза-0,5; лития хлорид - 15; феноловый красный-0,08; агар-агар-13; рН при 25°C -7,0±0,2).

Через 20 часов инкубирования на селективной среде Palcam отмечался обильный рост мелких, серовато-зелёных или оливково-зелёных колоний с чёрным ореолом, диаметром 0,5-1,0 мм. Через 48 часов колонии диаметром 1,0-2,0 мм приобретали зеленую окраску с углубленными центрами, окруженными чёрным ореолом. Наблюдалось потемнение среды вокруг колоний. Контаминации посторонней микрофлорой не отмечалась.

При появлении сплошного роста листерий производили пересев бактериологической петлей из зон наибольшего почернения среды штрихами на 2-3 чашки Петри с селективной дифференциально-диагностической средой для получения изолированных колоний. Для установления подвижности листерий культуры выращивали на ПЖА при комнатной температуре, так как при культивировании при 37°C термолабильные жгутики у листерий разрушаются и подвижность их прекращается. На ПЖА отмечался характерный рост по линии укола в виде зонтика. Обе культуры листерий были подвижны. При посеве суточных культур на среды Гисса листерии ферментировали с образованием кислоты без газа рамнозу, мальтозу, глюкозу, салицин, сахарозу. Листерии не разлагали дульцит и раффинозу. *Listeria monocytogenes* не образовывали индола и сероводорода, не разжижали желатин, не восстанавливали нитраты в нитриты. Каталазную активность проверяли путём нанесения изолированной колонии суточных

культур листерий на предметное стекло, растирали её на стекле и пипеткой наносили каплю 3% перекиси водорода. Через 30 секунд появлялись пузырьки газа. Каталазная активность листерий является их таксономическим дифференциальным признаком. Активность каталазы у обеих культур была значительной.

Биопробу ставили на 6 белых мышах массой 16-18 г (по 3 головы на каждую культуру), которым подкожно вводили по 0,5 мл суточных бульонных культур *Listeria monocytogenes*. На 3-4 сутки все опытные животные пали. На 2 морских свинках ставили конъюнктивальную пробу. У морских свинок развился кератоконъюнктивит. При бактериологическом исследовании патматериала от павших белых мышей чистая культура листерий высевалась из печени, сердца.

Для идентификации листерий готовят поливалентную и типовые листериозные агглютинирующие О-сыворотки путем иммунизации кроликов (ранее выпускал Алматинский биокомбинат). В серологической реакции в качестве антигена использовали две суточные культуры листерий (от коровы и быка), выращенные на МПА. Тип антигена определяли с помощью реакции агглютинации - пластинчатой реакции на стекле. На основании изучения антигенных свойств листерий сначала определяли принадлежность культур, выделенных от коровы и овцы, к роду *Listeria*, а затем устанавливали типовую принадлежность.

Предназначенные для идентификации 24 – часовые бульонные культуры, выращенные при 37°C, петлей засеивали частым штрихом на 2 пробирки МПА, так, чтобы получить рост по всей поверхности агара, выращивали при комнатной температуре 24 – 30 часов. Затем агаровую культуру смывали небольшим количеством физраствора, чтобы получить густую взвесь (1 -1,5 млрд. м. к. в 1мл).

Реакцию ставили на чистых обезжиренных стеклах. На стекло наносили каплю поливалентной сыворотки и каплю физраствора. К обеим каплям добавляли каплю смыва культуры, смесь тщательно перемешивали, стекла плавно покачивали. Учет результатов проводили в течение 3-х минут. При появлении хлопьев в капле с сывороткой и отрицательной реакции в контроле культуру считали листериозной.

Культуры листерий агглютинировались в РА на стекле с поливалентной листериозной сывороткой. Затем выделенные культуры листерий исследовали в РА одновременно с типовыми листериозными сыворотками 1- и 2 –го серотипов («серогрупп»). У обеих культур листерий, выделенных от коровы и быка-производителя, отмечалась положительная реакция с сывороткой 1-го серотипа, что свидетельствовало о принадлежности культур к 1 –му серотипу («серогруппе»), а РА с сывороткой 2 –го серотипа была отрицательной. Этот метод позволяет судить о полноценности антигенной структуры листерий. Культуры, выделенные от павших мышей при постановке биопробы, испытывали в реакции агглютинации на стекле сначала с поливалентной сывороткой. Затем определяли принадлежность к серотипу (1-й серотип и 2-й серотип).

Сыворотка 1-го серотипа («серогруппы ») содержит О –фактор II, а сыворотка 2-го серотипа («серогруппы ») – О - факторы V, VI. Биологические свойства выделенных эпизоотических штаммов листерий представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Характеристика изучаемых штаммов листерий

Тесты	Listeria monocytogenes (от коровы)	Listeria monocytogenes (от быка-производителя)
Окраска по Граму	+	+
Подвижность при 22°С	+	+
Каталаза	+	+
Лактоза	К+Г-	К+Г-
Сахароза	К+Г-	К+Г-
Глюкоза	К+Г-	К+Г-
Мальтоза	К+Г-	К+Г-
Маннит	К-Г-	К-Г-
Рамноза	К+Г-	К+Г-
Дульцит	К-Г-	К-Г-
Арабиноза	К-Г-	К-Г-
Салицин	К+Г-	К+Г-
Раффиноза	К-Г-	К-Г-
Инозит	К-Г-	К-Г-
Глицерин	К-Г-	К-Г-
РА на стекле с сывороткой 1-го серотипа	+	+
РА на стекле с сывороткой 2-го серотипа	-	-
Конъюнктивальная проба на морских свинках	+	+
Примечания + положительный результат через 24 часа; [+] положительный результат через 48 часов; – отрицательный результат; К– кислота; Г– газ		

Из таблицы 1 видно, что *Listeria monocytogenes*- грамположительные палочки, обладают подвижностью, биохимической и каталазной активностью. Наличие активной подвижности листерий является таксономическим признаком [9, 10]. Листерии ферментируют углеводы с образование кислоты без газа. Обе культуры не сбраживают глицерин, дульцит раффинозу, инозит. По результатам РА с листериозными О-сыворотками обе культуры листерий идентичны и отнесены к 1 серотипу («серогруппе»). Для диагностики листериоза ставили конъюнктивальную пробу на морских свинках. У морских свинок отмечался керато-конъюнктивит. Наблюдались истечения из глаза, веки опухали, развивалась светобоязнь. Конъюнктивальная проба является характерным признаком листерий.

При выполнении диагностических исследований, учитывая указанные признаки, необходимо иметь в виду, что исследования на подвижность и окрашивание мазков по Граму следует производить в культурах не позднее суточного возраста, в старых культурах теряется подвижность и появляются грамотрицательные клетки. Для установления подвижности листерии необходимо выращивать при комнатной температуре, так как при культивировании при 37°C термолабильные жгутики у листерий разрушаются и подвижность их прекращается.

**Заключение** В результате бактериологических исследований установлено, что эпизоотические культуры *Listeria monocytogenes*, выделенные из патматериала от коровы и быка-производителя, обладали типичными культурально-морфологическими, биохимическими и антигенными свойствами, были идентичными и по результатам серологических исследований отнесены к 1 –му серотипу.

### Литература

1. Кадымов Р.А. и др. Ветеринарная микробиология. - М.: Колос, 1982. - С. 195 – 197.
2. Конопаткин А. А. Эпизоотология и инфекционные болезни сельскохозяйственных животных. - М.: Колос, 1984. - С. 205 - 210.
3. Павлова И. Б., Банникова Д. А., Кононенко А. Б. Сапрофитизм популяций патогенных листерий. - М., 2013. - С.96 - 100.
4. Гершун В. И. Экология листерий и пути их циркуляции в природном очаге // Экология возбудителей сапронозов. - М., 1988. - С. 80 - 85.
5. Бакулов И. А., Котляров В. М. и др. К вопросу о таксономии бактерий рода *Listeria* // Ж. Ветеринария. – М.,1983. - №7. - С. 31 - 35.
6. Антонов Б. И. Лабораторные исследования в ветеринарии. - М.: Агропромиздат, 1986 - С. 151 - 169.
7. Van Netten P. et al, 1989. Int. J. Food. Microbiol. 8(4):299
8. Van Netten P., van Gaal B. and Mosel D. A. A., 1991. Lett. Appl. Microbiol., 12:20.
9. Хоулт Дж. Определитель бактерий Берджи. - М.: Мир, 1997. – Т. 2. – С. 574 – 575.
10. Зайцева Л. А., Фатеева Л. Н. Питательная среда для определения лецитиназной активности у бактерий рода *Listeria* // Заявка на инновационный патент РФ. - № 2011103816/10 от 02.02. 2011

### Сведения об авторах:

Мусаева А. К. - доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Егорова Н. Н. - кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

**Түйін**  
**ІРІ ҚАРА МАЛДЫҢ ЛИСТЕРИОЗЫН БАКТЕРИОЛОГИЯЛЫҚ ӘДІСПЕН**  
**БАЛАУ**

Мұсаева А. Қ., Егорова Н.Н.

«Қазақ ғылыми- зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада үш жастағы сиырдан және бұқадан алынған сынамаларды бактериологиялық әдістермен зерттеудің нәтижелері келтірілген. Малдардан листериоздың бірінші серотипіне жататын *Listeria monocytogenes* қоздырғышының өсіндісі бөлініп алынған.

*Кілттік сөздер:* ірі қара мал, листериоз, балау, биотип, биотестілеу

**Summary**

**THE BACTERIOLOGICAL DIAGNOSTIC OF LISTERIOSIS OF CATTLE**

Mussayeva A. K., Yegorova N. N.

LLP «Kazakh scientific research veterinary institute»

The article presents the results of a study of pathological material from 2-year cows and a bull-producer. From animals isolated culture *Listeria monocytogenes* - pathogen *Listeria* -with farm animals, which are assigned to the 1st serotype.

*Keywords:* cattle , listeriosis, diagnostics, biotype , bioassay

УДК:619:616.988:636.1

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ**  
**ОСОБЕННОСТИ ВАКЦИННОГО ШТАММА SALMONELLA**  
**DUBLIN 13-20 NS**

**Мусаева А. К., Егорова Н. Н., Канатов Б. К., Даугалиева А. Т.**

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»



**Резюме** В статье приводятся результаты исследований биологических свойств и генетических особенностей вакцинного штамма *Salmonella dublin* 13-20 NS, используемого для изготовления вакцины против сальмонеллеза телят.

*Ключевые слова:* сальмонеллез, телята, вакцина, *Salmonella dublin*, штамм, нуклеотидная последовательность

**Введение** Сальмонеллез телят – наиболее распространенная болезнь молодняка, наносящая значительный экономический ущерб животноводству. Сальмонеллез телят широко распространен во всех регионах, независимо от климатической зоны. Сальмонеллез телят регистрируется во всех областях Казахстана [1]. Телята заболевают сальмонеллезом в возрасте от 10 дней до 6-ти месяцев. Основные источники возбудителя – больные животные, а также реконвалесценты и клинически здоровые носители [2,3].

Сальмонеллез телят наносит значительный экономический ущерб, так как является основной причиной гибели молодняка в послеотъемный период. Разработка вакцины против сальмонеллеза телят на основе коллекционного штамма является актуальной задачей. Вакцинация телят позволит снизить заболеваемость сальмонеллезом.

Основным средством борьбы с инфекцией является специфическая профилактика противосальмонеллезными вакцинами. Наиболее эффективны живые вакцины, приготовленные из аттенуированных сальмонеллезных штаммов. Основоположителем создания живых вакцин является Л.Пастер. Известно, что в процессе хранения штаммы сальмонелл могут утрачивать биологические свойства. Весьма актуальным остается вопрос сохранения биологической стабильности аттенуированных вакцинных штаммов микроорганизмов [4]. При хранении сальмонеллезных штаммов решающее значение имеют состав и качество защитной среды, концентрация микробных клеток в ампуле, режим лиофилизации, наличие вакуума, продолжительность и условия хранения.

Вакцинный штамм *Salmonella dublin* 13-20 NS получен из вирулентной культуры *Salmonella dublin*, выделенной из костного мозга павшего от сальмонеллеза теленка путем ступенчатого отбора колоний, выращенных на средах с добавлением возрастающих доз неомицина и стрептомицина. Аттенуированный штамм сальмонелл по вирулентности в 20 раз ниже природного прототипа, имеет две хромосомные метки, обеспечивающие устойчивость к неомицину и стрептомицину. Вакцинный штамм *S. dublin* 13-20 NS растет на средах с добавлением неомицина и стрептомицина, тогда как вирулентные эпизоотические штаммы *S. dublin* не растут на средах с антибиотиками. Вакцинный штамм депонирован в республиканской коллекции микроорганизмов (г. Астана), где хранится и поддерживается в настоящее время. Штамм получен из РКМ по запросу института для выполнения «Разработка сухой живой вакцины против сальмонеллеза телят на основе коллекционного штамма».

Штамм *Salmonella dublin* 13-20 NS используется для изготовления сухой живой вакцины против сальмонеллеза телят. Живая вакцина против сальмонеллеза телят представляет лиофилизированную культуру, выращенную на плотной или жидкой питательной среде (агаре или бульоне Хоттингера, в реакторе). Атенуированный штамм обладает низкой остаточной вирулентностью, безвредностью и высокой иммуногенной активностью. Вакцина создает напряженный иммунитет у телят, защищает их сальмонеллезной инфекции в течение года. Качество вакцины определяется биологическими свойствами вакцинного штамма, используемого для изготовления вакцины. Атенуированные штаммы микроорганизмов с заданными свойствами являются основой при производстве вакцин и определяют их иммуногенную активность. В связи с этим проблеме поддержания жизнеспособности микроорганизмов уделяется особое внимание. Одной из важнейших задач является сохранение не только жизнеспособности микроорганизма, но и его биологических свойств в стабильном первоначальном состоянии, недопущении изменчивости, реверсии, изменений в геноме микроорганизма [5]. Проведение генетического анализа вакцинного штамма позволит накопить более детальную информацию о его генетической структуре, что послужит основой для получения высокоэффективной вакцины. Важность проведения исследований генома вакцинного штамма неоспорима и при дифференциации вакцинного штамма от патогенных сальмонелл, выделенных из эпизоотических очагов инфекций. Информация о вакцинном штамме сальмонелл, полученная генетическими методами, обеспечит эффективную научно-обоснованную специфическую профилактику сальмонеллеза телят. Вакцинный штамм должен обладать типичными культуральными, биохимическими и антигенными свойствами, а вакцина, изготовленная на его основе, должна быть безвредной и формировать у телят длительный напряженный иммунитет.

*Цель исследований*- изучение биологических свойств и генетической структуры вакцинного штамма сальмонелл, используемого для изготовления вакцины против сальмонеллеза телят.

**Материал и методы исследований** При выполнении работы использовались бактериологические, серологические, биохимические, генетические методы исследований. Культурально-морфологические свойства сальмонелл изучают путем посева на МПБ, МПА, дифференциально-диагностические среды. Проводят микроскопию мазков, приготовленных из суточных агаровых культур, окрашенных по Граму и простым способом. Биохимические свойства изучают при посеве выделенных культур на среды Гисса с углеводами. Подвижность определяют по росту на полужидком агаре [6]. Для выявления протеолитической способности испытываемые штаммы засевают на МПЖ [7]. Посев проводят уколом в застывший столбик МПЖ. После инкубирования при 37 °С в термостате для учета реакции пробирки охлаждают до 20 °С. В пробирках, где под действием ферментов сальмонелл происходит протеолиз

желатина, среда разжижается. Для определения сероводорода используют полоску фильтровальной бумаги, смоченную раствором уксуснокислого свинца, индола – смоченную насыщенным раствором щавелевой кислоты. Культуры засевают в 2% пептонную воду, пропитанные реактивами полоски фильтровальной бумаги помещают в пробирку, удерживая ватной пробкой. Через 1-3 дня при наличии сероводорода нижняя часть бумажки окрашивается в черный цвет, а при наличии индола - в розовый. Для определения каталазы на поверхность суточной агаровой культуры наносят 1%-ный раствор перекиси водорода. При наличии каталазы отмечается выделение пузырьков отщепленного кислорода. Анализ полученных нуклеотидных последовательностей вакцинного штамма проводят в реакции секвенирования продуктов ПЦР с использованием пакета программ (SeqMan) и международных баз данных нуклеотидных последовательностей (Blast, Classifier, GeneBank и др.) [8]. Генетическую идентификацию штамма *E. coli* 078 осуществляют методом определения прямой нуклеотидной последовательности фрагмента 16S rRNA гена с последующим определением нуклеотидной идентичности с последовательностями, депонированными в международной базе данных Gene Bank, а также построением филогенетического древа в сравнении с нуклеотидными последовательностями референтных штаммов.

ДНК выделяют колоночным методом с помощью набора «PureLink Genomic DNA Kits» (*Invitrogen*) согласно инструкции по применению [9]. Для выделения ДНК используют  $2 \times 10^9$  взвесь клеток бактерий. С целью лизирования бактерий к осадку клеток добавляют 180 мкл Digestion Buffer. После чего добавляют 20 мкл протеиназы K. Затем инкубируют пробирку 30 минут при 55 °С при периодических встряхиваниях. Для удаления фрагментов клеточной стенки, остаточных белков и полисахаридов добавляют 500 мкл Wash Buffer 1. Заключительную очистку выполняют Wash Buffer 2. С этой целью добавляют 500 мкл указанного буфера в колонку, центрифугируют при 14000 об/мин в течение 3 минут, удаляют жидкость с пробирки для сбора, а очищенный образец ДНК элюируют с мембраны колонки в 200 мкл Elution Buffer и хранят при минус 20°С. Измеряют концентрацию ДНК спектрофотометрическим методом с использованием *Dynamica Halo DNAMaster* при длине волны 260 нм.

*Определение нуклеотидной последовательности.* Очистку ПЦР продуктов от несвязавшихся праймеров проводят ферментативным методом, используя Exonuclease I (*Fermentas*) и щелочную фосфатазу (*Shrimp Alkaline Phosphatase, Fermentas*) [10,11].

Реакцию секвенирования проводят с применением BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (*Applied Biosystems*) согласно инструкции производителя, с последующим разделением фрагментов на автоматическом генетическом анализаторе 3500 (*Applied Biosystems*).

**Результаты и обсуждение** Штамм получен из вирулентной культуры, выделенной из костного мозга от павшего от сальмонеллеза теленка, под влиянием химического мутагена – антибиотиков с последующей селекцией

мутантов. Атенуированный штамм *Salmonella dublin* 13-20 NS утратил патогенные свойства, имеет умеренную остаточную вирулентность (вирулентность снижена в 20 в сравнении с природным прототипом), обладает высокой иммуногенностью. Вакцинный штамм обладает типичными для *Salmonella dublin* культуральными, биохимическими и антигенными свойствами. Существенным отличием штамма 13-20 NS от вирулентного прототипа является ауксотрофность в отношении тиамина и никотиновой кислоты; вакцинный штамм образует аргинин – декарбоксилазу и слабо-лизин – декарбоксилазу.

Вакцинный аттенуированный штамм сохраняет слабую остаточную вирулентность и не реверсирует при пассировании на восприимчивых животных (белые мыши, куриные эмбрионы). Лиофильно высушенную культуру штамма реактивировали путем посева на МПБ с 1% глюкозы. Затем из МПБ делали высевы на плотные и дифференциально-диагностические питательные среды. Через 20 часов на МПБ отмечалось равномерное помутнение среды и небольшой осадок, на плотных питательных средах отмечался рост мелких слабовыпуклых прозрачных колоний с ровными краями и блестящей поверхностью в S-форме. В мазках, окрашенных по Граму наблюдались мелкие грамтрицательные палочки с закругленными концами, которые располагались одиночно, попарно или группами. На дифференциально-диагностических средах - на чашках Петри со средой Эндо блестящие формировались гладкие колонии, которые окрашивались в светло-розовый цвет, на висмут сульфитном агаре росли мелкие черные колонии с металлическим блеском, на среде Клиглера - ярко-красные блестящие колонии.

Вакцинный штамм обладал культурально-морфологическими и биохимическими свойствами, типичными для сальмонелл: образовывал сероводород, не образовывал индола, не ферментировал лактозу, сахарозу. Бактерии штамма обладали высокой ферментативной активностью. С образованием кислоты и газа ферментировали углеводы (глюкозу, мальтозу, маннит, раффинозу и т. д.). Оба штамма агглютинировались монорецепторными сыворотками O-I, IX, VII; H-c (g, p) (первая фаза), относятся к серологической группе D. Отмечалась подвижность культуры. Для контроля вакцинного штамма на отсутствие контаминации посторонней микрофлорой делали высевы на МПБ, МПА, МППБ под вазелиновым маслом (среда Китт-Тароцци), среду Сабуро. Штамм проверен на отсутствие диссоциации, находился в устойчивой S форме.

Вирулентность вакцинного штамма проверяли в опыте на 3 белых мышках массой 16-18 г. Опытным животным вводили подкожно по 0,2 мл суточной бульонной культуры вакцинного штамма *S. dublin* 13-20 NS по оптическому стандарту ГИСК им. Л.А. Тарасевича. Учет результатов проводили через 10 суток. Белые мыши оставались живы в течение 10 суток (срок наблюдения), что свидетельствует о слабой остаточной вирулентности штамма.

Анализ ферментативных свойств *S. dublin* 13-20 NS, что изучаемый штамм по своим биохимическим свойствам идентичен и типичен для рода *Salmonella*.

У исследуемого образца *S. dublin* 13-20 NS при выделении ДНК высокой концентрации с хорошей чистотой (30 ng/ul), значение 260/280 равнялось 1,8.

Амплификация фрагмента 16S rRNA гена. Реакция ПЦР была выполнена универсальными праймерами [13] 8F 5' – AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3 и 806R- 5' GGACTACCAGGGTATСТААТ в общем объеме 25 мкл. Мастер-микс содержал 150 нг ДНК, 2.5 х смеси, 10 пмоль каждого праймера. Программа ПЦР амплификации включала денатурацию 94°C в течение 3 минут; 27 циклов: 94°C – 30 секунд, 60°C- 30 секунд, 72°C – 30 секунд; заключительную элонгацию 7 минут при 72°C. ПЦР программа была выполнена с применением амплификатора фирмы Eppendorf. У исследуемого образца был амплифицирован специфический фрагмент молекулярной массой около 800 п.н.

Анализ нуклеотидных последовательностей. Нуклеотидная последовательность 16S rRNA гена идентифицируемого штамма была проанализирована в программном обеспечении SeqScape 2.6.0 (Applied Biosystems), после чего были удалены концевые фрагменты (нуклеотидные последовательности праймеров, фрагменты, имеющие низкий показатель качества).

С учетом полученных результатов, были проведены дальнейшие исследования по проверке чистоты представленного штамма, которые были осуществлены на основе анализа ферограммы нуклеотидной последовательности 16S rRNA гена. Было установлено, что у анализируемого штамма отсутствует смешение сигналов, что свидетельствует об отсутствии в предоставленной культуре посторонних видов бактерий. На рисунке 1 представлена ферограмма фрагмента нуклеотидной последовательности анализируемого гена *S. dublin* 13-20 NS.

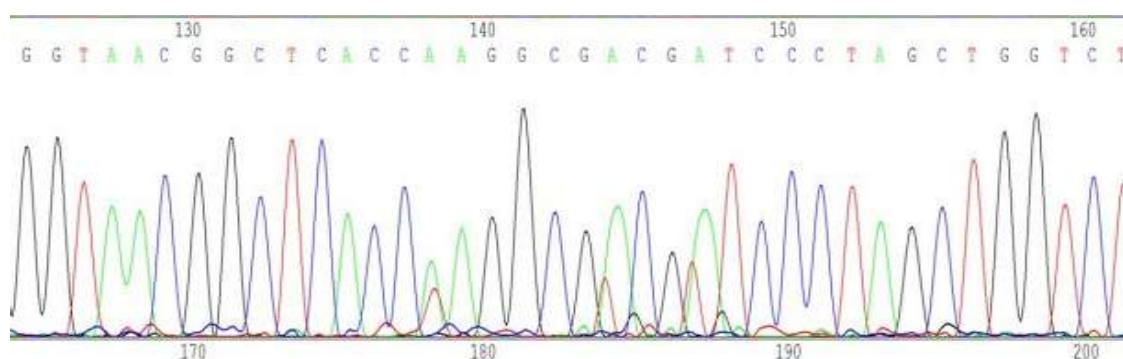


Рисунок 1 - Ферограмма фрагмента нуклеотидной последовательности гена 16S r RNA.

Из ферограммы на рисунке 1 видно, что нуклеотидная последовательность гена сальмонелл 16S rRNA не показывала смешения сигналов, что свидетельствует об отсутствии контаминации культуры

вакцинного штамма сальмонелл посторонней микрофлоры. Проведенный анализ позволяет сделать выводы об отсутствии перекрестной контаминации культуры вакцинного штамма посторонними бактериями.

Выполнена генетическая идентификация вакцинного штамма *S. dublin* 13-20 NS на основе анализа нуклеотидной последовательности 16S rRNA. Программным обеспечением SeqMan нуклеотидные последовательности были объединены в общую последовательность, что позволило получить нуклеотидную последовательность каждого штамма протяженностью более 650 п.н., которая была идентифицирована в GeneBank по алгоритму BLAST. Нуклеотидная последовательность и результаты идентификации вакцинного штамма представлены в таблице 1 и на рисунке 2.

Таблица 1–Результаты идентификации гена 16S rRNA *S. dublin* 13-20

NS

Наименование штамма	Последовательность фрагмента 16S rRNA гена	Идентификация нуклеотидных последовательностей в международной базе данных ( <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/</a> ) алгоритм BLAST		
		Инвентарный номер GeneBank (Accession number) или коллекционный номер штамма	Наименование штамма	%совпадения
14-Salmonella dublin 13-20 NS	GAGGGGGATACTACTGGAACGGTGGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAAGAGGGGGACCTTCGGGCCCTTTGCCATCAGATGTGCCAGATGGGATTAGCTTGTGGTGAGGTAA CGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGGAATATGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCAGCGGGGAGGAAGGTGTTGTGGTTAATAACCACAGCAATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCT	<u>NR_074800.1</u>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Choleraesuis str. SC-B67 strain	99%
		<u>NR_074899.1</u>	<u>Salmonella enterica subsp. enterica serovar Paratyphi C strain RKS4594</u>	99%
		<u>NR_0749</u>	<u>Salmonella</u>	99%

	<p>GTCAAGTCGGATGTGAAATCCCCG  GGCTCAACTGGGAACTGCATTCGA  AACTGGCAGGCTTGAGTCTTGTAG  AGGGGGGTGGAATTCCAGGTGTA  GCGGTGAAATGCGTAGAGATCTG  GAGGAATACCGGTGGCGAAGGCG  GCCCCCTGGACAAAGACTGACGCT  CAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCA  AACAGGATTAGATACCCTGGTAGT  CCACGCCGTAACGATGTCTACTTG  GAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTgGC  TTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTAG  ACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCA  AGGTAAAACCTCAAATGAATTGAC  GGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAG  CATGTGGTTTAATTCGATGCAACG  CGAAGAACCTTACCTGGTCTTGAC  ATCCACGGAAGTTTTTCAGAGATGA  GAATGTGCCTTCGGGAACCGTGAG  ACAGGTGCTGCATGGCTGTTCGTC  GCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTT  AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC  TTATCCTTTGTTGCCAGCGATTAG  GTCGGGAACTCAAAGGAGACTGC  CAGTGATAAACTGGAGGAAGGTG  GGGATGACGTCAAGTCATCATGGC  CCTTACGACCAGGGCTACACACGT  GCTACAATGGCGCATACAAAGAG  AAGCGAGCTCGCGAGAGCAAGCG  GACCTCATAAAGTGCGTCG</p>	<p><u>35.1</u></p>	<p><u>a enterica</u>  <u>subsp.</u>  <u>enterica</u>  <u>serovar</u>  <u>Paratyphi</u>  <u>A str.</u>  <u>AKU_126</u>  <u>01 strain</u>  <u>AKU1260</u>  <u>1</u></p>	
--	--	--------------------	---	--

Из таблицы 1 следует, что данные Международного банка GeneBank показывают высокую степень однородности нуклеотидной последовательности 16S rRNA изучаемого штамма с разновидностями рода *Salmonella* (99%). Как показано в таблице 1, установлена высокая степень однородности нуклеотидной последовательности 16S rRNA гена у вакцинного штамма *Salmonella dublin 13-20 NS*, которая указывает на его родовую принадлежность.

Интерпретация результатов программным обеспечением MicroSeq подтвердило родовую принадлежность эпизоотического штамма к роду *Salmonella*. Полученные результаты совпали с результатами, интерпретированными с помощью международной базы данных.

Изучены молекулярно-биологические свойства гена 16S rDNA вакцинного штамма, результаты представлены на рисунке 2.



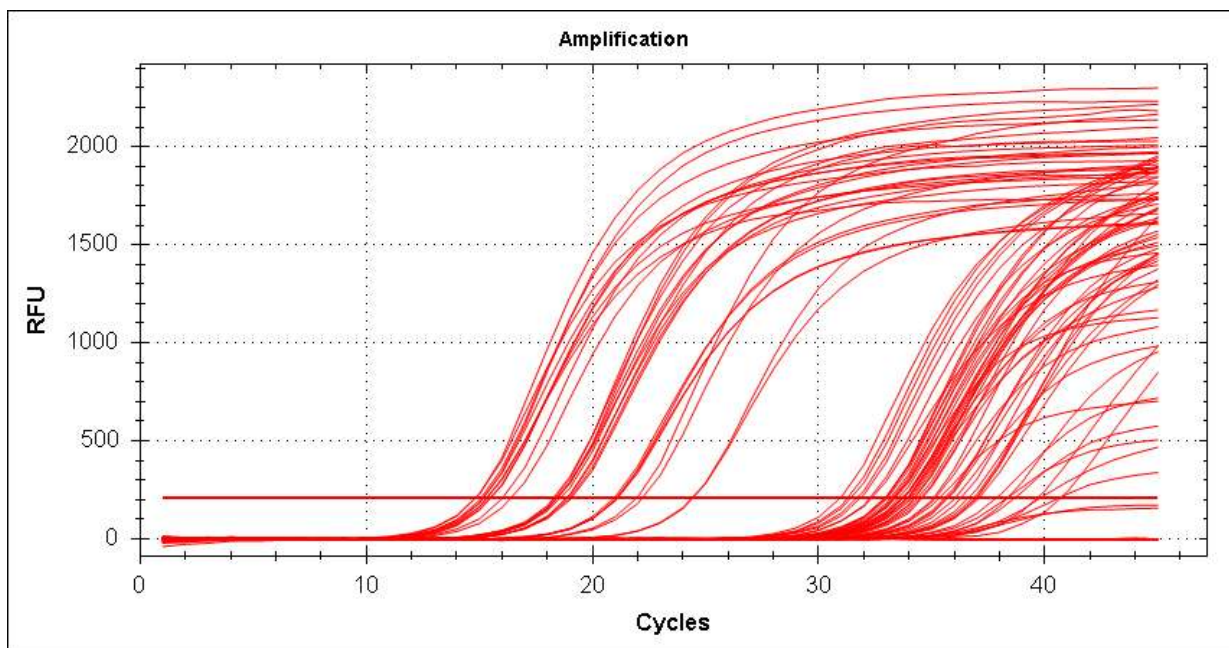


Рисунок 2 -Молекулярно-биологические характеристики гена 16S rDNA штамма *Salmonella dublin* 13-20 NS

Из рисунка 2 видно, что результаты ПЦР в режиме реального времени указывают на видовую принадлежность *Salmonella dublin*.

На рисунке 3 изображена электрофореграмма гена 16S r DNA штамма *Salmonella dublin* 13-20 NS

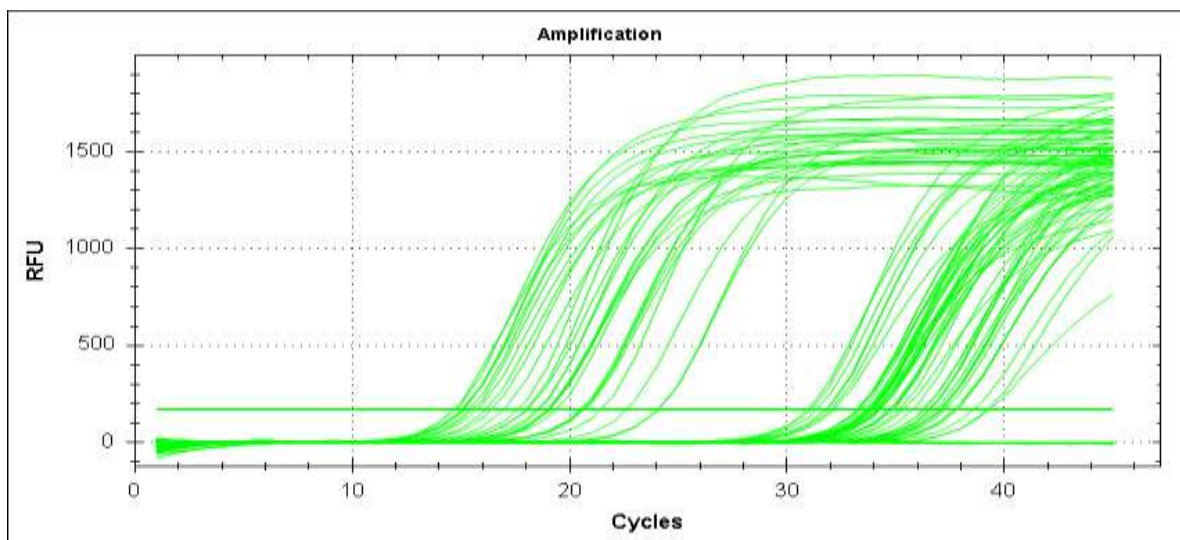


Рисунок 3 -Электрофореграмма гена 16S r DNA штамма *Salmonella dublin* 13-20 NS

Из рисунка 3 следует, что изучаемая культура относится к *Salmonella dublin*.

Результаты генотипирования *Salmonella dublin* 13-20 NS совпадали с результатами, интерпретированными с помощью международной базы данных. Также была подтверждена родовая принадлежность штамма.



Установлено, что вакцинный штамм не контаминирован посторонней микрофлорой.

**Заключение** в результате проведенных исследований, что вакцинный штамм *Salmonella dublin* 13-20 NS сохранил культурально-морфологические, биохимические, серологические и генетические свойства после хранения в соответствии с паспортными данными и может использоваться при изготовлении эффективной вакцины против сальмонеллеза телят. Высокая идентичность нуклеотидной последовательности 16S rRNA гена вакцинного штамма позволяет использовать его в качестве матрикса при изготовлении биопрепарата.

### Литература

- 1 Бияшев К.Б. и др. Сальмонеллезы животных и меры борьбы// Рекомендации. –Алматы, 1991. – 42 с.
- 2 Зароза В. Г. Желудочно-кишечные болезни телят и меры борьбы с ними. М., ВАСХНИЛ, 1985.-С. 12-22.
- 3 Петров В. М. и др. Рекомендации по профилактике и лечению колибактериоза телят. Алма-Ата: Кайнар, 1975.- С. 5-7.
- 4 Алескеров З.А. Токсигенные свойства сальмонелл // Ветеринария.- 2005.- №8.- С. 31-37.
- 5 Кауфман Ф. Семейство кишечных бактерий.. М: Медгиз, 1959. – С.86-87.
- 6 Антонов, Б.И. и др. Лабораторные исследования в ветеринарии [Текст]: Справочник. М.: Агропромиздат,, 1986.- 352 с.
- 7 Лабинская, А.С. Микробиология с техникой микробиологических методов исследований. М.: Медицина, 1968. –С. 336-340.
- 8 Clayton, R. A., Sutton, G., Hinkle, P. S., Bult, Jr. C., Fields, C.. 1995. Intraspecific variation in small-subunit rRNA sequences in GenBank: why single sequences may not adequately represent prokaryotic taxa: // International Journal of Systematic Bacteriology. – 1995. – Vol. 45. – P. 595–599.
- 9 URL: [http://www. Biochemmack.ru](http://www.Biochemmack.ru)
- 10 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.
- 11 Vegas E. Z. S., Nieves B., Araque M., Velasco E., Ruiz J., Vila J. Outbreak of Infection With *Acinetobacter* Strain RUH 1139 in an Intensive Care Unit // Infection control and hospital epidemiology. – 2006. – Vol. 27, № 4. - P. 397 – 404.

### Сведения об авторах:

Мусаева А. К. - доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Егорова Н. Н. - кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Канатов Б. К. - кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Даугалиева А. Т. - кандидат ветеринарных наук, заведующая лабораторией генетики микроорганизмов, биохимии и иммунологии ТОО «КазНИВИ»

### **Түйін**

## **SALMONELLA DUBLIN 13-20 NS ВАКЦИНДЫҚ ШТАММЫНЫҢ ГЕНЕТИКАЛЫҚ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІ МЕН БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРІ**

Мұсаева А. Қ, Егорова Н.Н., Қанатов Б.Қ., Даугалиева А. Т.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада бұзау сальмонеллезіне қарсы вакцина дайындауға пайдаланылатын *Salmonella dublin* 13-20 NS вакциналық штаммның биологиялық қасиеттерін және генетикалық ерекшеліктерін зерттеу нәтижелері келтірілген.

### **Summary**

## **BIOLOGICAL PROPERTIES AND GENETIC CHARACTERISTICS OF THE VACCINE STRAIN SALMONELLA DUBLIN 13-20 NS**

Mussayeva A. K., Yegorova N. N., Kanatov B. K., Daugalieva A. T.

LLP «Kazakh scientific-research veterinary institute»

The article presents the results of studies of biological properties and genetic characteristics of the vaccine strain *Salmonella dublin* 13-20 NS, used to make a vaccine against salmonellosis of calves.

УДК:619:616.988:636.1

## **БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВАКЦИННОГО ШТАММА SALMONELLA DUBLIN 13-20 NS И КОНТРОЛЬНОГО ШТАММА SALMONELLA DUBLIN 373 ПОСЛЕ ХРАНЕНИЯ**

Мусаева А. К., Егорова Н. Н., Канатов Б.К., Утегенова М. Е.,  
Нугуманов А. А.

## ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме** В статье приводятся результаты исследований биологических свойств вакцинного и контрольного штамма после хранения в РКМ.

*Ключевые слова:* штаммы, сальмонеллы, культура, белые мыши, вакцина

**Введение** Сохранение в генетически стабильном состоянии производственных и контрольных штаммов микроорганизмов, используемых для изготовления вакцин, является актуальной задачей. Сохранение в течение максимально длительного времени жизнеспособности и биологической активности культуры является необходимым условием для использования ее для производства биопрепаратов высокого качества. Аттenuированные штаммы микроорганизмов с заданными свойствами являются основой при производстве живых вакцин и определяют их иммуногенную активность и безвредность. В связи с этим проблеме сохранения жизнеспособности микроорганизмов уделяется особое внимание [1]. Одной из важнейших задач в технологическом процессе производства биопрепаратов является сохранение не только жизнеспособности микроорганизма, но и его биологических свойств в стабильном исходном первоначальном состоянии, недопущении изменчивости, реверсии и старения культуры. Необходимо учитывать природу и стабильность штамма, условия культивирования, способ и температуру хранения, реактивации, частоту пересевов и порядок работы со штаммом. Морфологическая вариабельность микроорганизмов зависит также от состава и качества питательных сред [2,3]. При хранении микроорганизмов решающее значение имеют состав и качество защитной среды, концентрация микробных клеток в ампуле, режим лиофилизации, наличие вакуума, продолжительность и условия хранения [4]. Иммуногенные свойства вакцины в значительной степени зависят от состояния исходного матричного штамма после длительного хранения, большое научно-практическое значение имеет включение в основу технологического процесса этапа по предварительной проверке соответствия свойств производственного и контрольного штаммов паспортным характеристикам [5].

Вакцинный штамм для изготовления вакцины против сальмонеллеза телят и контрольный штамм, используемый для контроля иммуногенности вакцины, были переданы в Республиканскую коллекцию микроорганизмов (РКМ при Национальном референтном центре по ветеринарии, г. Астана) на постоянное хранение в декабре 2007 года в соответствии с Постановлением Правительства РК от 22 мая 2007 года № 409 «О реорганизации отдельных организации Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан». В мае 2015 года вакцинный и контрольный штаммы были получены нами из РКМ по запросу для выполнения бюджетной программы «Научное

обеспечение ветеринарного благополучия» по проекту «Разработка сухой живой вакцины против сальмонеллеза телят на основе коллекционного штамма».

**Цель-** изучение влияния длительного хранения на жизнеспособность и стабильность биологических свойств вакцинного штамма В-0086 *Salmonella dublin* 13-20 NS и контрольного штамма В-0098 *Salmonella dublin* 373.

**Материал и методы исследований** При выполнении работы использовались бактериологические, серологические, биохимические методы исследований. Культурально- морфологические свойства сальмонелл изучают путем посева на МПБ, МПА, дифференциально-диагностические среды [6]. Проводят микроскопию мазков, приготовленных из суточных агаровых культур, окрашенных по Граму и простым способом. Биохимические свойства изучают при посеве выделенных культур на среды Гисса с углеводами. Подвижность определяют по росту на полужидком агаре [7,8]. Для выявления протеолитической способности испытываемые штаммы засевают на МПЖ [9]. Посев проводят уколом в застывший столбик МПЖ. После инкубирования при 37 °С в термостате для учета реакции пробирки охлаждают до 20 °С. В пробирках, где под действием ферментов сальмонелл происходит протеолиз желатина, среда разжижается. Для определения сероводорода используют полоску фильтровальной бумаги, смоченную раствором уксуснокислого свинца, индола – смоченную насыщенным раствором щавелевой кислоты. Культуры засевают в 2% пептонную воду, пропитанные реактивами полоски фильтровальной бумаги помещают в пробирку, удерживая ватной пробкой. Через 1-3 дня при наличии сероводорода нижняя часть бумажки окрашивается в черный цвет, а при наличии индола - в розовый. Для определения каталазы на поверхность суточной агаровой культуры наносят 1%-ный раствор перекиси водорода. При наличии каталазы отмечается выделение пузырьков отщепленного кислорода. Антигенную структуру тестируемых штаммов сальмонелл изучали путем агглютинации на стекле с монорецепторными О- и Н-сыворотками производства Краснодарской биофабрики и Санкт-Петербургского научно-исследовательского института вакцин и сывороток и предприятия по производству бактериальных препаратов.

**Результаты и обсуждение** Вакцинный и контрольный штаммы хранились в лиофилизированном состоянии в ампулах. Ампулы с лиофилизированными культурами вакцинного штамма 13-20 NS и контрольного штамма 373 реактивировали путем высева во флаконы с МПБ с 1% глюкозы. Через 18 часов на МПБ отмечалось равномерное помутнение с небольшим осадком. Затем культуры вновь пересеивали на МПБ (культура первой генерации). Через 20 часов из МПБ посева делали на плотные питательные среды (культура второй генерации) МПА, дифференциально-диагностические среды Эндо и Клигlera, висмут сульфитный агар. Через 18 часов на МПА росли круглые, блестящие, выпуклые влажные колонии с голубоватым оттенком, на висмут-сульфитном агаре – типичные колонии черного цвета, на среде Эндо-розовые колонии (сальмонеллы не

разлагают лактозу, входящую в состав среды) в S форме. Верхняя часть среды Клиггера окрашивалась в ярко-красный цвет, нижняя - в желтый. Такая окраска среды отмечается при росте сальмонелл (эшерихии окрашивают среду равномерно в желтый цвет). Суточная культура вакцинного штамма представлена на рисунке 1.

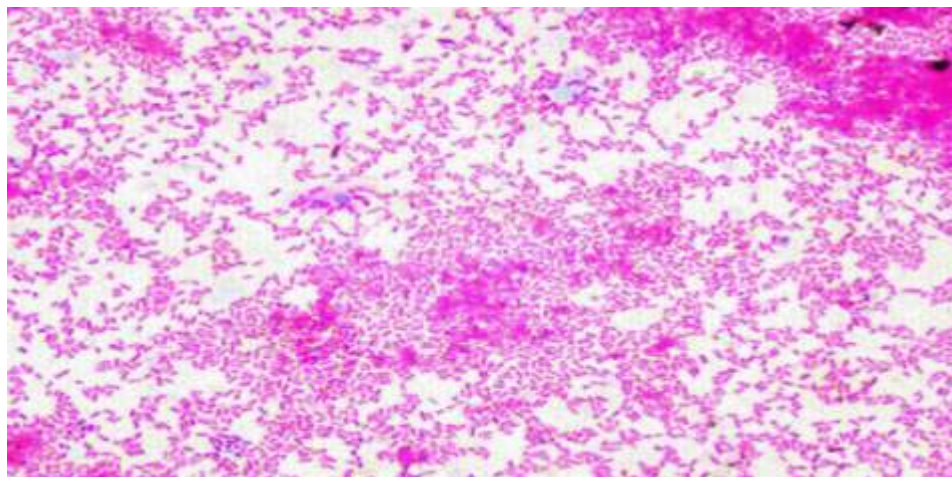


Рисунок 1- Суточная культура вакцинного штамма 13-20 NS после реактивации (культура второй генерации).

На рисунке видны мелкие грамтрицательные палочки с закругленными концами.

При микроскопии мазков наблюдались полиморфные грамтрицательные мелкие палочки с закругленными концами. Культура агглютинировалась в РА на стекле с поливалентной и монорецепторными сыворотками производства Краснодарской биофабрики. Культура сальмонелл агглютинировалась с монорецепторными сыворотками О – I (+++) IX (++++), XII (++) , Н – g,p (++++). При посеве уколом на ПЖА наблюдалась характерная подвижность сальмонелл (подвижные палочки). Биохимические свойства штаммов изучали путем культивирования на среде Гисса. Сальмонеллы не изменяли инозит, глицерино - фуксиновый бульон, раффинозу, салицин; образовывали сероводород, не образовывали индола; ферментировали глюкозу, маннит, арабинозу, дульцит, ксилозу, рамнозу с образование кислоты и газа.

Для контроля штаммов на отсутствие контаминации посторонней микрофлорой делали высевы на МПБ, МПА, МППБ под вазелиновым маслом (среда Китт-Тароцци), среду Сабуро. Штаммы проверены на отсутствие диссоциации, оба штамма находились в устойчивой S форме.

Изучена безвредность *S. dublin* 13-20 NS в опыте на белых мышах. Также проверена патогенность контрольного штамма *Salmonella dublin* 373, хранившегося в лиофилизированном состоянии более 5 лет. Установлено полное соответствии биологических свойств паспортным данным. 3 белым мышам массой 16-18 г вводили подкожно  $1 \times 10^7$  м. к. ( $0,2 \text{ см}^3$  50 миллионной м. к.) взвеси суточной агаровой культуры вакцинного штамма *S. dublin* 13-20 NS по оптическому стандарту ГИСК им. Л.А. Тарасевича. Учет

результатов проводили через 10 суток. Для определения безвредности 2 морским свинкам весом 350 г подкожно вводили 2 млрд. м. к. по оптическому стандарту ГИСК им. Л.А. Тарасевича. Морские свинки и оставались живы в течение 10 суток (срок наблюдения), что свидетельствует о слабой остаточной вирулентности штамма.

3-м белым мышам массой 16-18 г вводили подкожно 2,5 LD<sub>50</sub> (250 м.к.) м. к. взвеси суточной агаровой культуры контрольного штамма *Salmonella dublin* 373 по оптическому стандарту ГИСК им. Л.А. Тарасевича. Все опытные животные пали на 3-4 сутки после заражения, что свидетельствует о высокой вирулентности контрольного штамма для белых мышей.

Вакцинный штамм получен из вирулентной культуры *Salmonella dublin*, выделенной из костного мозга павшего от сальмонеллеза теленка, путем ступенчатого отбора колоний, выращенных на средах с добавлением возрастающих доз неомицина и стрептомицина. Аттenuированный вакцинный штамм по вирулентности в 20 раз ниже природного прототипа, имеет две маркера, обеспечивающие устойчивость к неомицину и стрептомицину. Вакцинный штамм *S. dublin* 13-20 NS высевали на МПА с добавлением неомицина и стрептомицина. Отмечался рост вакцинного, тогда как контрольный штамм *S. dublin* 373 не рос на средах с антибиотиками. Вакцинный штамм резистентен к 100 мкг/см<sup>3</sup> неомицина и 150 мкг/см<sup>3</sup> стрептомицина.

Штамм *Salmonella dublin* 13-20 NS используется для изготовления сухой живой вакцины против сальмонеллеза телят. Живая вакцина против сальмонеллеза телят представляет лиофилизированную культуру, выращенную на плотной питательной среде - агаре Хоттингера.

В результате проведенных исследований установлено, что аттenuированный штамм обладает низкой остаточной вирулентностью, безвредностью в соответствии с паспортными данными. Контрольный штамм сохранил вирулентные свойства. Вакцинный и контрольный штаммы не были контаминированы посторонней бактериальной и грибковой микрофлорой.

Результаты исследований, полученные после завершения изучения биологических свойств вакцинного штамма *S. dublin* 13-20 NS и контрольного штамма *S. dublin* 373, свидетельствуют о том, что тестируемые штаммы после длительного хранения в лиофильно высушенном состоянии обладали стабильными исходными биологическими свойствами, описанными в паспорте.

Вакцинный и контрольный штаммы обладали культурально-морфологическими и биохимическими свойствами, типичными для сальмонелл: образовывали сероводород, не образовывали индола, не ферментировали лактозу, сахарозу. Штаммы обладали высокой ферментативной активностью. С образованием кислоты и газа ферментировали углеводы (глюкозу, мальтозу, маннит. раффинозу и т. д.).

Оба штамма агглютинировались монорецепторными сыворотками O-I, IX, VII; H-c (g, p) (первая фаза), относятся к серологической группе D.

**Заключение** В результате проведенных исследований установлено, что вакцинный штамм *S. dublin* 13-20 NS и контрольный штамм *S. dublin* 373, полученные по запросу из РКМ в ампулах лиофильно высушенном состоянии, не утратили жизнеспособности и стабильности исходных биологических свойств. Штаммы обладали типичными культурально – морфологическими, тинкториальными, биохимическими и антигенными свойствами. Вакцинный штамм был безвреден для белых мышей и морских свинок. Контрольный штамм *S. dublin* 373, используемый в опытах для контроля иммуногенности вакцины, сохранил биологическую активность, обладал высокой вирулентностью для белых мышей в соответствии с паспортными данными.

### Литература

1. Калакуцкий, Л.В. Каталог культур микроорганизмов. Каталог. М. 1992. 190с.
2. Калина Г. П. Изменчивость патогенных микроорганизмов. Киев: Государственное медицинское изд-во УССР 1949. С. 55- 57.
3. Петров Р. В. Иммунология. От Пастера до наших дней. М.: Наука, 1968.102 с.
4. Панин, А.Н., Татаринцев, Н. Г. Основные требования к производственным и контрольным штаммам микроорганизмов// Ветеринария. 1993. - № 4. - С. 28-29.
- 5 Маслан, А. А., Емельянов, И. И. Изучение влияния компонентов питательной среды на рост сальмонелл. Научные основы технологии промышленного производства ветеринарных биопрепаратов//Тезисы докладов 4 Всесоюзной конференции. М., 1991, С. 63- 65.
6. Казахский научно-исследовательский институт эпидемиологии. Микробиологии и инфекционных болезней. Эпидемиология и профилактика сальмонеллезов// Методические рекомендации. Алма-Ата, 1977. С. 9-15.
7. Антонов Б. И. Лабораторные исследования в ветеринарии. М.: Агропромиздат, 1986. С.175 - 177.
- 8.Хоулт, Д и др. Определитель бактерий Берджи. Каталог. М.: Мир, 1997, 1 том.. С. 192 -193.
9. 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.

### Сведения об авторах:

Мусаева А. К.- доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Егорова Н. Н.- кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Канатов Б. К.- кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Утегенова М. Е. - младший научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Нугуманов А. А. –магистрант отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

### **Түйін**

#### **ВАКЦИНАЛЫҚ ШТАММ SALMONELLA DUBLIN 13-20 NS пен БАҚЫЛАУЛЫҚ ШТАММ SALMONELLA DUBLIN 373 САҚТАЛУДАН КЕЙІНГІ БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРІ**

Мұсаева А. Қ, Егорова Н.Н., Қанатов Б. Қ., Утегенова М. Е., Нугуманов А. А.

«Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада микроорганизмдердің республикалық коллекциясында (МРК) сақталған *S. dublin* 13-20 NS вакциналық және *S. dublin* 373 бақылаулық штаммдардың биологиялық қасиеттерін зерттеу нәтижелері келтірілген. Вакциналық және бақылаулық штаммдардың өміршеңдігі жоғалмағаны және олардың биологиялық қасиеттерінің сақталудан кейінгі тұрақтылығы анықталған.

*Кілттік сөздер:* штаммдар, сальмонеллалар, өсінді, ақ тышқан, вакцина

### **Summary**

#### **BIOLOGICAL PROPERTIES OF THE VACCINE STRAIN SALMONELLA DUBLIN 13-20 NS AND SALMONELLA DUBLIN CONTROL STRAIN 373 AFTER STORAGE**

Mussayeva A. K., Yegorova N. N., Kanatov B. K., Utegenova ME , Nugumanov A. A.

LLP «Kazakh scientific-research veterinary institute»

The article presents the results of studies of biological properties of the vaccine and the control strains after storage RCM. It was established that the vaccine strain *S. dublin* 13-20 NS and control strain *S. dublin* 373 not lost viability and stability of the starting biological properties after storage.



Keywords: strains, Salmonella, culture, white mice, vaccine

УДК69:616.98-007.29:579.841.93:636.1:615.371(574)

## ДИАГНОСТИКА И ПРОФИЛАКТИКА САЛЬМОНЕЛЛЕЗНОГО АБОРТА КОБЫЛ

Мусаева А. К., Егорова Н. Н., Утегенова М. К.

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, штаммы, микроорганизмы

**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. По численности поголовья лошадей республика занимает одно из первых мест в СНГ. По последним статистическим данным Комитета ветеринарного контроля и надзора в республике насчитывается свыше 1,5 млн лошадей, из них около половины кобылы. Имеется большое количество неучтенных лошадей, находящихся в частных подворьях, фермерских хозяйствах, конезаводах. Большой процент среди поголовья лошадей составляют племенные чистокровные животные. В последнее время элитные дорогостоящие лошади завозятся из зарубежных стран. Стоимость элитных пород очень высока, племенные животные составляют генофонд республики [1].

Одним из направлений экономического развития республики является повышение эффективности научных исследований в пользу здоровья лошадей, сокращение сроков внедрения достижений науки в производство. Существенное значение в увеличении поголовья и продуктивности лошадей имеет диагностика и профилактика инфекционных болезней, среди которых важное место занимает сальмонеллезный аборт кобыл.

Сальмонеллезный аборт кобыл – распространенная болезнь жеребых кобыл, сопровождающаяся преждевременными родами (абортами) и рождением нежизнеспособного плода. Возбудитель *Salmonella abortus-equi*

открыт в 1893 году Smith и Kilborne в Америке, в 1901 году Д.В. Поляковым в России. В литературе иногда встречается под названием *Salmonella abortiva-equina* (синоним) [2]. Первые сведения по эпизоотологии болезни в республике были опубликованы в 1940 и 1950 годах, из которых вытекает, что инфекционные аборт среди кобыл в Казахской ССР регистрировались с начала 30 –х годов прошлого века.

Кобылы заражаются через пищеварительный тракт, особенно в период абортов. 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. У жеребят болезнь протекает в виде бактериемии и общего токсикоза, энтерита (в раннем возрасте, хронического полиартрита и истощения (в 3-6 месячном и старшем возрасте), приводящих к гибели животных. Абортировавшие кобылы тяжело болеют после аборта [3,4].

**Материал и методы исследований** Диагностика заболевания осуществляется на основании клинико-эпизоотологических, патологоанатомических данных, а также результатов бактериологического и серологических исследований. Патологоанатомические изменения изучают при вскрытии абортированных плодов по общепринятой методике. От абортплодов исследуют паренхиматозные органы с учетом наибольшей локализации сальмонелл (печень, лимфатические узлы, селезенку, сердце, почки, костный мозг). Культуральные свойства выделенных культур определяют путем посева их на жидкие, полужидкие и плотные питательные среды. Морфологию сальмонелл изучают путем микропирования мазков, приготовленных из агаровых суточных культур, окрашенных по Граму и простым способом. Способность сальмонелл ферментировать те или иные углеводы является одними 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%, и индикатор Андрэде. О наличии ферментации судят по изменению цвета индикатора. Наблюдение ведут в течение двух суток. Антигенную структуру тестируемых штаммов сальмонелл изучают с поливалентными и монорецепторными агглютинирующими сыворотками. Для определения О-антигена культуру берут с верхней части скошенного в пробирке агара, а для определения Н-антигена с нижней части агара. Во всех случаях определяют отношение культур к глицерину, желатину, сероводороду и индолу. Полученные при изучении культур данные обязательно должны соответствовать основным характеристикам эталонных коллекционных штаммов. Таксономическое распределение культур проводят согласно определителю бактерий Bergey's (*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*

/Department of Microbiology and Molecular Genetics: Michigan State University: USA, 2005) [6, 7].

**Результаты и обсуждение** В конце апреля 2014 года для исследования был доставлен патологический материал от абортплода кобылы из КХ «Курты - Саяхат» Жамбылского района Алматинской области. Аборт произошел на 10 месяце жеребости. В хозяйстве абортировали несколько глубокожеребых кобыл. Абортплод сформирован, имеет шерстный покров и копытца. Патологические изменения наблюдались в брюшной полости. Отмечался комплекс воспалительных, дистрофических, некротических и гранулематозных изменений в тканях органов, множественные кровоизлияния в них, под серозным покровом, в слизистых оболочках кишечника. Сердце увеличено, миокард дряблый. Паренхиматозные органы дряблые, перерожденные с кровоизлияниями. Для диагностических исследований доставлены кусочки паренхиматозных органов (печени, селезенки, сердца), а также трубчатая кость с костным мозгом. Посевы делали на МПБ, МПА, висмут – сульфитный агар, среды Эндо и Клиглера из селезенки, печени, сердца, костного мозга плода. Через 18 часов от абортированного плода выделили чистую культуру сальмонелл, которую затем дифференцировали по культурально – морфологическим, биохимическим и антигенным свойствам. На МПА росли круглые, блестящие, выпуклые влажные колонии с голубоватым оттенком, на висмут-сульфитном агаре – типичные колонии черного цвета, на среде Эндо-розовые колонии (сальмонеллы не разлагают лактозу, входящую в состав среды). Верхняя часть среды Клиглера окрашивалась в ярко-красный цвет, нижняя - в желтый. Такая окраска среды отмечается при росте сальмонелл (эшерихии окрашивают среду равномерно в желтый цвет). При микроскопии мазков наблюдались полиморфные граммотрицательные мелкие палочки с закругленными концами. Культура агглютинировалась в РА на стекле с поливалентной и монорецепторными сыворотками производства Краснодарской биофабрики. Культура сальмонелл агглютинировалась сыворотками O – IV (++++), XII (+++), H – enx (+++). При посеве уколом на ПЖА наблюдалась характерная подвижность сальмонелл (подвижные палочки). Выделенную культуру идентифицировали методом изучения биохимических свойств путем культивирования на среде Гисса. Сальмонеллы не изменяли инозит, глицерино - фуксиновый бульон, раффинозу, салицин; сероводород не образовывали (этот признак отличает *Salmonella abortus-equi* от других серотипов сальмонелл и является маркерным); ферментировали глюкозу, маннит, арабинозу, дульцит, ксилозу, рамнозу с образование кислоты и газа.

На основании клинико-эпизоотологических данных, культурально – морфологических, биохимических и антигенных свойств выделенная эпизоотическая культура сальмонелл отнесена к *Salmonella abortus-equi*. По биологическим свойствам штамм идентичен коллекционному эталонному штамму *Salmonella abortus-equi* E-841 (коллекционный номер В - 0088).

Биопробу ставили на 3 белых мышах массой 18-20 г. Вирулентные свойства культуры определяли путем подкожного введения  $1 \times 10^6$  м.к. ( $0,2 \text{ см}^3$  5 млн взвеси) смыва суточной агаровой культуры сальмонелл по оптическому стандарту мутности ГИСК им. Тарасевича. Белые мыши пали на 3-4 сутки после заражения, что свидетельствует о высокой вирулентности сальмонелл. Из печени, крови сердца павших мышей делали посева на МПБ, МПА. Из органов биопробных мышей высевалась культура *Salmonella abortus-equi*, не контаминированная посторонней микрофлорой.

**Профилактика сальмонеллезного аборта кобыл** основана на вакцинации жеребых кобыл. Для профилактики сальмонеллезного аборта кобыл в Республике Казахстан применяется живая сухая вакцина против сальмонеллезного аборта кобыл из штамма В-0147 *Salmonella abortus – equi* Е-841, изготавливаемая из аттенуированного (ослабленного) штамма сальмонелл. Штамм получен из вирулентной культуры *Salmonella abortus – equi* под влиянием химического мутагена – нитрофуранов с последующей селекцией мутантов и отбором клонов. Штамм *Salmonella abortus – equi* Е-841 утратил абортотропные свойства, имеет умеренную остаточную вирулентность, обладает высокой иммуногенностью. Штамм Е-841 обладает типичными для *Salmonella abortus – equi* культуральными, биохимическими и антигенными свойствами. Существенным отличием штамма Е-841 от вирулентного прототипа является аукоотрофность в отношении тиамина и никотиновой кислоты; штамм Е-841 образует аргинин – декарбоксилазу и слабо-лизин – декарбоксилазу. Вирулентность вакцинного штамма снижена в 20 раз по сравнению с природным прототипом. Аттенуированный вакцинный штамм не способен вызывать заболевание у кобыл. Вакцинный штамм Е-841 сохраняет слабую остаточную вирулентность и не реверсирует при пассировании на восприимчивых животных (белые мыши, куриные эмбрионы). Утрата штаммом Е-841 абортотропных свойств подтверждается опытами вакцинопрофилактики лиофилизированной культурой глубоко жеребых кобыл (за 2-3 месяца до выжеребки) в дозе 1,2 – 1,5 млрд. живых м. к., а также вакцинацией жеребых кобыл. Вакцина защищает кобыл от сальмонеллезного аборта. Вакцинация жеребых кобыл в период 4 -7 месячной жеребости проводится с профилактической целью однократно. Жеребята и молодняк прививаются по показаниям. Вакцину перед применением разводят стерильным физиологическим раствором или охлажденной кипяченой водой из расчета  $3 \text{ см}^3$  на каждую дозу вакцины. Кобылам вводят  $3 \text{ см}^3$  подкожно в верхнюю треть шеи. Вакцина сообщает привитым животным иммунитет высокого напряжения. Местная реакция после прививки у кобыл проявляется в виде умеренного отека на месте введения, который рассасывается в течение недели. У отдельных животных возникает общая реакция: повышение температуры до  $40^\circ \text{C}$  и угнетение в первые двое-трое суток после вакцинации. Иммунитет у вакцинированных животных наступает в течение двух недель и сохраняется 12 месяцев.

Вакцинальная культура Е-841 высевается из органов и крови белых мышей в течение 20 суток, из селезенки и лимфатических узлов до 25 суток;

от морских свинок в течение двух недель. Подкожная иммунизация морских свинок не вызывает микроскопических изменений. Сухая вакцина соответствует современным отечественным и международным стандартам: малые дозы, умеренная реактогенность, высокая иммунизирующая активность, экономичность и простота изготовления.

Эпизоотологические наблюдения и отзывы специалистов хозяйств свидетельствуют о безопасности и высокой вакцинации жеребых кобыл. Систематические прививки живой вакциной из штамма E-841 защищают животных от абортосальмонеллезной этиологии, увеличивают выход жеребят, надой молока, в результате чего хозяйства получают большой экономический эффект.

Вакцинный штамм B-0147 *Salmonella abortus – equi* E-841 депонирован в ВГНКИ и в республиканской коллекции микроорганизмов (г. Астана). В РКМ депонирован также контрольный штамм *Salmonella abortus – equi* коллекционный номер B-0099), применяющийся для контроля иммуногенной активности вакцины [8].

**Рекомендации по борьбе сальмонеллезным абортосальмонеллезом кобыл.** В случае вспышки в хозяйстве абортосальмонеллеза у кобыл необходимо доставить в Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт пробы патологического материала от абортированного плода: кусочки печени, селезенки, брыжеечных лимфатических узлов, сердца, трубчатую кость с костным мозгом. Нет необходимости доставлять цельный абортосальмонеллезный плод. Патматериал должен быть свежим. Наряду с сальмонеллезным абортосальмонеллезом у глубоко жеребых кобыл регистрируются аборты вирусной этиологии (ринопневмония лошадей), встречающиеся значительно реже, чем аборты сальмонеллезной этиологии. Для дифференциации вирусных абортосальмонеллезов вместе с патматериалом нужно предоставить сыворотки крови абортировавших кобыл для серологических исследований на ринопневмонию лошадей.

При появлении абортосальмонеллеза у кобыл необходимо провести дезинфекцию помещений, пастбищ, инвентаря, изолировать абортировавших кобыл от здоровых. Больных абортировавших кобыл рекомендуется лечить антибиотиками широкого спектра действия (тетрациклинового ряда, неомицином). Необходимо ежегодно в октябре-ноябре месяцах проводить поголовную вакцинацию жеребых кобыл (4-7 месячной жеребости) вакциной против сальмонеллезного аборта кобыл.

**Заключение** Клинико-эпизоотологические данные, результаты патологоанатомических, бактериологических, биохимических исследований и антигенных свойств сальмонелл, изолированных из абортосальмонеллезного плода кобылы, позволили установить диагноз, выделить и идентифицировать возбудителя сальмонеллезного аборта кобыл *Salmonella abortus- equi*.

## Литература

1. Досанов К. Ш., Мусаева А. К., Егорова Н. Н. 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. Бутковский В.Ф. Изучение сальмонеллеза лошадей в Республике Саха (Якутия) // Эпизоотология и профилактика болезней животных в условиях Якутии. Новосибирск, 1994. - С. 28-34.
5. Кауфман Ф. Семейство кишечных бактерий.. М: Медгиз, 1959. – С.86 -87.
6. Хоулт Д. и др. Определитель бактерий Берджи. Каталог. М: Мир, 1997. том I. – С. 192 -193.
7. 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.
8. Сансызбай А. Р. и др. Каталог культур микроорганизмов. Алматы, 2005.–264 с.

#### **Сведения об авторах:**

Мусаева А. К.- доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела по разработке и внедрения биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Егорова Н. Н.- кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела по разработке и внедрения биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Утегенова М. Е. - младший научный сотрудник отдела по разработке и внедрения биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

#### **Түйін**

### **БИЕЛЕРДІҢ ТҮСІК ТАСТАЙТЫН САЛЬМОНЕЛЛЕЗІН БАЛАУ ЖӘНЕ АЛДЫН АЛУ**

Мұсаева А.Қ., Егорова Н. Н., Өтегенова М. Е.

«Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада биелердің түсік тастайтын сальмонеллезін балау және алдын алу сұрақтары қарастырылады. Буаз жылқылардың түсігінен бөлініп алынған сальмонеллалардың эпизоотиялық штамдарының культуральды-

морфологиялық, биохимиялық және антигендік қасиеттерін зерттеудің қорытындылары келтіріледі.

*Кілттік сөздер:* биелердің сальмонеллезді абортты, сальмонеллалар, патологиялық материал, инфекция, диагностика, штаммдар

### **Summary**

#### **DIAGNOSTICS AND PROPHYLACTICS OF SALMONELLOSIS ABORTION OF MARES**

Mussaeva A. K., Yegorova N. N., Utegenova M. E.

LLP «Kazakh scientific-research veterinary institute»

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:* Salmonella abortion of mares, salmonella , pathological material, infection, diagnosis , strains, microorganisms

УДК 619:616-07

#### **РАЗРАБОТКА ПРАЙМЕРОВ И ЗОНДОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ YERSINIA ENTEROCOLITICA МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ (ПЦР) В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ**

**Мустафин Б.М., Чужебаева Г.Д., Ульянов В.А.**

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

Костанайский государственный университет имени А. Байтурсынова

**Резюме** В статье отражены результаты исследований по разработке праймеров полимеразной цепной реакции в реальном времени для выявления Yersinia enterocolitica методом ПЦР.

*Ключевые слова:* иерсиниоз, Yersinia enterocolitica, ПЦР – диагностика, праймеры, оптимизация

**Введение** Иерсиниоз – острое инфекционное заболевание людей и животных разных видов, включая птиц, характеризующееся преимущественным поражением желудочно-кишечного тракта с тенденцией к генерализованному поражению различных органов и систем.

Возбудителями иерсиниоза являются *Yersinia pseudotuberculosis* и *Yersinia enterocolitica*. *Yersinia enterocolitica* вызывает бактериемию с последующей септициемией и гибелью [2]. У животных заболеванию особенно подвержен молодняк, у которого иерсиниоз проявляется в виде sporadических случаев или энзоотических вспышек.

Исследователи указывают на обсеменённость иерсиниями свинины, говядины, мяса птицы и мясных продуктов. Во многих странах установлено значительное инфицирование иерсиниями свиней, доказана их роль как основных источников иерсиниоза для человека [3,4].

Одними из наиболее эффективных подходов для идентификации иерсиний на сегодняшний день являются методы, основанные на амплификации нуклеиновых кислот, в первую очередь, полимеразная цепная реакция (ПЦР) и её модификации [5]. Одна из них – ПЦР «в режиме реального времени» (ПЦР-РВ) используется для количественного определения содержания специфической ДНК иерсиний в образце.

**Материалы и методы исследований** Поиск последовательностей генов для подбора универсальных праймеров производится в GenBank NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank>). Выравнивания нуклеотидных последовательностей проводят с использованием алгоритма Clustal W. Оценки характеристик праймеров и зондов проводят с помощью программы Oligo 6.71.

Концентрации ДНК определяют на спектрофотометре NanoVue. Перед внесением в реакционную смесь ДНК выделенной культуры разбавляют до 10 нг/мкл.

Праймеры и флуоресцентно-меченые зонды синтезированы в лаборатории молекулярной диагностики АО «Агродиагностика» (г. Москва).

Для контроля проведения ПЦР-РВ были разработаны: отрицательный контрольный образец (ОКО), положительный контрольный образец (ПКО), контроль выделения ДНК (ВКО).

ВКО - эндогенный внутренний контроль выделения ДНК - праймеры и флуоресцентный ДНК-зонд, гомологичные последовательности гена, кодирующего порины наружной мембраны возбудителя инфекции.

В качестве ВК используют плазмидную конструкцию со вставкой размером 560 п.о., фланкированную инвертированными последовательностями, гомологичными 1 праймеру, используемому для амплификации ВК. Зонд для ВК также представляет собой TaqMan, меченый другим флуорофором (HEX).

ПЦР проводят в соответствии со следующими программами амплификации: 95°C - 3 мин (1 цикл); затем 35 циклов: денатурация при 95°C - 20 с, отжиг при 52°C - 20 с, синтез при 72°C - 20 с.



По мере протекания реакции для каждого образца определяют зависимость уровня флуоресценции от номера цикла и при помощи прилагаемого к амплификатору программного обеспечения строят соответствующий график. Для определения значений  $C_d$  используют пороговый метод анализа. Детекцию результатов ПЦР проводят также методом гель - электрофореза.

**Результаты и обсуждение** Для детекции *Yersinia enterocolitica* была проведена работа по моделированию праймеров, контрольных образцов и флуоресцентных ДНК-зондов. Были построены выровненные последовательности, определены наиболее консервативные участки генома, после чего с использованием пакетов программного обеспечения была проведена работа по конструированию специфических олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентных зондов.

Наиболее распространёнными системами флуоресцентно-меченых зондов являются TaqMan и «молекулярные маячки» (molecular beacons). Среди всех систем детекции флуоресценции в формате ПЦР-РВ для детекции возбудителей метод с использованием TaqMan нашёл наиболее широкое применение. Для исключения конкурентной амплификации ВКО проводили оценку эффективности амплификации целевых ДНК в присутствии и отсутствии праймеров и флуоресцентных зондов к ВКО. Установлено, что амплификация ВКО не конкурирует с целевыми реакциями.

Для подбора специфичных праймеров в базе данных NCBI были выбраны два гена: ген *OmpF* и 23S рибосомальной РНК.

Праймеры, подобранные нами к участкам генов *OmpF* и 23S ribosomal RNA, показали высокую специфичность. Значения порогового цикла при использовании праймеров к гену 23S ribosomal RNA оказались на 4-5 единиц выше, чем при использовании праймеров к участку *OmpF*, поэтому в дальнейшей работе использовали праймеры к локусу *OmpF* для *Y. enterocolitica*: YE-F19 - GTCTGGGCTTTGCTGGTCTG и YE-R38 - GCGTTCGTATTTAGCACCAACG.

Оптимизация ПЦР в реальном времени. С использованием полученных плазмидных конструкций (ПКО) были подобраны условия оптимального проведения ПЦР-РВ. Эмпирически были выбраны рН реакционных смесей, концентрации  $MgCl_2$ , фермента, праймеров и флуоресцентных зондов, температуры отжига праймеров и время инкубации для каждой стадии цикла.

Титрование рН проводили в диапазоне 8,0-9,0. Оптимальные значения рН для используемых смесей для проведения ПЦР - 8,5. Для выбора оптимальной концентрации  $MgCl_2$  готовили реакционные смеси с последовательными разведениями в диапазоне 1,5-5,5 мМ. Оптимальная концентрация  $MgCl_2$  лежит в диапазоне 2,5-3,5 мМ (рисунок 1).

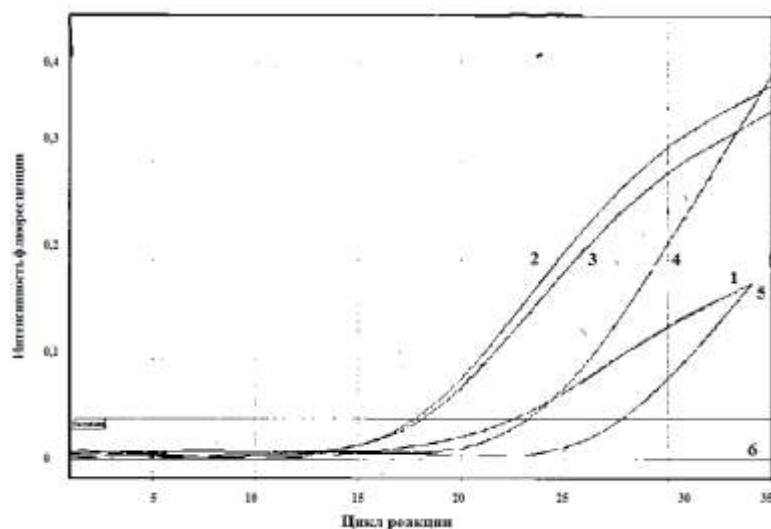


Рисунок 1 - Зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации  $MgCl_2$  в реакционной смеси

Примечания 1 - 1,5 мМ; 2 - 2,5 мМ; 3 - 3,5 мМ; 4 - 5 мМ; 5 - 5,5 мМ; 6 - ОКО

Из рисунка 1 видно, что интенсивность флуоресценции зависит от концентрации  $MgCl_2$  в реакционной смеси.

Концентрации прямого, обратного праймеров и флуоресцентного ДНК-зонда были подобраны эмпирически, для чего были приготовлены последовательные разведения олигонуклеотидов в диапазоне 0,1-0,6 мкМ в реакции. Экспериментально показано, что интенсивность флуоресценции прямо пропорциональна концентрации праймеров в растворе и обратно пропорциональна концентрации ДНК-зонда. В разработанной ПЦР-РВ оптимальные концентрации прямого и обратного праймеров составили 0,5-0,6 мкМ/реакция, флуоресцентного ДНК-зонда - 0,1 мкМ/реакция. При выборе оптимальных параметров циклирования ПЦР температуры гибридизации праймеров варьировали в диапазоне 46-56 °С (рисунок 2).

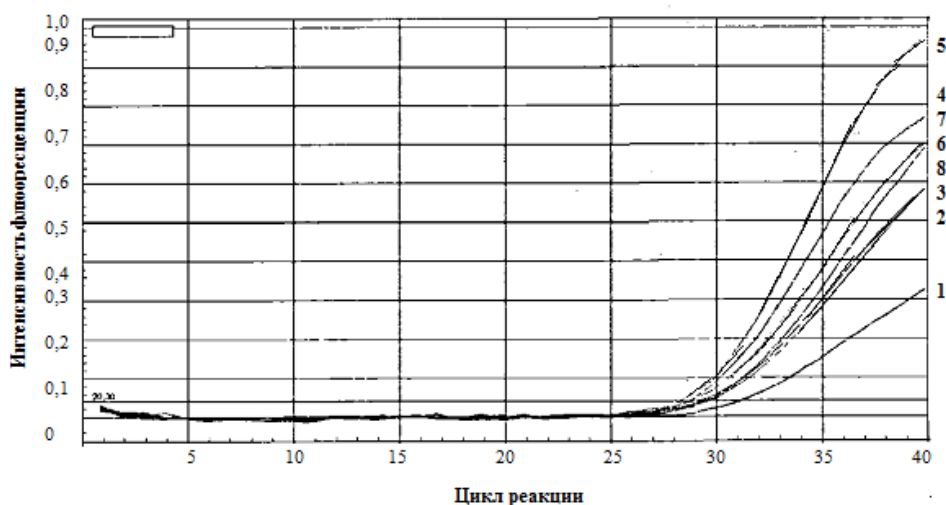


Рисунок 2 - Зависимость интенсивности флуоресценции от температуры отжига праймеров

Примечания 1 - 56,0 °С, 2 - 55,5 °С, 3 - 54,2 °С, 4 - 52,4 °С, 5 - 49,9 °С, 6 - 48,1 °С, 7 - 46,8 °С, 8 - 46,0 °С

Из рисунка 2 следует, что интенсивность флуоресценции прямо пропорциональна концентрации праймеров в растворе и обратно пропорциональна концентрации ДНК-зонда.

Для проверки специфичности разработанных праймеров использовали 16 образцов ДНК *Y. enterocolitica*. Результаты ПЦР-анализа приведены на рисунке 3.

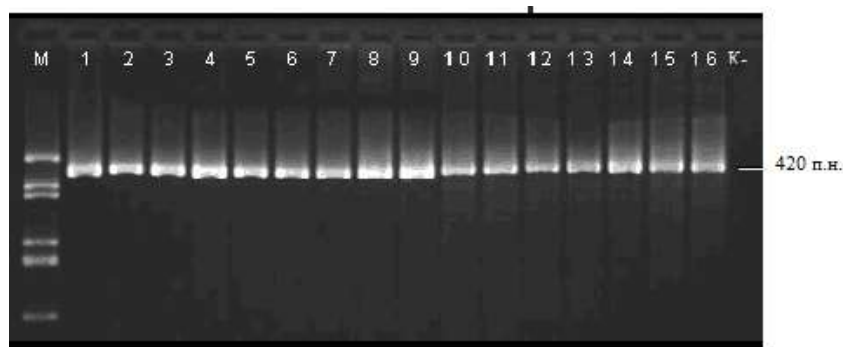


Рисунок 3 - Электрофореграмма продуктов ПЦР с праймерами на локус гена *OmpF* ДНК *Y. enterocolitica*, М — маркер молекулярного веса для ДНК 50-500 п.н. с шагом 50 п.н.

На рисунке 3 показаны результаты ПЦР *Y. enterocolitica*. При тестировании праймеров YE-F19 и YE-R38 для *Y. enterocolitica* с ДНК изолятов этого возбудителя, были получены ПЦР-продукты длиной около 420 п.н. (рисунок 4).

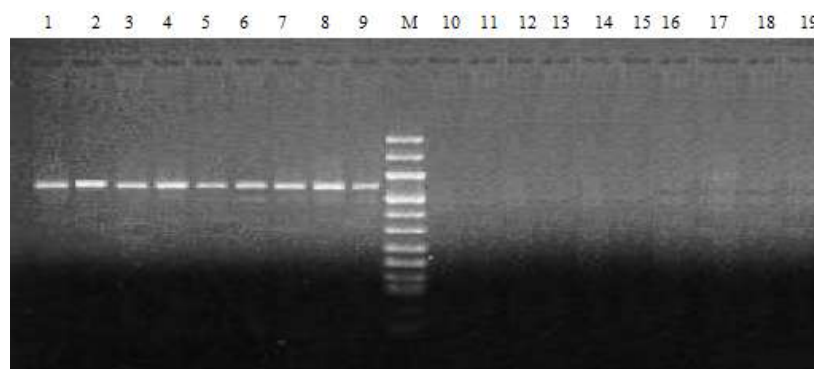


Рисунок 4 - Электрофореграмма продуктов ПЦР с праймерами YE-F19 и YE-R38 на локус *OmpF* для *Y. enterocolitica* (дорожки 1-9) *Yersinia pseudotuberculosis* (дорожки 9-11), *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* (дорожки 12 - 14), *P. multocida* (дорожки 15); *Salmonella spp* (дорожки 16-18).

На рисунке 4 показано, что при проведении ПЦР с праймерами YE-F19 и YE-R38 ПЦР продукты размером 420 п.н. нарабатывались только с ДНК *Y. enterocolitica*.

**Заключение** Таким образом, для идентификации вида *Y. enterocolitica* разработаны праймеры и зонд, которые могут послужить основой для создания стандартных наборов для диагностики иерсиниоза. Для проведения экспериментов получены положительный контрольный образец и внутренний контрольный образец. Проверена специфичность подобранных праймеров и зондов методом ПЦР в «реальном времени». Отработаны и оптимизированы параметры ПЦР для диагностики иерсиниоза.

### Литература

1. Смирнов И.В. Возбудитель иерсиниоза и близкие к нему микроорганизмы. В кн.: Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – М., 2004. – Т. 6. - № 1. - С. 10 - 21.
2. Pilar Ortiz Martínez, Sophia Mylona, Ian Drake, Maria Fredriksson-Ahomaa, Hannu Korkeala, Janet E.L. Corry. Wide variety of bioserotypes of enteropathogenic *Yersinia* in tonsils of English pigs at slaughter // *International Journal of Food Microbiology*. 139 (2010). - P. 64–69
3. Inge Van Dammea, Dirk Berkvens, Nadine Botteldoorn и др. Evaluation of the ISO 10273:2003 method for the isolation of human pathogenic *Yersinia enterocolitica* from pig carcasses and minced meat // *Food Microbiology* 36 (2013). – P. 170 -175.
4. J.A. Hudson, N.J. King, A.J. Cornelius, T. Bigwood, K. Thom, S. Monson. Detection, isolation and enumeration of *Yersinia enterocolitica* from raw pork // *International Journal of Food Microbiology* 123 (2008). – P. 25 – 31.
5. Gerty Vanantwerpen, Inge Van Damme, Lieven De Zutter, Kurt Houf. Within-batch prevalence and quantification of human pathogenic *Yersinia enterocolitica* and *Y. pseudotuberculosis* in tonsils of pigs at slaughter // *Veterinary Microbiology* 169 (2014). – P. 223 – 227.

### Сведения об авторах:

Мустафин Б.М. – доктор ветеринарных наук, директор филиала «Костанайская НИВС» ТОО «КазНИВИ»

Чужебаева Г.Д. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник филиала «Костанайская НИВС» ТОО «КазНИВИ»

Ульянов В.А. - Костанайский государственный университет имени А. Байтурсынова

Түйін

ПОЛИМЕРАЗДЫ ТІЗБЕКТИ РЕАКЦИЯ МЕТОДЫ АРҚЫЛЫ YERSINIA  
ENTEROCOLITICA ЗЕРТТЕУ ҮШІН ПРАЙМЕРЛЕРДІ ЖӘНЕ  
ЗОНДТАРДЫ ШЫҒАРУ

Мұстафин Б.М., Чужебаева Г. Д., Ульянов В.А.

«Қостанай ғылыми – зерттеу ветеринариялық станциясы» Қазақ ҒЗВИ  
ЖШС филиалы

А. Байтұрсынов атындағы Қостанай мемлекеттік университеті

Мақалада праймерлерді шығару жөніндегі зерттеулердің нәтижелері және ПТР методы арқылы нақты уақытта Yersinia enterocolitica қоздырғышты анықтау бойынша зерттеулердің нәтижелері келтірілген.

*Кілттік сөздер:* иерсиниоз, Yersinia enterocolitica, ПТР - балау, праймерлер, оңтайландыру

**Summary**

DEVELOPMENT PRIMERS AND PROBES FOR THE IDENTIFICATION OF  
YERSINIA ENTEROCOLITICA BY POLYMERASE CHAIN REACTION  
(PCR) IN REAL TIME

Mustafin B.M., Chuzhebaeva G.D., Ulyanov V.A.

Branch «Kostanai Scientific - Research Veterinary Station»  
Kostanai State University A. Baitursynov

The aim is to develop a polymerase chain reaction in real time protocol for use in veterinary laboratories. The article presents the results of studies on the development of primers and protocol to identify Yersinia enterocolitica by real-time PCR.

*Keywords:* yersiniosis, Yersinia enterocolitica, PCR - diagnosis, primers, optimization

УДК 619:616.98.05

**КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ШТАММА «КАЗНИВИ» ВИРУСА  
БЕШЕНСТВА В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК**

**Мырзахметова Б.Ш., Кутумбетов Л.Б.**

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме** В статье приведены результаты культивирования лабораторного штамма вируса бешенства в культурах клеток ВНК-21 и ТЯ-КК49 в последовательных пассажах, проведенных разными способами. В одном случае пассажи проводили путем пересевов зараженных культур клеток, в другом – путем внесения в новую партию интактных клеток суспензию зараженных культур клеток предыдущего пассажа. Установлено, что оба вида использованной культуры клеток чувствительны к вирусу бешенства и его можно пассировать в этих субстратах обеими испытанными способами. Культуральный вирус 3-го пассажа сохраняет свою патогенность по отношению к мышам при интрацеребральном заражении.

*Ключевые слова:* бешенство, штамм, культура клеток, пассаж, патогенность, интрацеребральное заражение

**Введение** Для вирусологических исследований и изготовления диагностических и вакцинных препаратов вирус бешенства культивируют в организме различных видов животных (лабораторных и сельскохозяйственных) и вне организма – культурах клеток [1,2]. Способ использования животных-доноров для производства вирусной массы не обладает достаточной технологичностью и при этом расходуются объекты имеющие пищевое предназначение. Поэтому, основу технологий изготовления современных антирабических вакцин, несмотря на сравнительно низкую антигенность получаемого продукта, составляет способ производства вирусной массы в культуре клеток [3,4,5]. При этом технологические способы продукции вирусного сырья возбудителя бешенства, в зависимости от биологических свойств используемого штамма, вида и способа культивирования культуры клеток, значительно различаются. Но в нашей стране до настоящего времени продукция вируса бешенства в культуре клеток не проводится. Имеются только лишь исследования и производство фиксированного штамма этого вируса в мозговой ткани лабораторных и сельскохозяйственных животных.

Целью исследований, приводимых в данной работе, является определение репродуктивной способности лабораторного штамма фиксированного вируса бешенства в пересеваемых культурах клеток с гаплоидным и диплоидным набором хромосом.

**Материалы и методы исследований** В исследованиях использовали лабораторный штамм фиксированного вируса бешенства, способного репродуцироваться *in vitro* и *in vivo*, культуры клеток линии ВНК-21 и ТЯ-КК49. Клетки выращивали монослоем стационарным способом в питательной среде Игла с добавлением 10% сыворотки крови крупного рогатого скота. С целью продукции вирус с титром  $10^{5,0}$  МЛД<sub>50/см<sup>3</sup></sub> вносили на монослой клеток 3-4 суточного возраста в дозе 5 см<sup>3</sup> в один 1,5 литровый матрас, содержащий 100 см<sup>3</sup> питательную среду Игла без сыворотки. Клетки в матрасах, инокулированные вирусом, инкубировали при температуре 37°C в течение одного часа, затем питательную среду заменяли на свежую, содержащую 5% сыворотки крови эмбрионов крупного рогатого скота. После

проведенных процедур клетки ВНК-21 инкубировали далее при той же температуре в течение 5 суток, а ТЯ-КК49 – в течение 7 суток. По завершению срока культивирования проводили «слепое» пассирование вируса в обеих культурах клеток, в одном случае часть культуры клеток в матрасах пассировали пересевом, в другом – методом переноса вирусодержащей культуральной суспензии, подвергнутой физической деструкции клеток, в свежий монослой клеток. Каждым способом было проведено до 4-5 пассажей и на 3-5 пассажах исследован титр вируса. Титр вируса устанавливали биопробой на мышатах-сосунках путем инфицирования интрацеребрально десятикратными разведениями испытуемых образцов. Наличие вируса в исследуемой культуральной суспензии устанавливали по заболеваемости и гибели мышат, подвергнутых биопробе.

Репродуктивную способность вируса *in vitro* в использованной биологической модели оценивали по его титру в каждой культуре клеток. Сравнительную производительность каждой культуры клеток вычисляли по количеству вируса в общем объеме биомассы, полученной за минимальный отрезок времени.

**Результаты и обсуждение** Каждый пассаж вируса проводили параллельно в двух видах культурах клеток – ВНК-21 и ТЯ-КК49, выращенных в 1,5-литровых матрасах. Для заражения вирусом и последующего пассирования использовали по 4 матраса культуры клеток со свежо сформированным монослоем, образование которой на третьи сутки регулировали посевной концентрацией трипсинизированных клеток. Для этого культуру клеток ВНК-21 высевали в концентрации  $2 \times 10^5$  клеток/см<sup>3</sup>, а культуру клеток ТЯ-КК49 – в концентрации  $4 \times 10^5$  клеток/см<sup>3</sup>. Для сравнительной оценки динамики размножения клеток, подвергнутых заражению вирусом и интактных, использовали контрольную культуру клеток каждого вида, выращенных в 3-х матрасах и не подвергнутых инфицированию вирусом. На каждом пассаже вируса перед посевом и по завершению культивирования определяли концентрацию живых клеток. У культуры клеток, в которой пассирование вируса проводили методом посева с помощью раствора трипсина, оценивали сроки и характер формирования монослоя. Результаты выращивания клеток по пассажам зараженных и не зараженных вирусом бешенства приведены в таблице 1.

Как видно из данных таблицы 1, в контрольной культуре клеток ВНК-21 при посевной концентрации клеток  $2 \times 10^5$  в 1 см<sup>3</sup> с общим их количеством  $2,4 \times 10^7$  на первом пассаже монослой сформировался на 3-е сутки и после 5 суток дальнейшего культивирования прирост клеток составил 5-кратный, достигнув их общее количество до  $1,2 \times 10^8$ . Примерно с такой же скоростью роста и концентрацией накопления эта культура обладала в последующих 2-х пассажах. При пассировании интактной культуры клеток ТЯ-КК49 пролиферативная активность ее была сравнительно ниже, чем у культуры клеток ВНК-21, и ее индекс оказался в пределах 2,9. Учитывая такую замедленную скорость роста этой культуры клеток для получения

равномерного монослоя клеток в те же сроки и клеток ВНК-21 (на 3-е сутки) использовали двукратно повышенную посевную концентрацию клеток, с общим количеством клеток  $4,8 \times 10^7$ . При таком количестве культура клеток сформировала монослой в ожидаемый срок и после последующих 5 суток культивирования общее количество клеток в каждом матрасе составила  $1,4 \times 10^8$ . В двух дополнительных пассажах, которые были проведены с теми же параметрами высева и культивирования клеток, что и на первом пассаже, скорость роста и накапливаемое количество клеток были примерно одинаковыми. Изменение скорости формирования монослоя и его характера отмечали в популяции культуры клеток, пассируемой после инфицирования вирусом бешенства. В монослое такой культуры клеток ЦПД вируса не выявляли. Но, от пассажа к пассажиру отмечали удлинение срока формирования монослоя и изменение его характера в сторону «разрыхления». Так, при общем количестве посеянных клеток ВНК-21 равный  $2,4 \times 10^7$  и ТЯ-КК49 –  $4,8 \times 10^7$  и инфицировании их вирусом на 3-е сутки, после последующих 5 суток культивирования количество выросших клеток составило  $1,1 \times 10^8$  для ВНК-21 и  $1,2 \times 10^8$  для клеток ТЯ-КК49. Индекс пролиферации был равен 4,58 и 2,5, соответственно. То есть в обеих культурах клеток коэффициент роста замедлился на 0,42-0,4. В последующих двух пассажах, проведенных путем пересевов с помощью трипсинизации, при общем количестве посевных клеток, который был равен количеству, использованному при первом пассаже, к 9-му дню культивирования на втором пассаже и 10-11-му дням на третьем пассаже, общее количество выросших клеток составило  $1,0 \times 10^8$  для линии ВНК-21 и  $0,9 \times 10^8$  для ТЯ-КК49 на втором пассаже и  $0,8 \times 10^8$ ,  $0,7 \times 10^8$ , соответственно, на третьем пассаже. Расчет цифровых показателей количества посеянных и выросших клеток по каждому виду показал, что индекс пролиферации клеток ВНК-21 составил 4,17 на втором пассаже и 3,3 на третьем. Тогда как эти показатели у культуры клеток ТЯ-КК49 равнялись 1,88 на втором пассаже и 1,46 на третьем.

Таким образом, инфицирование культур клеток ВНК-21 и ТЯ-КК49 вирусом бешенства не приводит к развитию в монослое видимого ЦПД, но приводит к замедлению процесса активного роста клеток. Индекс пролиферации клеток с каждым дополнительным пассажем, проведенным путем пересевов трипсинизацией, уменьшается прямо пропорционально количеству пассажей.

В исследованиях, проведенных параллельно, где пассажи вируса проводили путем переноса суспензии инфицированных клеток на монослой свежих интактных клеток, изменения индекса пролиферации клеток на всех трех последовательных пассажах не отмечали. Количественно он равнялся 4,58 на первом пассаже, 5,41 на втором и 5,0 на третьем для культуры клеток ВНК-21, для культуры клеток ТЯ-КК49 этот показатель составил 2,5 на первом и втором пассажах и 2,29 на третьем.

В целях установления специфичности замедления пролиферативной активности популяций культур клеток, инфицированных вирусом бешенства,



и подтверждения наличия этого вируса в образцах культур клеток, в которых пассажи вируса проводили переносом суспензии зараженных клеток на новый монослой были проведены исследования по обнаружению возбудителя в этих культурах клеток путем биопробы на мышатах-сосунках. Данные этих исследований приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты биопробы суспензией культур клеток, интактных и инфицированных вирусом бешенства после третьего пассажа.

Суспензия зараженной культуры клеток	Уровень пассажа вируса	Метод пассирования	Количество зараженных мышат, гол	Результаты биопробы		
				Заболело, гол	Пало, гол	Выжило, гол
ВНК-21	3	пересевами	3	3	3	0
	3	Переносом на новый монослой	4	4	4	0
ТЯ-КК49	3	пересевами	4	4	4	0
	3	Переносом на новый монослой	4	4	4	0
ВНК-21 - контроль	3 - без вируса	пересевами	5	0	0	5
ТЯ-КК49 - контроль	3 - без вируса	пересевами	4	0	0	4

Как видно из данных таблицы 2, все мыши-сосунки, инфицированные интрацеребрально образцами суспензии культур клеток, инфицированных вирусом бешенства, третьего пассажа заболели и пали, в то время как аналогичные лабораторные животные, зараженные пробами суспензий культур клеток, не подвергнутых заражению, остались здоровыми и живыми. Полученные результаты свидетельствуют о том, что вирус бешенства после первичного внесения непрерывно репродуцировался в популяции клеток ВНК-21 и ТЯ-КК49 в течение всех трех пассажей не зависимо от способа его пассирования.

**Заключение** Результаты выполненных исследований дают основание заключить, что лабораторный штамм фиксированного вируса бешенства удастся продуцировать в культуре клеток линии ВНК-21 и пересеваемой диплоидной культуре клеток ТЯ-КК49 путем прямых пересевов с помощью трипсинизации и внесением суспензии, зараженной культуры клеток после замораживания и размораживания в новую партию культуры клеток. При пассировании вируса в культурах клеток ВНК-21 и ТЯ-КК49 путем пересевов, начиная со второго пассажа отмечается снижение пролиферативной активности этих биологических моделей, а при пассажах с использованием новой партии культур клеток – скорость их размножения остается на уровне контрольной культуры клеток.

## Литература

1. Сюрин В.Н. Вирусные болезни животных. М., 1998, С. 300-319.
2. Сюрин В.Н., Белоусова Р.В., Фомина Н.В. Диагностика вирусных болезней животных. М., 1991, С. 255-270.
3. Акматова Э.К. Молекулярная эпизоотология и специфическая профилактика бешенства в КР//Автореферат докт. дисс. - Бишкек, 2013.
4. Руководство по диагностическим тестам и вакцинам для наземных животных. МЭБ. Париж, Том 1., 2012.
5. Санитарный кодекс наземных животных. МЭБ. - М., 2014.

## Сведения об авторах:

Мырзахметова Б.Ш. - кандидат биологических наук, заведующий лабораторией вирусологии ТОО «КазНИВИ»

Кутумбетов Л.Б. - доктор ветеринарных наук, доцент, заведующий отделом эпизоотологического мониторинга и оценки рисков вирусных болезней животных ТОО «КазНИВИ»

Таблица 1 – Концентрация высева и результаты роста культур клеток без и с вирусом бешенства при разных способах пассирования

Метод пассажа	Вид культуры клеток	Статус культуры клеток	Пассажи, №№								
			Первый			Второй			Третий		
			Посевная конц-ция клеток	Срок культ-ия клеток, сут	Общее колич-во выросших клеток	Посевная конц-ция клеток	Срок культ-ия клеток, сут	Общее колич-во выросших клеток	Посевная конц-ция клеток	Срок культ-ия клеток, сут	Общее колич-во выросших клеток
Пересевами	ВНК-21	Без вируса	$2,4 \times 10^7$	8	$1,2 \times 10^8$	$2,4 \times 10^7$	8	$1,3 \times 10^8$	$2,4 \times 10^7$	8	$1,4 \times 10^8$
	ТЯ-КК49	Без вируса	$4,8 \times 10^7$	8	$1,4 \times 10^8$	$4,8 \times 10^7$	8	$1,3 \times 10^8$	$4,8 \times 10^7$	8	$1,3 \times 10^8$
Пересевами	ВНК-21	С вирусом	$2,4 \times 10^7$	8	$1,1 \times 10^8$	$2,4 \times 10^7$	9	$1,0 \times 10^8$	$2,4 \times 10^7$	10	$0,8 \times 10^8$
	ТЯ-КК49	С вирусом	$4,8 \times 10^7$	8	$1,2 \times 10^8$	$4,8 \times 10^7$	9	$0,9 \times 10^8$	$4,8 \times 10^7$	11	$0,7 \times 10^8$
Заражение м новой партии клеток	ВНК-21	С вирусом	$2,4 \times 10^7$	8	$1,1 \times 10^8$	$2,4 \times 10^7$	8	$1,3 \times 10^8$	$2,4 \times 10^7$	8	$1,2 \times 10^8$
	ТЯ-КК49	С вирусом	$4,8 \times 10^7$	8	$1,2 \times 10^8$	$4,8 \times 10^7$	8	$1,2 \times 10^8$	$4,8 \times 10^7$	8	$1,1 \times 10^8$

## Түйін

### ҚҰТЫРЫҚ ВИРУСЫНЫҢ «КАЗНИВИ» ШТАМЫН ЖАСУША ӨСІНДІСІНДЕ ӨСІРУ

Мырзахметова Б.Ш., Кутумбетов Л.Б.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада құтырық вирусының зертханалық штаммын ВНК-21 және ТЯ-КК49 жасуша өсінділерінде үздіксіз себіндеудің түрлі әдістерімен өсіру зерттеулерінің нәтижелері келтірілген. Үздіксіз өсірудің бір әдісінде жасушаларды қайтара себу жолы қолданылса, екінші әдісінде жаңа даярланған жасуша өсіндісін алдыңғы себіндегі вируспен зарарланған жасушалық сұйық қолданылды. Зерттеулердің нәтижесінде қолданылған екі бірдей жасуша өсіндісі де құтырық вирусының зертханалық штаммына сезімтал екендері және сол вирусты аталған биологиялық жүйелерде қолданылған екі әдіспен де үздіксіз себіндей өсіруге болатыны анықталды. Үш дүркін себіндей көбейтілген жасушалық вирус ми қабатына егілген жағдайда тышқандарға зарарлығын сақтап қалады.

*Кілттік сөздер:* құтырық, штамм, жасуша өсіндісі, пассаж, зардаптылық, миды зақымдау

## Summary

### CULTIVATION OF THE STRAIN «KAZSRVI» OF RABIES VIRUS IN CELL CULTURE

Myrzakhmetova B.Sh., Kutumbetov L.B.

LLP “Kazakh scientific-research veterinary institute”

In the article the results of culturing laboratory strain of rabies virus in cultures of BHK-21 cells and TL-CC49 in consecutive passages carried out in different ways. In one case, the passages were carried out by reseeded the infected cell cultures, in other – by making a new batch of intact cell suspension infected cultures of cells from the previous passage. Found that both species used the culture of cells susceptible to the rabies virus and can be passaged in these substrates tested both ways. Cultural virus of the 3rd passage retains its pathogenicity to mice with intracerebral infection.

*Keywords:* rabies, strain, cell culture, passage, pathogenicity, intracerebral infection

## ІРІ ҚАРА МАЛДЫҢ БРУЦЕЛЛЕЗІНІҢ АЛДЫН АЛУ ЖОЛДАРЫН ҚАРАСТЫРУ

Нәутиев Н.И., Мырзалиев А.Ж., Иванов Н.П., Базарбаев М.М.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

**Түйін:** Мақалада қара мал бруцеллезінің балама әдіспен иммунделген кездегі антиденелердің вакциналаудан кейінгі динамикасы туралы мәліметтер берілген.

**Кілттік сөздер:** ірі қара мал бруцеллезі, иммундеу, антиденелер динамикасы

**Кіріспе** Бруцеллез – жануарлар мен адам арасында кеңінен таралған аса қауіпті зоонозды ауру. Ауру қоздырылушысы ашылғанына ғасырдан асатам уақыт өтіп, ару егжей-тегжейлі ғалымдармен зерттелінсе де бруцеллез әлі де болса көптеген елдерде шешлуі табылмаған күрделі мәселенің бірі болып отыр.

Қазақстанда да мал шаруашылығын дамыту мақсатында ішкі нарықты және мал өнімдерін экспортауда экологиялық таза, сапалы өніммен қатамасыз ету жолында нақты бағдарламалар қабылдануда. Осындай өзекті мәселелердің бірі үлкен экономикалық зиян келтіріп, адам денсаулығына, әсіресе ауыл шаруашылығында жұмыс жасайтындарға эпидемиологиялық қауіп туғызатын жануарларды, соның ішінде ірі қара малды бруцеллез ауруынан сауықтыру.

Бұл ауру БӘДСҰ-ның бруцеллездің біріктірілген эксперттер комитетінің дерегі бойынша әлемнің барлық елдерінде кездеседі. Оның ішінде АҚШ, Франция, Канада және де т.б. дамыған елдерде. Орталық Азия және Шығыс Европада бруцеллезбен ауырған адам көрсеткіші ең жоғарғылардың бірі (1). Бұрынғы КСРО құрамына енген жеті республика адам бруцеллезі кең тараған 25 елдің ішіне кіреді.

Қазақстанда да бруцеллезден эпизоотиялық жағдай төмен (2). Бруцеллезбен күресу оған қарсы шараларды жоғары деңгейде ұйымдастыруды талап етеді және оған үлкен материалдық шығындар қажет. Қара малдың бруцеллезімен күресуінің белгілі екі жолы бар. Алғашқысы ауру анықталған мал басын түгелімен жойып, орнын сау малмен толықтыру. Кейінгісі ұдайы балау шараларымен қатар иммундеу жолдарына тиімді пайдалану жолы. Алғашқысы экономикалық жағынан тиімсіз. Кейінгісіне ұзақ уақыт қажет. Кей кезде нәтижесі ойдағыдай болмағанмен балау мен қатар вакциналау жолдарына дұрыс көңіл бөле отырып, жетілдірген жағдайда өз әсерін береді (3).

Сондай нәтижелі бағыттардың бірі бұрыннан белгілі, тимділігі жоғары вакциналарды иммундеудің нәтижелігін арттыру мақсатында ағзаға енгізу жолдарын жетілдіру.

Ірі қара мал бруцеллезінің алдын алу үшін *V.abortus* 19 және *V.abortus* 82 штаммдарынан әзірленген вакциналар ұсынылған.

*V.abortus* 19 штамынан әзірленген вакцинаны зерттеу кезінде (4), аталған вакцина залалсыз, ұзақ уақыт бактериямиялығы жоқ және иммунитет түзуі жақсы екені анықталды. Бірақ үлкен малды осы вакцинамен классикалық әдіспен тері астына иммундеу кезінде жануар ағзасында шоғырланып, антиденелер ұзақ уақыт сақталынады. Бұл өз кезегінде балама дауалауға кедергі жасайды.

Осы құбылысты ескере отырып ғалымдар жаңа алдын алу препараттарын қарастырды. Осы мақсатта аглютогендігі әлсіз *V.abortus* 82 штамынан әзірленген вакцина (5) ұсынылды. Дегенмен аталған вакцинаның тимділігі мен қатар (авторы..) реактогенділігі де жоғары болды. Нәтижесінде буаз малға тері астына енгізгенде аборттар туғызды.

Осыдан 82 штамды 19 штамм вакцинасынан кейнгі иммунды фон кезінде қолданылу ұсынылды. Сонымен қатар әдебиетте вакциналаудан кейнгі төл тастауды болдырмау үшін иммундеуді көз кілегей қабаты арқылы жүргізудің тимділігі туралы айтылған. Бірақ бұл әдістің қолданылу тәжірибесі болмады.

Сондықтан біз осы бағытта иммундеу әдісін жетілдіру мақсатында жұмыс жүгізіп жатырмыз. Алғаш рет ірі қара малдағы иммундеуден кейнгі антиденелер динамикасы салыстырмалы түрде (тері астына енгізу және конъюнктиваға тамызу) анықталады. Буаз малдағы реактогенділік, аталған екі түрлі әдіспен ірі қара малды бір рет вакциналаудан кейнгі иммунитеті зерттелінеді.

**Зерттеу материалдары** Өндеуден кейнгі қан сарысулар бруцеллезге классикалық серологиялық реакциялар: АР, КБР және РБС- пен тексерілді. АР және КБР-ге арналған ортақ бруцеллез антигені. Өндіруші ЖШС «Дауа», 04/2014 жыл, 1 серия, 1 қадағалау. Розбенгал сынамасына арналған антиген. Өндіруші ЖШС ҒЖӨ «Антиген», 04/2014 жыл, 1 серия, 1 қадағалау. Құрғақ комплимент. Өндіруші ЖАҚ «Биолек», Украина, 02/2014 жыл, 503094 серия, 13 қадағалау. РС гемолитикалық қан сарысуы. Өндіруші ЖШС ҒЖӨ «Антиген», 09/2014 жыл, 04 серия. Реакция нәтижесін қадағалау үшін серологиялық реакцияларға арналған (АР, КБР, РБС) позитивті бруцеллезді қан сарысуы қолданылды. Өндіруші ЖШС ҒЖӨ «Антиген», 07/2013 жыл, 06 серия, 06 қадағалау. *V.abortus* 82 штамынан әзірленген вакцина. Өндіруші ЖШС «Қазақ ҒЗВИ», 07/2015 жыл, 1 серия, 1 қадағалау.

**Зерттеу нәтижелері** Қарағанды облысы, Бұхар жырау ауданында орналасқан «Құрлыс» жеке шаруа қожалығында 5-8 айлық бұзауларға *V.abortus* 82 штамынан әзірленген вакцинаны классикалық жолмен тері астына және экспериментальді жолмен конъюнктиваға тамызу арқылы иммундеуден кейнгі антиденелер динамикасын салыстырмалы зерттеу мақсатында тәжірибе басталды. Барлық бұзаулардан қан алынып, өңделген

соң ЖШС «Қазақ ҒЗВИ» Қарағанды филиалының серология бөлімінде, алдын ала бруцеллезге тексерілді. Алынған нәтиже тәжірибеге алынған бұзаулар бруцеллезден сау екенін анықтаған соң, оларды әр қайсысында 15 бас болатын, екі тәжірибелік, бір қадағалау тобына бөлдік. Алғашқы топқа *V. abortus* 82 штаммы вакцинасы мойын аумағының тері астына (классикалық әдіс), нұсқауға сәйкес, 100 млрд көлемінде егілді. Тәжірибедегі екінші топқа аталған вакцина осы мөлшерде конъюнктивіге тамызу арқылы (экспериментальды әдіс) енгізілді. Қадағалау тобы иммунделінбеді.

Вакциналаудан кейінгі антиденелер динамикасы әр 15 тәуліктен соң барлық мал басынан қан алынып, классикалық реакцияларында тексерілді. Алғашқы нәтижелер кестеде көрсетілген.

Кесте 1- Вакциналаудан кейінгі антиденелер динамикасы

Тәжірибедегі мал басы	Тексеру мерзімі					
	15 тәулік			30 тәулік		
	РБС	АР	КБР	РБС	АР	КБС
1 топ. Классикалық әдіс	9 бас	7 бас	3 бас	7 бас	1 бас	6 бас
2 топ. Экспериментальді әдіс	5	3	0	4	4	3
3 топ. Бақылау тобы	-	-	-	-	-	-

Келтірілген кестедегі мәліметтерден көріп отырғанымыздай, тәжірибенің аралық кезеңінде, 15 тәуліктен соң РБС реакциясында 9 бас бұзау, АР реакциясында 7 бас бұзау, КБР- да 3 бас бұзау оң нәтиже көрсетсе, 30 тәуліктен соң, сәйкесінше 7, 1, 6 бас бұзауда иммундық жауап болды. Ал, экспериментальді әдіспен конъюнктивіге тамызу арқылы вакциналанған бұзаулар 15 тәуліктен соң РБС реакциясында 5 бас бұзау, АР реакциясында 3 бас бұзау оң нәтиже көрсетсе, 30 тәуліктен соң РБС мен АР-да 4 бас малдың, КБР-да 3 бас малың қан сарысуы оң нәтиже көрсетті. Бақылау тобындағы барлық мал басының қан сарысуы сынамалары аталған реакцияларда теріс нәтиже көрсетті(тәжірибе жалғасуда).

**Қорытынды.** Алынған нәтижелерді саралағанда, классикалық жолмен вакцина егілген бұзауларға қарағанда конъюнктивіге тамызу арқылы иммунделген бұзаулардың ағзасында түзілетін өзіне тәнді бруцеллездік антидене титры төмен деңгейде болатындығы және оның ерте жоғалатыны анықталынды.

## Әдебиеттер

1. Pappas, G., Papadimitriou, P., Akritidis, N., Christou, L. & Tsianos, E.V. 2006. The new global map of human brucellosis. *Lancet Infectious Diseases*, 6(2): 91–99.

2. Информационное обеспечение эпидемиологического надзора за бруцеллезом с использованием ГИС-технологии. А.Н. Кузнецов, М.С. Сыздыков, А.К. Дуйсенова, Г.Н. Абуова, Ф.А. Бердалиева, С.Ф. Даулбаева, В.П.

3. Региональное совещание по борьбе с бруцеллезом в центральной Азии и восточной Европе. 09-11 апреля 2013 год. Международный сельскохозяйственный научно-исследовательский и учебно-методический центр. Измир. Турция.

4. Иванов М.М. и др. Изучение биологических свойств шт.19 в сравнении с другими бруцеллезными штаммами. Тр. ГНКИ.-1957. Вып 7.

5. Салмаков К.М. Изыскание и испытание новых вакцинных штаммов бруцелл.: Автореф. Дисс. док. 136 ест. Наук.—Казань, 1977.

### **Иегерлер туралы мағлұмат:**

Наутиев Н.И.-ветеринария ғылымдарының кандидаты, «Қазақ ҒЗВИ» ЖШС жаңа биопрепараттарды ойластыру және өндіріске ендіру бөлімінің аға ғылыми қызыметкері

Мырзалиев А.Ж.- ветеринария ғылымдарының кандидаты, «Қазақ ҒЗВИ» ЖШС бруцеллез зертханасының меңгерушісі

Иванов Н.П.-ветеринария ғылымдарының докторы, профессор, ҚР ҰҒА академигі «Қазақ ҒЗВИ» ЖШС індеттік және ветеринариялық-санитариялық қолайлылықты ғылыми-әдістемелік қамтамасыз ету бөлімінің бас ғылыми қызметкері

Базарбаев М.М.- ветеринария ғылымдарының докторы, «Қазақ ҒЗВИ» ЖШС жаңа биопрепараттарды ойластыру және өндіріске ендіру бөлімінің бас ғылыми қызыметкері

### **Резюме**

#### **УСОВЕРШЕНСТВИЕ МЕТОДОВ ИММУНИЗАЦИИ БРУЦЕЛЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

Наутиев Н.И., Мырзалиев А.Ж., Иванов Н.П., Базарбаев М.М.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

В статье приведены данные о альтернативных методах вакцинации при специфичном профилактике крупного рогатого скота.

*Ключевые слова:* бруцеллез крупного рогатого скота, иммунизация, динамика поствакцинальных антител.



## Summary

### IMPROVED METHODS OF IMMUNIZATION OF CATTLE BRUCELLOSIS

Nautiev N.Y., Myrzaliev A.J., Ivanov N.P., Basarbaev M.M.

LLP «Kazakh Scientific research Veterinary Institute»

The article presents data on alternative methods of vaccination with specificity the prevention of cattle.

*Keywords:* brucellosis of cattle, immunization, dynamics of post-vaccination antibody

УДК:619:616.988:636.1

### ДИАГНОСТИКА САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ТЕЛЯТ

Нугуманов А. А., Утегенова М. Е.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме** В статье приводятся результаты исследования патологического материала от теленка двухмесячного возраста. От теленка выделена и идентифицирована культура *Salmonella dublin* – возбудитель сальмонеллеза телят.

*Ключевые слова:* сальмонеллез, телята, диагностика, *Salmonella dublin*, белые мыши

**Введение** Инфекционные болезни наносят огромный экономический ущерб сельскому хозяйству республики. Бактериальные инфекции молодняка сельскохозяйственных животных остаются главной проблемой в скотоводстве, знание таксономической характеристики, изучение биологических свойств эпизоотических штаммов микроорганизмов, выделенных от животных и циркулирующих в настоящее время в эпизоотических очагах инфекций, исключительно важно. На этой основе предоставляется возможность правильно и объективно строить научно-обоснованную схему ветеринарных мероприятий. Сальмонеллезы (*Salmonellosis*) - группа бактериальных болезней, преимущественно молодняка сельскохозяйственных и промысловых животных, характеризующихся при остром течении лихорадкой, явлениями септицемии, токсикоза и поражением кишечника, а при хроническом - воспалением легких и артритами [1,2]. У взрослых животных (коров, кобыл, овец)

болезнь проявляется абортами, у людей - в виде пищевых токсикоинфекций. Сальмонеллез вызывается паратифозными бактериями, относящимися к роду *Salmonella*. В настоящее время насчитывают свыше 2000 родственных разновидностей сальмонелл. Возбудителями сальмонеллеза телят являются *Salmonella dublin*, реже *Salmonella typhimurium*. Сальмонеллез телят – наиболее распространенная болезнь молодняка, наносящая значительный экономический ущерб животноводству. Сальмонеллез телят широко распространен во всех регионах, независимо от климатической зоны. Сальмонеллез телят регистрируется во всех областях Казахстана [3,4]. Телята заболевают сальмонеллезом в возрасте от 10 дней до 2-х месяцев. Сальмонеллез телят является основной причиной гибели молодняка. Переболевшие животные длительное время остаются сальмонеллоносителями, выделяют возбудителя во внешнюю среду и являются источником заражения других животных, человека, окружающей среды. Основные источники сальмонелл – больные животные, а также реконвалесценты и клинически здоровые носители [5,6]. Возбудители сальмонеллеза телят представляют большую опасность для человека. При употреблении мяса больных животных и контаминированных молочных продуктов возникают токсикоинфекции. Очень важным источником массового инфицирования телят может быть молоко или обрат, постоявшие в летнее время несколько часов. За это время сальмонеллы, попадая в молоко с фекалиями, интенсивно размножаются и при выпойке могут вызывать массовую болезнь среди телят, даже у привитых против сальмонеллеза животных. Сальмонеллез является причиной потери молодняка в послеотъемный период. Болезнь у телят проявляется в виде хронической бронхопневмонии и артритов [7].

**Материал и методы исследований** При выполнении работы использовались бактериологические, серологические, биохимические методы исследований. Культурально- морфологические свойства сальмонелл изучают путем посева на МПБ, МПА, дифференциально-диагностические среды. Проводят микроскопию мазков, приготовленных из суточных агаровых культур, окрашенных по Граму и простым способом. Биохимические свойства изучают при посеве выделенных культур на среды Гисса с углеводами. Подвижность определяют по росту на полужидком агаре [7]. Для выявления протеолитической способности испытываемые штаммы засевают на МПЖ [8]. Посев проводят уколом в застывший столбик МПЖ. После инкубирования при 37 °С в термостате для учета реакции пробирки охлаждают до 20 °С. В пробирках, где под действием ферментов сальмонелл происходит протеолиз желатина, среда разжижается. Для определения сероводорода используют полоску фильтровальной бумаги, смоченную раствором уксуснокислого свинца, индола – смоченную насыщенным раствором щавелевой кислоты. Культуры засевают в 2% пептонную воду, пропитанные реактивами полоски фильтровальной бумаги помещают в пробирку, удерживая ватной пробкой. Через 1-3 дня при наличии сероводорода нижняя часть бумажки окрашивается в черный цвет, а при

наличии индола - в розовый. Для определения каталазы на поверхность суточной агаровой культуры наносят 1%-ный раствор перекиси водорода. При наличии каталазы отмечается выделение пузырьков отщепленного кислорода. Антигенную структуру тестируемых штаммов сальмонелл изучают путем агглютинации на стекле с поливалентной и монорецепторными О- и Н- сыворотками производства Краснодарской биофабрики и Санкт-Петербургского научно-исследовательского института вакцин и сывороток и предприятия по производству бактериальных препаратов [9]. Таксономическое распределение культур осуществляют согласно определителю бактерий Bergey's [10].

**Результаты и обсуждение** 24 февраля 2015 года из частного фермерского хозяйства Талгарского района Алматинской области для исследования был доставлен патологический материал от теленка 2 – месячного возраста (инв. №57759947). У теленка отмечались клинические признаки бронхопневмонии и артритов. Для исследования были получены свежие кусочки легкого, печени с желчным пузырем, селезенки, почки, брыжеечных лимфатических узлов.

Из печени, селезенки, брыжеечных лимфатических узлов, желчного пузыря, почки, легкого посева делали на МПБ, МПА, на дифференциально-диагностические среды Эндо и Клиглера, висмут-сульфитный агар. Через 20 часов на питательных средах отмечался рост мелких грамтрицательных палочек с закругленными концами. На МПБ отмечалось равномерное помутнение и небольшой осадок. В мазках, приготовленных из суточных агаровых культур и окрашенных по Граму, наблюдались мелкие прямые грамтрицательные палочки с закругленными концами располагались одиночно. На плотных средах формировались слабовыпуклые, полупрозрачные голубоватые колонии с ровными краями и блестящей поверхностью в S-форме. На чашках Петри со средой Эндо наблюдались гладкие колонии бледно-розового цвета, на висмут сульфитном агаре – черные колонии с металлическим блеском, на среде Клиглера - ярко-желтые круглые колонии. На МПА росли мелкие круглые полупрозрачные колонии голубоватого цвета с ровными краями в S-форме. Наиболее обильный рост сальмонелл отмечался в посевах из печени, желчного пузыря, селезенки, брыжеечного лимфатического узла. Из желчи теленка высевалась однородная культура сальмонелл, не контаминированная посторонней микрофлорой. Умеренный рост сальмонелл наблюдался в посевах из почки, сердца, легкого.

Культуру, полученную от теленка, высевали на среды Гисса с углеводами для изучения ферментативной активности. Результаты изучения биохимических свойств сальмонелл представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Биохимические характеристики бактерий *Salmonella dublin*

Наименование тестов	<i>Salmonella dublin</i> , выделенная из желчного пузыря теленка
---------------------	--

1	2
Каталаза	+
Оксидаза	-
Симмонса цитрат	-
Мочевина	-
Малонат	-
Подвижность	+
Сероводород	+
Индол	-
Желатин	-
Р-ция с метил-рот	+
Р-ция Фогес-Проскауера	-
Ферментация глюкозы К,Г	К.Г
Лактоза	-
Сахароза	-
Маннит	+
Дульцит	-
Арабиноза	+
Инозит	-
Мальтоза	+
Сорбит	+
Ксилоза	+
Раффиноза	+
D-Галактоза	+
Редукция нитратов в нитриты	+
Примечания + положительный результат через 24 часа; [+] положительный результат через 48 часов; – отрицательный результат; К– кислота; Г– газ	

Данные изучения ферментативных свойств эпизоотического штамма *Salmonella Dublin* (таблица 1), показывают, что биохимические свойства соответствует характеристикам рода *Salmonella*. *S. dublin* обладала типичными для рода *Salmonella* биохимическими свойствами: образовывала сероводород, не образовывала индола, не ферментировала лактозу, сахарозу. С образованием кислоты и газа ферментировала углеводы (глюкозу, мальтозу, маннит, раффинозу и т. д.). При посеве уколом на ПЖА наблюдалась характерная подвижность сальмонелл (подвижные палочки). *S. dublin* агглютинировалась поливалентной А, В, С, Д, Е и монорецепторными сальмонеллезными сыворотками О-I, IX, VII; Н-с (g, p) (первая фаза). Вторая фаза Н- антигена у *S. dublin* отсутствует. По классификации Кауфмана Уайта на основе антигенной структуры эпизоотическая культура отнесена к серологической группе D. Мазок из

суточной культуры *Salmonella dublin*, окрашенный по Граму, представлен на рисунке 1.

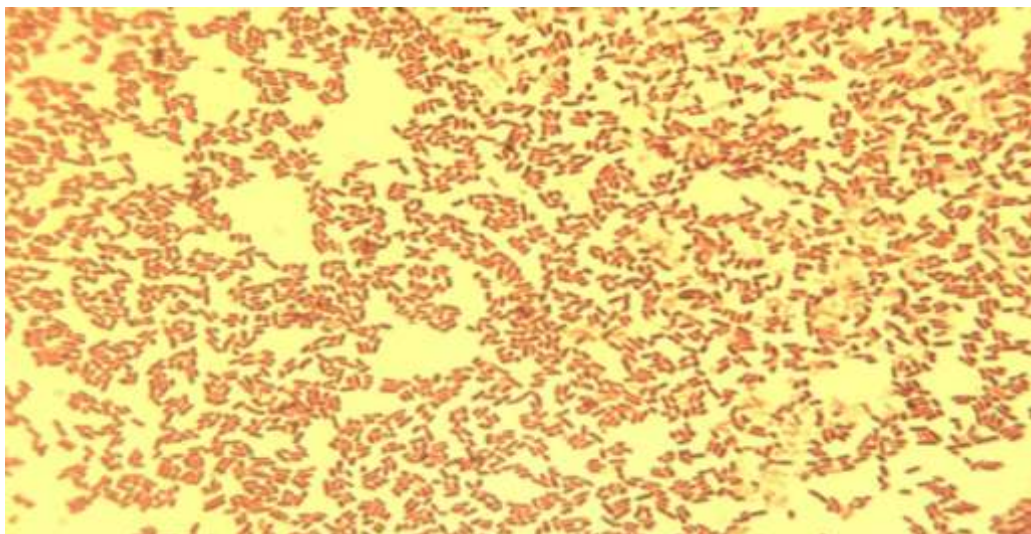


Рисунок 1- Суточная культура *Salmonella dublin*

На рисунке 1 видны характерные мелкие грамтрицательные палочки с закругленными концами. Палочки располагаются одиночно или попарно, реже группами.

Патогенные свойства *S. dublin* проверяли в опыте на белых мышах. Трем белым мышам массой 16-18 г подкожно вводили 0,2 см<sup>3</sup> суточной бульонной культуры. На 2-3 сутки отмечалась гибель всех заражённых мышей. Из внутренних органов павших белых мышей делали высевы на МПБ, МПА. Через 20 часов из печени и сердца мышей обильно высевалась заражающая культура *S. dublin*. Результаты биопробы на белых мышах свидетельствуют о высокой патогенности эпизоотического штамма *S. dublin*, полученного из патматериала 2-х месячного теленка.

**Заключение** На основании результатов бактериологических, биохимических, серологических (антигенной структуры) исследований, а также постановки биопробы на лабораторных животных идентифицирована культура, выделенная о 2-х месячного теленка. Установлена причина падежа теленка - сальмонеллез, протекавший с симптомами хронической бронхопневмонии и артритов, вызванный *Salmonella dublin*.

### Литература

1. Кадымов Р.А. и др. Ветеринарная микробиология. - М.: Колос, 1982. - 301 с.
2. Осидзе Д. Ф. Инфекционные болезни животных. - М.: Агропромиздат, 1987. - С.198 - 199.
3. Петров В. М. и др. Рекомендации по профилактике и лечению колибактериоза телят. – А.: Кайнар, 1975. - С. 5 - 7.

4. Бияшев К.Б. и др. Сальмонеллезы животных и меры борьбы // Рекомендации. –А., 1991. – 42 с.
5. Алескеров З.А. Токсигенные свойства сальмонелл // Ветеринария. – А., 2005. - №8.- С. 31 - 37.
6. Салимов В.А. Патологоанатомическая и дифференциальная диагностика эшерихиозов, сальмонеллезов, пастереллезов, анаэробных энтеротоксемий, кандидамикоза, их ассоциаций и осложнений у молодняка сельскохозяйственных животных. - М.: Колос. 2001. - 75 с.
7. Sapan J. Rise factors for clinical Salmonella typhimurium infections on dairy farms/Veter. med. Assn 2007. -Vol. 60. - №9. - P. 645 - 646.
8. Костенко Т. С и др Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии. - М.: Колос, 1986. - 272с.
9. Антонов Б. И. Лабораторные исследования в ветеринарии. - М.: Агропромиздат, 1986. - С.175 - 177.
10. 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.

#### **Сведения об авторах:**

Нугуманов А. А. – магистрант отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Утегенова М. Е. – младший научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

#### **Түйін**

#### **БҰЗАУ САЛЬМОНЕЛЛЕЗІН ДИАГНОСТИКАЛАУ**

Нұғуманов А. А., Өтегенова М. Е.

«Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада 2 айлық бұзаудан патматериал алынып, зерттеу қорытындысы бойынша малдардан *Salmonella dublin* қоздырғышының өсіндісі бөліліп, бұзау қоздырғышы анықталды.

*Кілттік сөздер:* сальмонеллез, бұзау, диагностика, *Salmonella dublin*, ақ тышқандар

#### **Summary**

#### **THE DIAGNOSTIC SALMONELLOSIS OF CALVES**

Nugumanov A. A., Utegenova M. E.

LLP «Kazakh Scientific research veterinary institute»

The article presents the results of a study of pathological material from 2-month-old calf. Isolated from the animal culture *Salmonella dublin*- the exciter salmonellosis of calves.

*Keywords:* salmonellosis, calfs, diagnostic, *Salmonella dublin*, white mouses

УДК 637.1.5.07:577.213.3

## **ДИЗАЙН ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ПЦР ИДЕНТИФИКАЦИИ ДНК ЛОШАДИ (*EQUUS CABALLUS*)**

**Сарбаканова Ш.Т., Аубекерова Л.С., Минаев М.Ю., Касымова К.Т.**

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»,  
ГНУ ВНИИМП им. В.М.Горбатова

**Резюме** В статье приведены результаты по анализу международных баз данных и определению специфических нуклеотидных последовательностей для идентификации ДНК лошади (*Equus caballus*).

*Ключевые слова:* нуклеотидные последовательности, ген цитохрома В, праймеры, ДНК, конина, мясные продукты

**Введение** Видовая идентификация исходного животного, использованного в качестве мясного сырья, в мясе и в переработанных мясных продуктах является очень важной информацией для потребителей. В 2013 году в скандал по использованию для фастфуда конины вместо говядины оказались замешаны крупнейшие компании пищевого рынка Европы [1]. По мнению экспертов, проблема заключается не в содержании конины, которая сама по себе – диетическое мясо, с низким содержанием холестерина, а в маркировке. Производитель обязан полностью указывать состав продукта, иначе возникают вопросы к качеству. В настоящее время Еврокомиссия занимается разработкой дополнительных правил маркировки мясных изделий.

Наибольшее беспокойство у ветеринарных специалистов вызывают возможные подмены или фальсификация в продуктах мясом животных, пораженных прионами или вирусами, создающими большой риск в эпизоотическом и эпидемическом отношениях (губкообразные энцефалопатии, африканская чума свиней, ящур и другие). Поэтому идентификация видовой принадлежности мясных продуктов важна для

предоставления четких доказательств безопасности пищевой продукции и соблюдения законов маркировки.

В настоящее время основным методом для определения видовой принадлежности тканей животного происхождения в составе кормов и мясных продуктов, в том числе подвергшихся термической обработке, являются методы ДНК-диагностики и, в особенности, метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) [2]. По сравнению с традиционными способами видовой детекции, установление видовой принадлежности мяса при помощи ПЦР отличается универсальностью, более глубоким уровнем видовой дифференциации, высокой воспроизводимостью и возможностью количественного анализа [3,4,5].

Целью работы было конструирование специфических праймеров к гену цитохрома В митохондриальной ДНК (далее мтДНК) лошади (*Equus caballus*) с целью идентификации фальсификации мясного сырья, полуфабрикатов и переработанных готовых мясных изделий методом ПЦР в режиме реального времени.

**Материалы и методы** Детальный анализ митохондриальной и ядерной ДНК изучаемых биологических объектов и поиск нуклеотидных последовательностей проводили по генетической базе Национального центра биотехнологической информации (США) [6]. Анализ выбранных нуклеотидных последовательностей на варибельность и поиск консервативных участков, необходимых для выбора праймеров проводили с помощью компьютерных программ CLC Sequence Viewer и Primer Express 3 (Applied Biosystems). Специфичность выбранных праймеров теоретически изучали с помощью интерактивной системы BLAST on-line.

**Результаты и обсуждение** Проведено изучение источников литературы и анализ Международных геномных баз данных: EMBL, GenBank, Entrez и PubMed. На основе данных научно-технической литературы в качестве ДНК-сиквенса для дизайна праймеров была выбрана мтДНК лошади. Митохондриальная хромосома была выбрана в качестве перспективной матрицы для проведения синтеза олигонуклеотидных праймеров. Она представлена кольцевой двухцепочечной молекулой ДНК, которая присутствует в органелле в виде ковалентной замкнутой суперспирализованной формы, ассоциированной с внутренней мембраной митохондрии. Каждая органелла содержит ДНК, что составляет 1000-8000 копий на клетку, превышая тем самым количество копий яДНК в несколько раз. Это служит основным критерием при выборе мтДНК в качестве ДНК-мишени, т.к. она присутствует в исследуемом материале в большем количестве. Вторым критерием является выраженная изменчивость мтДНК, скорость эволюции которой превышает таковую для яДНК в 10-20 раз, и обеспечивает тем самым внутри- и межвидовой генетический полиморфизм.

При помощи международной генетической базы данных 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/>), был проведен



детальный анализ изучаемых биологических объектов по мтДНК и поиск их нуклеотидных последовательностей. Проведен детальный анализ нуклеотидных последовательностей митохондриальной ДНК лошади, в результате которого была выбрана перспективная матрица в виде гена цитохрома В для дизайна олигонуклеотидных праймеров и зондов, видоспецифичных к ДНК лошади. Для того, чтобы найти нужные нам последовательности генома животного, в окне Nucleotide вводят нужное название гена животного - «Equus caballus cyt**b**», нажимают «search» (рисунок 1).



Рисунок 1 – Поиск сиквенсов гена цитохрома В лошади «Equus caballus cyt**b**».

На рисунке 1 показан интерфейс окна для входа в программу. Далее на экран в окне выводятся результаты поиска (рисунок 2).



Рисунок 2 – Подбор вариантов нуклеотидных последовательностей сиквенированного гена «Equus caballus cyt**b**».

На рисунке 2 представлены варианты нуклеотидных последовательностей «Equus caballus cyt**b**». Далее выбирают нуклеотидную последовательность около 1000 пар нуклеотидов, «mitochondrial, cyt**b**», «equus caballus», и открывают подходящую ссылку.



Рисунок 3 – Характеристика сиквенса гена «Equus caballus cytb».

Из рисунка 3 видно, что на экран в окне выводятся сведения об интересующем нас гене «Equus caballus cytb»: молекулярный код, количество пар нуклеотидов, вид гена, его полное название, ресурс, организм, авторов и полную последовательность гена.

Далее эти сиквенсы выписывают для проведения выравнивания с другими сиквенированными последовательностями и помещают в программу BLAST. Программа выдает все похожие результаты в базе данных, среди которых возможны несовпадения. Из приведенных результатов поиска выбирают несколько сиквенсов гена цитохрома В лошади с самой большой расходимостью в нуклеотидной последовательности, в геноме лошади это составило 97 %, то есть 3 процента несоответствия обнаружено в разных отсекуеннированных вариантах гена цитохрома В лошади.

Был проведен анализ специфических нуклеотидных последовательностей для дифференциальной амплификации ДНК лошади. Для подбора праймеров вводят отобранные последовательности в программу «CLC Sequence Viewer». Программа подобрала 7 вариантов праймеров, из которых в программе «Oligo Analyzer», согласно нужным характеристикам, отбирается один прямой (форвард) праймер. Далее форвард праймер отобранный с помощью программы «Oligo Analyzer» вставляется обратно в «CLC Sequence Viewer». И в этой программе путем, указанным выше, начинается подбор обратного (реверс) праймера к форварду. Реверс праймер должен отвечать тем же требованиям, что и форвард праймер, также он должен быть расположен не ближе чем 40 нуклеотидов к форварду и должен лежать не дальше чем 100 нуклеотидов от форвард праймера.

В результате анализа из приведенных программой вариантов были предварительно выбраны праймеры, отвечающие всем вышеуказанным требованиям и наиболее оптимальные для целей идентификации видовой принадлежности мяса и мясных ингредиентов в составе пищевых продуктов. Для лошади выбранный праймер состоял из следующих нуклеотидных последовательностей:

*Прямой праймер*

5`- GACTCCTCCTCCTGATCTTGCT -3`;

*Обратный праймер*

5`- GTAGGATGGCGTAGGCAAACAG -3`;

Теоретически специфичность дизайна праймеров была проверена в режиме on-line при помощи компьютерной программы BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Таким образом, в результате исследований определены специфические нуклеотидные последовательности исследуемой ДНК лошади, выбрана перспективная матрица в виде гена цитохрома В и проведен дизайн видоспецифичных олигонуклеотидных праймеров для ПЦР идентификации ДНК лошади (*Equus caballus*).

### Литература

1. Brown C. Findus beef lasagna contained up to TO 100% horsemeat, fsa says // BBC News. 2013.
2. Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn. G., and Erlich, H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction // K. Mullis, F. Faloona, S. Scharf, R. Saiki, G. Horn, and H. // Erlich Cold Spring Harbor Symp Quant Biol, 1986. 51:263-273.
3. Matsunaga I., Chikuni K., Tanabe R. et al. A quick and simple method for the identification of meat species and meat products by PCR assay // Meat Science. - 1999. - V.51. - P. 143-148.
4. Lopez-Andreo M., Lugo L., Garrido-Pertierra A. et al. Identification and quantitation of species in complex DNA mixtures by real-time polymerase chain reaction // Analytical Biochemistry. - 2005. - V. 339. - P. 73-82.
5. Kesmena Z., Sahinb F., Yetima H. PCR assay for the identification of animal species in cooked sausages // Meat Science. - 2007. - V 77 (4). - P. 649-653.
6. 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). - С. 6.

### 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.Горбатова.

Касымова К.Т. - магистр ветеринарных наук, научный сотрудник отдела по разработке методов исследования и контроля продукции и сырья животного происхождения ТОО «КазНИВИ»

### **Түйін**

## **ЖЫЛҚЫ (EQUUS CABALLUS) ДНҚ-ЫН ИДЕНТИФИКАЦИЯЛАУ ҮШІН ПРАЙМЕРЛЕРДІҢ НАҚТЫ НУКЛЕОТИДТІ ҚАТАРЫНАН АНЫҚТАУ**

Сарбаканова Ш.Т., Аубеерова Л.С., Минаев М.Ю., Касымова К.Т.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада халықаралық деректер базасын талдау нәтижелері және жылқы (*Equus caballus*) ДНҚ-ын анықтау үшін арналған праймерлердің нақты нуклеотидті реттілігін анықтау нәтижелері ұсынылған.

*Кілттік сөздер:* нуклеотидті тізбегі, цитохром В гені, праймерлер, ДНҚ, жылқы еті, ет өнімдері

### **Summary**

## **DETECTION OF SPECIFIC NUCLEOTIDE SEQUENCES OF PRIMERS FOR HORSE (EQUUS CABALLUS) DNA IDENTIFICATION**

Sarbakanova Sh. T., Aubekerova L. S., Minaev M. Y., Kasymova K. T.

LLP «Kazakh scientific-research veterinary institute»

The article presents the results of the analysis of international databases and detection of specific nucleotide sequences for identification of horse (*Equus caballus*) DNA.

*Keywords:* nucleotide sequences, cytochrome B gene, primers, DNA, horse meat, meat products

УДК 636.085.32

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДИОКСИНОВ В ПРОДУКТАХ ЖИВОТНОВОДСТВА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА**

Сарбаканова Ш.Т., Латыпова З.А., Аубекерова Л.С., Кенжебаева М. Ж., Касымова К.Т., Муналбаева А.А.

## ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме** В статье представлены результаты по определению диоксинов в животноводческой продукции (мясо, молоко, масло) с использованием биотеста на основе биолюминесцентных бактерий *Photobacterium phosphoreum* В-0273, разработанного в лаборатории пищевой безопасности ТОО «КазНИВИ».

**Ключевые слова:** люминесценция, диоксины, *Photobacterium phosphoreum*, продукты животноводства

**Введение** Диоксины относятся к суперэкоксикантам, имеющим исключительно высокую токсичность. Они возникают при сжигании промышленных, медицинских или бытовых отходов, содержащих соединения хлора. Помимо этого, диоксины имеются в выхлопных газах, табачном дыме, выбросах промышленных предприятий, образуются при пожарах, сопутствуют выплавке и рафинированию металлов. Диоксины, вместе с другими продуктами неполного сгорания, загрязняют атмосферу, с пылью осаждаются на почву и лиственный покров, затем дождём смываются в поверхностные водоёмы.

Основным представителем является ТХДД (2,3,7,8-тетрахлордибензо-*p*-диоксин) – наиболее опасный яд для человека. Он отличается высокой стабильностью, не поддается гидролизу и окислению, устойчив к высоким температурам (разлагается при 750°C), действию кислот, щелочей, не воспламеняем, обладает высокой растворимостью в жирах. Период полураспада диоксинов составляет 10 лет. В отличие от других ксенобиотиков при снижении концентрации, действующего на организм вещества, они не становятся безвредными.

Диоксины обладают высокой эффективностью накопления в почвах, водоемах, активно мигрируют по пищевым цепям, особенно в жиросодержащих объектах. В организм человека они в основном поступают с мясными, рыбными и молочными продуктами (98-99% от общего количества). ТХДД относится к 1 классу токсичности. Расчетная среднесмертельная доза для человека, при однократном оральном поступлении составляет 0,05-0,07 мг/кг, при хроническом оральном поступлении – 0,1 мкг/кг. Эти ксенобиотики проявляют целую гамму токсических эффектов, реализующихся по разнообразным механизмам. Они вызывают целый ряд серьезных заболеваний, среди которых образование злокачественных опухолей, психические расстройства, нарушение обучаемости, снижение иммунитета, сокращение содержания мужского гормона, диабет, импотенция, эндометрит [1,2,3,4,5].

Загрязнение окружающей среды неотвратимо ведёт к контаминации кормов и биоаккумуляции токсинов в пищевых цепях. Загрязнение пастбищ и травы приводит в негодность мясо и молоко. Способность диоксинов накапливаться в коровьем молоке в 40-200 раз выше, чем в тканях животных.

Безопасность баранины, говядины, свинины, мяса птицы и яиц зависит от содержания токсинов в кормах, обусловлена состоянием грунта на площадках выпаса, наличием свалок, промышленных предприятий или мусоросжигательного комбината в окрестностях (<http://piginfo.ru/>).

**Материалы и методы** В работе использовались микробиологические методы культивирования бактерий [6], биохимические методы выделения и многоступенчатой экстракции, центрифугирования, хроматографические методы разделения компонентов смеси, сорбция на абсорбентах [7]. Отбор проб проводили соответственно ГОСТ Р 51447-99, ГОСТ 27262-87. В исследованиях применялось сертифицированное и поверенное службой Метрологического контроля оборудование. Измерение билюминесценции проводили на люминесцентном спектрометре Perkin Elmer LS55 (США).

**Результаты и обсуждение** Определение диоксинов в объектах окружающей среды и в биологических объектах - одна из труднейших аналитических задач. В первую очередь это связано с тем, что токсикологические свойства диоксинов требуют, чтобы пределы их обнаружения в различных матрицах были существенно ниже тех, что характерны для многих задач органического анализа.

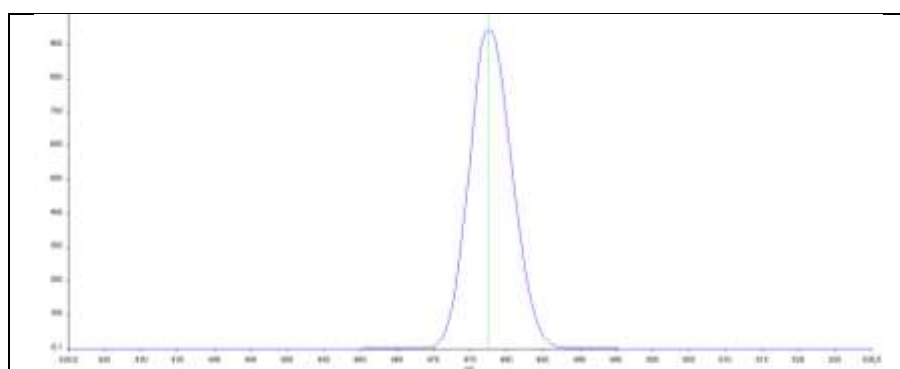
Основным аналитическим методом определения диоксинов и родственных соединений является хромато-масс-спектрометрия с использованием изотопно-меченного внутреннего стандарта-диоксина. В настоящее время лишь ограниченное число аналитических лабораторий развитых стран могут проводить такие дорогостоящие анализы на диоксины.

В продуктах питания, завозимых в Казахстан, не определяются такие опасные вещества как диоксины, новые пестициды и многие микотоксины, тогда как 80% вредных экологических факторов попадает в организм с пищей и водой. Центральный и Восточный регионы нашей страны страдают от диоксинов, которые «производит» химическая, металлургическая и целлюлозно-бумажная промышленности.

В лаборатории пищевой безопасности Казахского научно-исследовательского ветеринарного института в рамках бюджетной программы в 2012-2014 гг был разработан биотест на основе билюминесцентных бактерий для первичного контроля безопасности продуктов животноводства и кормов. Впервые для определения диоксинов использовались светящиеся бактерии *Photobacterium phosphoreum*. Были отобраны: оптимальная среда для культивирования люминесцентных бактерий; температура, рН среды и время инкубации для проведения анализа диоксинов, построена калибровочная кривая со стандартным образцом диоксина. Разработанный биотест был использован при определении диоксинов в пробах мяса, молока и коровьего масла. Для выполнения поставленной задачи был произведен отбор по пять образцов мяса, молока и масла в магазинах и на рынках города Алматы. Процесс подготовки проб включал в себя измельчение с последующей экстракцией проб органическими растворителями (гексан/ацетон) и дальнейшей очисткой на сорбентах, в результате чего были выделены диоксинсодержащие фракции.

Далее полученные пробы были исследованы на наличие диоксинов разработанным биотестом, который включает подготовку культуры люминесцентной бактерии, приготовление образцов, измерение люминесценции с тестируемым образцом и расчет индекса токсичности.

В качестве биотеста использовали культуру люминесцентных бактерий *Photobacterium phosphoreum* штамма В-0273. Для проведения анализа в пробирку с суточной культурой люминесцентных бактерий (концентрация бактерий доводится до 3-4 млрд клеток в см<sup>3</sup> по эталонному бактериальному стандарту мутности) добавляли 1 мл 3%-ного раствора хлорида натрия, с последующим растворением в нем люминесцентных бактерий, полученный концентрат переносили в отдельную пробирку и оставляли на 30 минут при комнатной температуре для стабилизации свечения. Затем в кювету люминометра вносили 3 мл 3% - раствора хлорида натрия, добавляли 130 мкл из заранее приготовленного концентрата биолюминесцентных бактерий и снимали показатель биолюминесценции для получения базовой линии в качестве нулевого показателя (рисунок 1).



нм

Рисунок 1 – Максимальная интенсивность люминесценции суспензии бактерий *Photobacterium phosphoreum* в 3% -ном растворе хлористого натрия

Из рисунка 1 видно, что максимум люминесценции бактерий *Photobacterium phosphoreum* в 3% - растворе хлористого натрия отмечался при 478 нм и показывал интенсивность, равную 945,82.

Максимальный показатель прибора по интенсивности принимали за 100 %. В 96 % этиловом спирте растворяли сухие пробы, выделенные из образцов мяса, молока, масла и корма. 0,1 мл этого раствора добавляли в кювету с биолюминесцентными бактериями с последующим измерением интенсивности биолюминесценции через 1, 2, 5, 10 и 15 минут на люминесцентном спектрометре LS-55. В качестве контроля проводили анализ с добавлением вместо пробы 0,1 мл 96% этилового спирта. По результатам тестирования проб мяса снижения базового уровня люминесценции с течением времени не наблюдалось (рисунок 2).

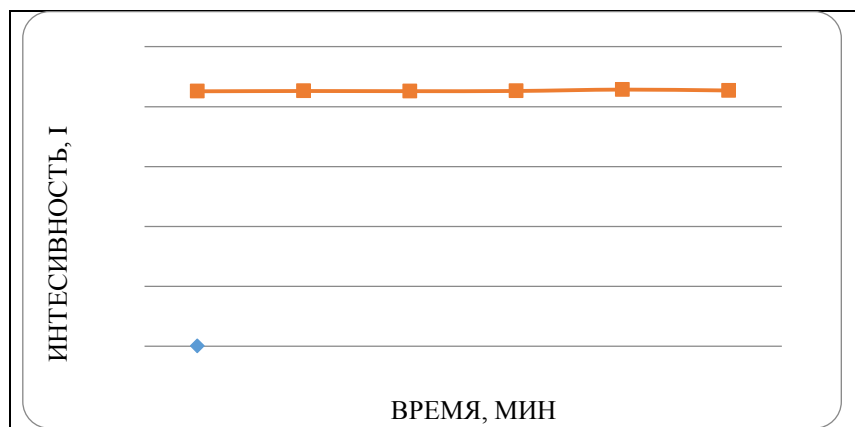


Рисунок 2 – Изменение люминесценции при анализе пробы мяса №1

На рисунке 2 показано, что во время инкубации до 15 мин снижения люминесценции не наблюдается, что свидетельствует об отсутствии токсических компонентов в пробах. Также было проведено исследование проб молока и масла на содержание в них диоксинов.

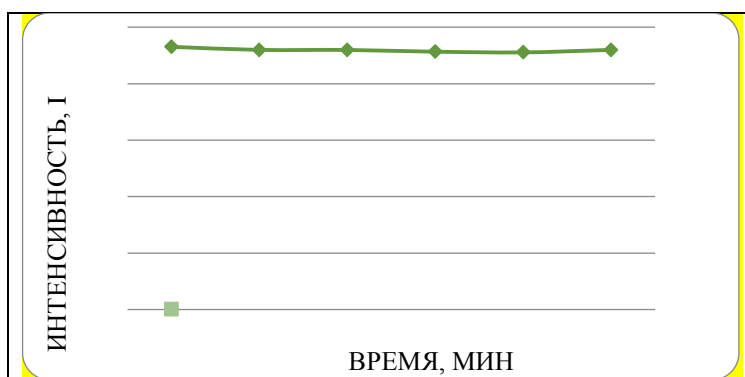


Рисунок 3 - Изменение люминесценции при анализе пробы молока №4

По результатам, показанным на рисунке 3, снижения люминесценции во времени при анализе пробы молока не выявляется. Отрицательный результат был получен и при анализе образцов масла (рисунок 4).

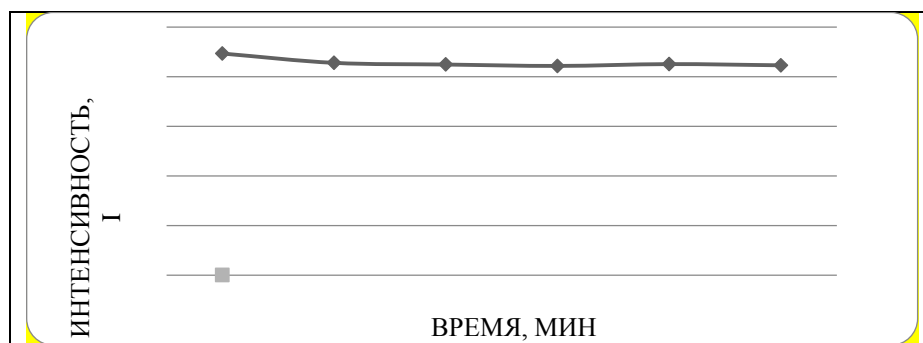


Рисунок 4 - Изменение люминесценции при анализе пробы масла №1



Как видно из рисунков 3 и 4, так и во всех проанализированных пробах молока и масла диоксинсодержащие компоненты не были обнаружены.

Так как в выделенных образцах содержание диоксина не было обнаружено, в пробу мяса был добавлен стандартный образец 2,3,7,8-тетрахлордibenзо[b,e]-1,4-диоксина с концентрацией  $2,5 \times 10^{-15}$  г/л, что привело к резкому снижению биоллюминесценции. При этом вычисленный индекс токсичности был равен 84 %, что указывает на высокую чувствительность биотеста.

**Закключение** Таким образом, в результате биоллюминесцентного анализа исследуемых проб мяса, молока и масла диоксинов и их следов не было обнаружено. Высокая чувствительность биоллюминесцентного анализа позволяет использовать разработанный биотест для первичного скрининга проб при определении диоксинов в животноводческой продукции.

### Литература

1. Аргунов М.Н. Диоксины (полихлордibenзодиоксины, ПХДД) // Ветеринарная токсикология с основами экологии.– М: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 агроэкоферы к условиям техногенеза. - Казань, 2006. - С.46 - 50.
5. Новиков В.А. Диоксины: источники загрязнения, опасность, предупреждение отравлений // Ветеринария. - А., 2004. - №5. - С. 51 - 55.
6. Гительзон И.И., Родичева Э.К., Медведева С.Е. и др. Светящиеся бактерии. - Новосибирск: Наука, 1984. - 275с.
7. Застенская И.А. и др. Определение полихлорированных дibenзо-п-диоксинов и дibenзофуранов 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 отделом по разработке методов исследования и контроля продукции и сырья животного происхождения ТОО «КазНИВИ»

Латыпова З.А. – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела по разработке методов исследования и контроля продукции и сырья животного происхождения ТОО «КазНИВИ»

Аубекерова Л.С. – кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела по разработке методов исследования и контроля продукции и сырья животного происхождения ТОО «КазНИВИ»

Кенжебаева М. Ж. – старший лаборант лаборатории генетики микроорганизмов, биохимии и иммунологии ТОО «КазНИВИ»

Касымова К.Т. – отдела по разработке методов исследования и контроля продукции и сырья животного происхождения ТОО «КазНИВИ»

Муналбаева А.А. – младший научный сотрудник отдела по разработке методов исследования и контроля продукции и сырья животного происхождения ТОО «КазНИВИ»

### **Түйін**

## **БИОЛЮМИНЕСЦЕНТТІК ТАЛДАУДЫ ҚОЛДАНУ АРҚЫЛЫ МАЛШАРУАШЫЛЫҚ ӨНІМДЕРДЕГІ ДИОКСИНДЕРДІ АНЫҚТАУ**

Сарбаканова Ш.Т., Латыпова З.А., Аубекерова Л.С., Кенжебаева М. Ж.,  
Касымова К.Т., Муналбаева А.А.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада «ҚазҒЗВИ» ЖШС тағам қауіпсіздігі зертханасында жасалған *Photobacterium phosphoreum* В-0273 бактериялар негізіндегі биотест қолдану арқылы малшаруашылық өнімдерінде (ет, сүт, май) диоксиндерді анықтау бойынша нәтижелер көрсетілген.

*Кілттік сөздер:* люминесценция, диоксиндер, *Photobacterium phosphoreum*, малшаруашылық

### **Summary**

## **DETERMINATION OF DIOXINES IN PRODUCTS OF STOCK-RAISING WITH THE USE OF BACTERIAL BIOLUMINESCENCE TEST SYSTEM**

Sarbakanova Sh.T., Latypova Z.A., Aubekerova L.S., Kenjebayeva M.J.,  
Kasymova K.T., Munalbaeva A.A.

LLP «Kazakh scientific research veterinary institute»

The article presents the results on the determination of dioxins in animal products (meat, milk, butter) using a bioassay based on bioluminescent bacteria *Photobacterium phosphoreum* В-0273, developed in the laboratory of food security «KazSRVI» LLP.

*Keywords:* luminescence, dioxine, *Photobacterium phosphoreum*, animal products  
ӘОЖ 579.68;63

## ЛЮМИНЕСЦЕНТТІК БАКТЕРИЯЛАРДЫ ТАҒАМ ҚАУІПСІЗДІК САЛАСЫНДА ПАЙДАЛАНУ

Сарбаканова Ш.Т., Латыпова З.А., Касымова К.Т., Муналбаева А.А.,  
Кенжебаева М.Ж., Кеңесхан Ж.Н.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

**Түйін** Мақалада биотестті ойластыру арқылы өсімдік және жануар тектес өнімдердің құрамындағы пестицидтерді анықтау мақсатында қолданылатын биолюминесценттік бактериялардың қасиеті келтірілген.

*Кілтті сөздер:* пестицидтер, биолюминесценция, микроағзалар, биолюминесценттік бактерия *Photobacterium phosphoreum*

**Кіріспе** Қазіргі дамыған нарық кезеңінің, адамзаттың тұрмыс тіршілігінің жаңа сатыға өтуі қарсаңында, әлемдік экологиялық ахуал негізгі заманауи мәселе болып отыр. Техногенді және экологиялық факторлардың салдарынан жергілікті жануар және өсімдік тектес өнімдердің ветеринариялық - санитариялық сапасы төмендеуде. Пестицидтер – улы химиялық заттар, оларды мол өнім алу барысында, өсімдіктер зиянкестерімен, паразиттермен, арамшөптермен, күрес кезінде қолданылатын химиялық қосылыстар. Пестицидтердің атауы латын сөздерінен алынған: *resis* – жұқпалы ауру, *caedo* - өлтіремін. Пестицидтерді пайдалану ауылшаруашылық өнімдерін 18-20% сақтайды. Дегенмен қоршаған ортаның ластану факторларының арасынан адамдар мен жануарларға ерекше қауіпті пестицидтер туғызады, олардың биологиялық жоғары белсенді химиялық заттардың жалғыз класы болып, заманауи ауылшаруашылық технологиясының ажырамас элементі болып, адамдардың саналы түрде биосфераға түсіруінде болып отыр. Осыған орай «Мал өнімдері мен шикізат зерттеу мен бақылаудың жаңа әдістерін ойластыру» бөлімінде биолюминесценттік бактерияларды қолдана отырып, өсімдік және мал өнімдерінің құрамындағы пестицидтерді анықтау әдістері бойынша зерттеу жұмыстары жүргізілуде [1].

Биолюминесценция деп қараңғыда жақсы көрінетін, тірі ағзалардың жарық шығаруын айтады. Биолюминесценция – ол, хемилюминесцентті реакция барысында химиялық қуаттың жарық қуатына айналуы. Реакция барысында субстрат (люцифериндер) ферменттің (люциферазаның) әсерінен тотығады. Барлық ағзаларда люцифериндер және люциферазалар химиялық жағынан әр түрлі болады, бірақ барлық хемилюминесцентті реакциялар молекулалық оттегін қажет етеді және аралық кешендерді түзіп өтеді. Осы кешендердің ыдырауы кезінде, биохимиялық реакцияның жарық шығаруға жауапты заттың молекулаларын қоздыратын қуат бөлінеді, аталған реакция барысында химиялық қуат арнайы молекуланы қоздырады, молекула

жарықты шығарады. Бактериялардың билюминесценциясы хемиллюминесцентті реакцияның бір түрі болып табылады, оны жүзеге асыру үшін тотыққан флавиномононуклеотид, оттегі, ұзын тізбекті альдегид және люцефераза ферменті қажет. Осы реакцияның соңғы өнімдері – май қышқылы және көрінетін жарық.

Улы қосылыстардың әсері ағзадағы жасушалық метобализмнің бұзылуына тікелей әсер етеді. Реакция нәтижесінде түзілген жарық билюминесцентті бактериялардың өсімдік және мал өнімдерінде пестицидтер бар өнімді зерттеуде жарқылдауы, яғни өсуі төмендейтінін бақылау арқылы зерттеуге мүмкіндік береді [2,3].

**Зерттеу материалдары және тәсілдері** Жұмыс барысында ФГАОУ ВПО «Сібір федеральды университетінің» биофизика Институтының культуралар Коллекциясынан *Photobacterium phosphoreum* бактериясының 677 штаммы қолданылған.

Зертханалық тәжірибеде бактерияларды өсіру үшін қолданылатын қоректік орталар – субстраттар пайдаланылды. Бактерияларды өсіру үшін қоректік ортаның химиялық құрамы және консистенциясы анықталды. Натрий хлоридінің әртүрлі концентрациясы бар тығыз, сұйық және желе тәрізді негізді қоректік орталары сыналды. Сондықтан, зерттеу нәтижесінде люминесценттік бактериялармен жұмыс жасау үшін құрамында 4,1 % микроағзаларды өсіруге арналған қоректік ГРМ-агар, 2,6 % натрий хлориді және 0,8 % агар-агар бар қоректік орта таңдалды.

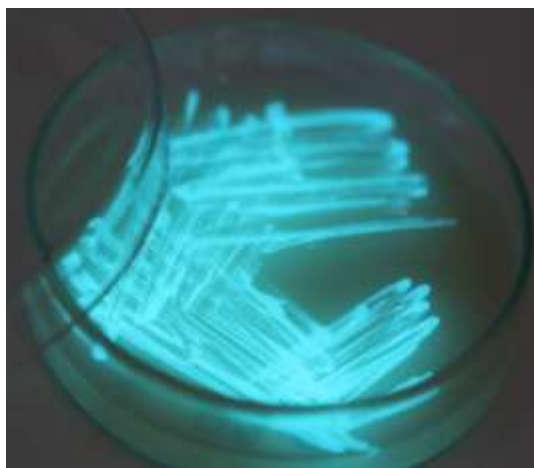
Люминесцентті бактериялардың колонияларының бар-жоқтығын визуальды, люминесценцияның болу-болмауын талдап және соларды өсудің баяулау фазасына дейін, өсу және жарқырау көрсеткіштерін тиянақтап, есептеу жүргізілді [4].

**Зерттеу нәтижелері** *Photobacterium* туысына жататын *Photobacterium phosphoreum* түрі Үнді мұхитындағы балықтардан балық пептонды агар (БПА) және жартылай сұйық балық пептонды агар (ЖСБПА) қоректік ортасына өсіру арқылы бөлініп алынған. *Photobacterium phosphoreum* – азықтағы улы заттарды биотестілеуге қолданылатын, көкшіл түспен жанатын бактериялар. Олар теңіз ағзаларымен симбиозда өмір сүретін 0,8-1,3x1,8-2,4 мкм грамтеріс таяқшалар, сапрофиттер мен паразиттер. Көптеген басқа теңіз микроағзалары сияқты, жарқырайтын бактериялар галлофилдер болып табылады. Құрамында натрий иондары бар ортада өседі, натрий иондары калий және магний иондарымен алмастыруға келмейді. Факультативті анаэробтар болғандықтан,  $O_2$  дем алудың және жарқырайтын бактериялардың билюминесценциясына қажетті компонент болып табылады. Олардың өсуі және жарқырауы үшін  $O_2$  шамалы концентрациялары да жеткілікті.

Люминесцентті бактериялардың өсуі және жарқырауы үшін оптимальды рН 7,0 аралығында орналасады, және өте сирек 7,5 көрсеткіштен асады. Жарқырайтын бактерияларды теңіз және ащылау судан оңай бөліп алуға болады. Етте және балықта, әсіресе төменгі температураларда олар табиғи жинақтаушы культураларды түзеді. Егер де теңіз балығын тайпак

ыдыста жартысына дейін тұзды сумен толтырып, бірнеше күнге тоңазытқышта (4 °C – 6 °C температурада) қалдырып қойса, онда балықтың беткейінде жарқырайтын бактериялардың колониялары түзіледі, соларды бөліп алып, таза культура ретінде алуға болады. Әдетте, олар шіруді шақыртпайды және улы заттарды түзбейді, бірақ аминдерді бөледі.

Биотехнологиялық сипаттамасы ретінде қоректік ортаның құрамы мен өсіру шарттары люминисцентті бактерияның қасиеттерін ең жоғары деңгейін қамтамасыз ету үшін маңызды рөл атқарады. Зертхана жағдайында люминесценттік бактерияларды өсіруге қолайлы температуралық және уақыттық режимдері анықталды. Бактериялар қараңғы жерде әр-түрлі температуралық режимдерде: 8 °C, 16 °C, 18 °C және 24 °C өсірілді. Бактериялардың өсуі әр 7-10 сағат сайын 24, 48 және 72 сағат аралығында тексерілді. 16 °C және 18 °C температурада люминесценттік бактериялардың өсуі бірінші күні ақ байқалды, ал 8 °C және 24 °C температурада бактериялар өспеді. Бактериялардың оптималды өсуі мен жарқылдауы 16 °C және 18 °C температурада 72 сағат өткеннен кейін байқалды (1,2 сурет).



1 сурет - Петри аяқшасында қатты қоректік ортада өсіп тұрған *Photobacterium phosphoreum*



2 сурет - Сынауықтарда сұйық қоректік ортаға өсіп тұрған *Photobacterium phosphoreum*

8°C және минус 70°C температурада глицеринмен жабылып 3 ай сақталған люминисценттік бактериялардың қарқынды өсуі мен максимальды жарқылдауы сақталатыны анықталды [6].

Ветеринарияда жарқырайтын бактерияларды қолдану азықтардың және мал шаруашылық өнімдерінің улылығын анықтауға, сонымен қатар ауру жасушаның жергілікті метаболизмін зерттеуге, соның нәтижесінде сипаттамалары әр түрлі ауруларды әр түрлі тәсілдердің көмегімен емдеу мүмкіндіктерін береді. *Photobacterium phosphoreum* бактериясының 677 штаммы «Республикалық микроорганизмдер өсінділері жөніндегі» ҚР үкімет қаулысы бойынша «Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институтында» паспортталған.

**Қорытынды** Жарқырауы тұрақты люминесцентті бактериялар негізінде азықтық өнімдердің құрамындағы улы қосылыстарды анықтауға биотест ойластыру болғандықтан, нақты осы жұмыстың мақсаты *Photobacterium phosphoreum* бактерияларының құрамы мен қасиетін анықтау болды. *Photobacterium phosphoreum* бактериясының 677 штаммының өсуіне және жарқылдауына қоректік орталардың химиялық құрамының әсері анықталып, ұзақ уақытқа сақтау мақсатында люминесцентті бактериялардың культурасын лиофильді кептіру үрдісі бойынша зерттеу жұмыстары жүргізілуде [7,8].

### Әдебиеттер

1. Мушкамбаев Н.Н., Кузнецов С.Л. Молекулярная биология: Учебное пособие. - М.: ООО «Медицинское информационное агенство», 2007. - 536 с. Глава 6. Узел проблем: Клеточный цикл, Апоптоз и онкогенез. - С. 404-520.
2. Родичева Э.К., Выдрякова Г.А., Медведева С.Е. Каталог культур светящихся бактерий — Новосибирск: Наука, 1997. 125 с.
3. Могильная О.А., Киселева В., Медведева С.Е., Пузырь А.П. Иммуноэлектронно-микроскопическая локализация гистоноподобных белков в хроматине светящихся бактерий // ДАН СССР. 1990. Т. 314. №3. С. 726-730.
4. Выдряков Г.А., Чугаева Ю.В., Тюлькова Н.А. Трансформация биополимеров светящимися бактериями // Сибирский экологический журнал. 2002. № 2. С. 137-144.
5. Сарбаканова Ш.Т., Кенжебаева М.Ж., Касымова К.Т., Муналбаева А.А. Влияние химического состава питательных сред на рост и свечение люминесцентных бактерий // Ветеринария. – 2014. – Т. 36-37. № 2 - 3. С.86 - 88.
6. Примакова Г.А., Кузнецов А.М. Планктонные светящиеся бактерии коралловых рифов Индийского океана и Южно-китайского моря // Микробиология. 1990. Т. 64. №5. С. 912 - 920.
7. Выдрякова Г.А., Кузнецов А.М., Примакова Г.А., Чугаева Ю.В., Фиш А.М. Люминесцентные бактерии симбионты и комменсалы светящихся и несветящихся представителей морской фауны Индийского океана // Микробиология. 1995. Т. 64. № 5. С. 692-695.
8. Сансызбай А.А., Сұлтанов А.Ә., Сейдахметова Р.Д. Микроорганизмдер өсінділерінің каталогы. – Алматы, 2005. - Б. 19.

### Иегерлер туралы мағлұмат:

Сарбаканова Ш.Т. – биология ғылымдарының кандидаты, «ҚазҒЗВИ» ЖШС мал өнімдері мен шикізат зерттеу мен бақылаудың жаңа әдістерін ойластыру бөлімінің меңгерушісі

Латыпова З.А. – ветеринария ғылымдарының кандидаты, «ҚазҒЗВИ» ЖШС мал өнімдері мен шикізат зерттеу мен бақылаудың жаңа әдістерін ойластыру бөлімінің жетекші ғылыми қызметкері

Касымова К.Т. - «ҚазҒЗВИ» ЖШС мал өнімдері мен шикізат зерттеу мен бақылаудың жаңа әдістерін ойластыру бөлімінің ғылыми қызметкері

Муналбаева А.А. - «ҚазҒЗВИ» ЖШС мал өнімдері мен шикізат зерттеу мен бақылаудың жаңа әдістерін ойластыру бөлімінің кіші ғылыми қызметкері

Кенжебаева М.Ж. – «ҚазҒЗВИ» ЖШС микроағзалар генетикасы, биохимия және иммунология зертханасының аға лаборанты

Кеңесхан Ж.Н. - «ҚазҒЗВИ» ЖШС микроағзалар генетикасы, биохимия және иммунология зертханасының аға лаборанты

## **Резюме**

### **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ БАКТЕРИЙ В ОБЛАСТИ ПИЩЕВОЙ БЕЗОПАСНОСТИ**

Сарбаканова Ш.Т., Латыпова З.А., Касымова К.Т., Муналбаева А.А.,  
Кенжебаева М.Ж., Кеңесхан Ж.Н.

ТОО «Казакский научно-исследовательский ветеринарный институт»

В статье описаны свойства биолюминесцентных бактерий использующихся при разработке биотеста для определения пестицидов в продуктах растительного и животного происхождения.

*Ключевые слова:* пестициды, биолюминесценция, микроорганизмы биолюминесцентные бактерии *Photobacterium phosphoreum*.

## **Summary**

### **USE OF LUMINESCENT BACTERIA IN FOOD SAFETY**

SH.T. Sarbakanova, Z.A.Latypova, K.T. Kasymova, A.A. Munalbaeva,  
M.J. Kenjebaeva, J.N.Keneshan.

LLP «Kazakh scientific research veterinary institute»

The article describes the characteristics of bioluminescent bacteria used in the development of bioassay to determine the pesticides in products of plant and animal origin.

*Key words:* pesticides, bioluminescence, microorganisms, bioluminescent bacterium *Photobacterium phosphoreum*.

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ ДНК КУРИЦЫ И СВИНЬИ В МЯСНЫХ ПРОДУКТАХ МЕТОДОМ РТ-ПЦР

Сарбаканова Ш.Т., Минаев М.Ю., Аубекерова Л.С., Байбатырова Л.А.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме** В статье приведены результаты по разработке метода идентификации ДНК курицы и свиньи в мясных продуктах методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

*Ключевые слова:* ген цитохрома В, праймеры, РТ-ПЦР, свинина, курятина, мясные продукты

**Введение** Защита отечественного рынка от некачественной продукции и обеспечение населения полноценными продуктами питания является одним из главных направлений развития экономики страны. В последнее время наблюдается тенденция увеличения товарооборота фальсифицированных мясных продуктов как отечественного, так и импортного производства. Чаще малоценное мясное сырье второго и третьего сортов реализуют как продукцию высокого качества. Кроме того, особенно остро стоит вопрос о необходимости достоверной видовой идентификации не только однокомпонентного мясного сырья, но и мясных многокомпонентных продуктов. Это обусловлено тем, что фальсификация видового состава мясной продукции может быть опасной для здоровья людей.

Традиционные методы, такие как иммунодиффузия в геле, ИФА, гистология и другие, широко используемые для видовой идентификации сырьевого состава, не эффективны в отношении продуктов, производство которых требует термической обработки, приводящей к денатурации белков и потери ими видовой специфичности [1,2,3]. В отличие от белков, ДНК более устойчива к термической обработке и не теряет своей информативной функции. Поэтому разработка методов на основе анализа нуклеиновых кислот с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) является перспективной для видовой идентификации мяса в составе термообработанных продуктов и кормов [3,4,5,6, 7,8].

**Материалы и методы** Для проведения научных исследований использовались молекулярно-генетические методы. Детальный анализ митохондриальной и ядерной ДНК изучаемых биологических объектов и поиск нуклеотидных последовательностей проводили по генетической базе Национального центра биотехнологической информации (США). Анализ выбранных нуклеотидных последовательностей на варибельность 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. Выбранные праймеры были синтезированы ЗАО «Синтол» (г. Москва) фосфоамитидным методом на синтезаторе ASM-102. Полимеразную цепную реакцию проводили по методу Мюллера К. [9] на приборе для ПЦР в режиме реального времени «StepOnePlus» (Applied Biosystems, США).

**Результаты и обсуждение** Для изучения практических возможностей применения метода видовой идентификации на основе ПЦР были исследованы образцы мяса и мясных продуктов, приобретенные в торговых точках города Алматы с разной степенью технологической обработки. Экстракция ДНК проводилась с использованием набора «ДНК-Сорб-Б», модифицированного для выделения ДНК из продуктов питания и кормов для животных. Количество и чистоту ДНК из сырых и термически обработанных мясных продуктов определяли с помощью электрофоретической детекции в агарозном геле. Полученные пробы ДНК хранили в холодильнике при плюс 4 °С до одного месяца.

На основе данных научно-технической литературы и собственных исследований в качестве ДНК-сиквенса была выбрана митохондриальная ДНК (мт-ДНК) животных и птиц. Основанием в пользу выбора 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 ядерной ДНК (ядДНК) в 10-20 раз, обеспечивая тем самым внутри- и межвидовой полиморфизм. Ген цитохрома В (СУТb) содержит наибольшее количество информации о видовых различиях млекопитающих и, тем самым, является идеальной мишенью для конструирования специфических праймеров, позволяющих дифференцировать в исследуемом материале ДНК животных из группы курицы и свиньи.

С помощью базовой компьютерной программы Primer Express 2 (Applied Biosystems) был проведен анализ выбранных участков ДНК гена цитохрома В для дизайна олигонуклеотидных праймеров и зондов, несущих флуорофор и гаситель для идентификации ДНК курицы домашней (*Gallus gallus*) и свиньи домашней (*Sus scrofa*). Основными критериями при выборе праймеров были следующие параметры: размеры ПЦР-продукта около 50 п.н.; температура плавления 58-60 °С; длина праймера 20-30 п.н.; GC состава 20-80%; отсутствие вторичных структур; минимум G/C на 3' конце праймеров (не более трех из пяти последних нуклеотидов). Зонды подбирали, также руководствуясь общепринятыми параметрами: GC состава 20-80 %; температура плавления 68-70 °С; минимум одинаковых нуклеотидов подряд, особенно G: не более 4-х подряд. Флуоресцентная метка – FAM, гаситель – Black Hole. В результате анализа из приведенных программой вариантов были выбраны праймеры для определения ДНК курицы и свиньи, включая зонды, отвечающие всем вышеуказанным требованиям и наиболее

оптимальные для целей идентификации видовой принадлежности мяса и мясных ингредиентов в составе пищевых продуктов (таблица 1).

Таблица 1 - Дизайн праймеров и зондов для видовой идентификации

5'-3' последовательность	T Плавления, °C	C, %	Длина, нп
«Свинья домашняя» Forward primer Ggctttccgctcgacaaga	61	5	20
Reverse primer Ctgcgagggcggtaatgat	59	1	19
Taqman зонд Accctcacacgattcttcgcctttcactttatc	68	3	33
«Домашняя курица» Forward Primer1 Caatccttacaacgatcctacttatccaaaa	63	5	31
Reverse Primer Consensus Gggaggtcgcgattagggagttgtaattatt	63	0	30
Taqman зонд Atggcacccaacattc	73	0	16

ПЦР проводили в объеме 30 мкл: к 2 мкл ДНК добавляли 16 мкл деионизированной воды, по 2 мкл специфических праймеров с зондом на курятину либо на свинину, в конце добавляли реакционную смесь, состоящую из 2,5хПЦР буфера, содержащего Tag ДНК-полимеразу, дезоксинуклеозидтрифосфаты, глицерол, Tween 20 и пассивный краситель ROX. В качестве отрицательного контроля использовали «пустую» пробу, т.е. образец, не содержащий ДНК определяемых биологических объектов, в качестве положительного контроля - чистый генетический материал (образец ДНК) изучаемых биологических объектов. В качестве красителя выбрали FAM, а глушителя None. Разработанная программа амплификации ДНК приведена в таблице 2.

Таблица 2 - Программа амплификации ДНК

Циклы	Амплификаторы «Applied Biosystem»		
	температура	Время, сек	Число повторов
Первый	95°C	420	1
Второй	95°C	15	35
Третий	60°C	40	1

Для определения специфичности ПЦР были поставлены ПЦР в режиме реального времени с ДНК свиньи и курицы, также были использованы образцы не содержащие ДНК этих видов животных (рисунок 1).

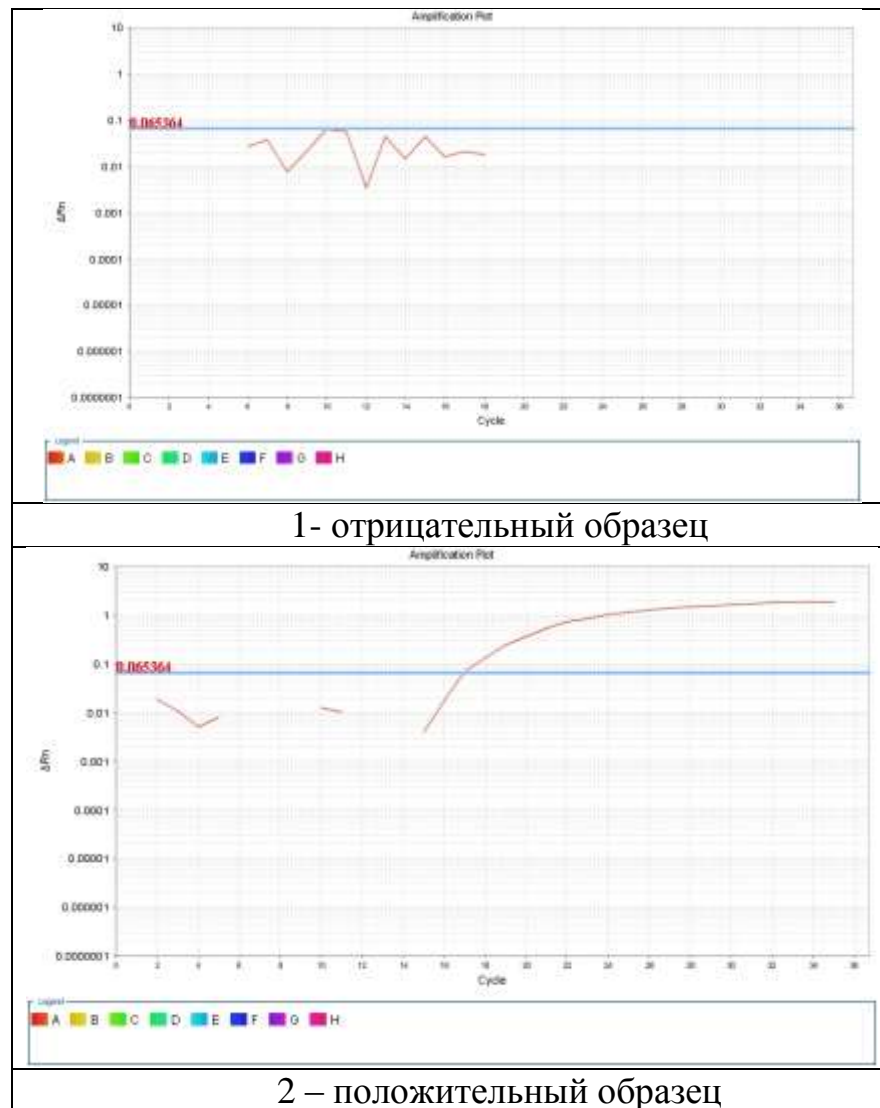


Рисунок 1 - Результаты при неспецифической реакции (1) и при положительном образце (2), полученные в ходе РТ-ПЦР

Из рисунка 1 видно, что при образовании специфического продукта амплификации наблюдалось увеличение интенсивности флуоресценции, а построенный прибором график в этом случае имел вид логарифмической кривой, что свидетельствует о нормальном протекании ПЦР. Подобная картина наблюдается и во всех положительных образцах (2). В случае отсутствия специфической реакции, отсутствует и логарифмический рост кривой, что подтверждает корректность проводимого анализа. Подобная картина наблюдается и во всех отрицательных образцах (1).

Разработанный метод идентификации ДНК свиньи и курицы методом ПЦР в режиме реального времени позволяет определить фальсификацию мясных продуктов, то есть замену мяса говядины и конины (полностью или частично) на более дешевую курятину или добавление свинины, неуказанное в составе колбасных изделий, полуфабрикатов, фаршей и консервов. Информация об истинном составе продукции необходима не только

потребителям, но и органам, осуществляющим контроль за отечественными товаропроизводителями и за товарами, ввозимыми из-за рубежа.

Апробацию полученной тест-системы для видовой идентификации состава мясной продукции проводили на образцах колбас и консервов мясного содержания. Результаты исследований приведены на рисунке 2.

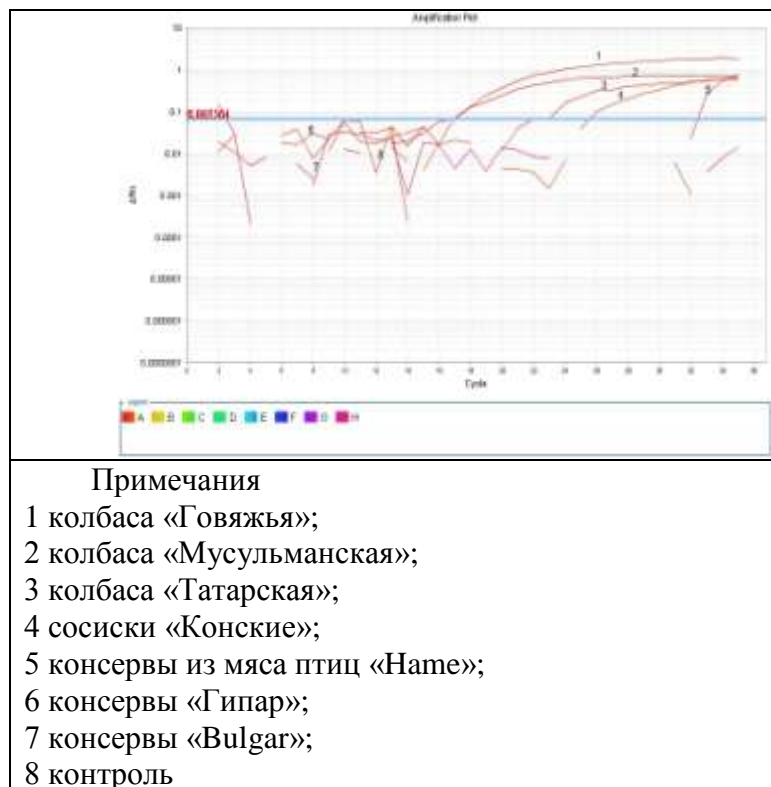


Рисунок 2 – Результаты проведенных исследований методом РТ- ПЦР

Из рисунка 2 видно, что в составе исследованных колбас и консервов ДНК свиньи не обнаруживается, но в составе всех колбасных изделий (№ 1, №2, №3, №4) выявлена фальсификация, то есть добавление курятины, не указанное на этикетке продукта. В консервах курятина обнаружена только в консервах из мяса птицы «Name» - №5.

Таким образом, в результате исследований установлено, что полученная ПЦР тест-система и разработанные праймеры специфичны и могут использоваться для видовой идентификации ДНК курицы и свиньи и осуществления контроля за сырьевым составом мясных продуктов.

### Литература

1. Боровков М.Ф., Швец О.М., Кириллов А.К. Определение видовой принадлежности мяса животных // Методическое пособие. - М., 1998. - С. 34 - 36.
2. Езерская Е.Я. Анализ видовой принадлежности мяса и мясопродуктов // Ж. Ветеринария. - М., 2001. - № 6. - С. 45 - 47.

3. Кабанова Е.М. Определение видовой принадлежности мяса домашних и диких животных: автореф... дисс. канд. вет. наук. - Чебоксары, 1999. - С. 23 – 25.
4. 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). - С. 6 - 9.
5. Matsunaga I., Chikuni K., Tanabe R. et al. A quick and simple method for the identification of meat species and meat products by PCR assay // Meat Science. - 1999. - V.51. - P. 143-148.
6. Lopez - Andreo M., Lugo L., Garrido-Pertierra A. et al. Identification and quantitation of species in complex DNA mixtures by real-time polymerase chain reaction // Analytical Biochemistry. - 2005. - V. 339. - P. 73-82.
7. Matsunaga T., Shibata K., Yamada J. et al. Identification of meat species based on the difference of S ribosomal RNA genes // Int. J. Food Sci. Technol. - 1998. - V.12. - P. 719-723.
8. Kesmena Z., Sahinb F., Yetima H. PCR assay for the identification of animal species in cooked sausages // Meat Science. - 2007. - V 77 (4). - P. 649 - 653.
9. Mullis K., Faloona F., Scharf S., Saiki R., Horn G., and Erlich H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction // K. Mullis, F. Faloona, S. Scharf, R. Saiki, G. Horn, and H. // Erlich Cold Spring Harbor Symp Quant Biol, 1986. 51:263-273.

#### **Сведения об авторах:**

Сарбаканова Ш.Т. - кандидат биологических наук, заведующая отделом по разработке методов исследования и контроля продукции и сырья животного происхождения ТОО «КазНИВИ»

Минаев М.Ю. – кандидат технических наук, заведующий лабораторией гигиены производства и микробиологии, ГНУ ВНИИМП им. В.М. Горбатова

Аубекерова Л.С. - кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела по разработке методов исследования и контроля продукции и сырья животного происхождения ТОО «КазНИВИ»

Байбатырова Л.А. – магистрант отдела по разработке методов исследования и контроля продукции и сырья животного происхождения ТОО «КазНИВИ»

#### **Түйін**

ЕТ ӨНІМДЕРІНДЕГІ ТАУЫҚ ЖӘНЕ ШОШҚА ДНҚ-ЫН НУ ПТР ӘДІСІ  
АРҚЫЛЫ ИДЕНТИФИКАЦИЯЛАУ

Сарбаканова Ш.Т., Минаев М.Ю., Аубекерова Л.С., Байбатырова Л.А.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада түрлі ет өнімдеріндегі тауық және шошқа ДНҚ-ын нақты уақыттағы полимеразды тізбекті реакция әдісі арқылы идентификациялау бойынша зерттеу нәтижелері келтірілген.

*Кілттік сөздер:* цитохром В гені, праймерлер, НУ ПТР, шошқа еті, тауық еті, ет өнімдері

### **Summary**

#### **IDENTIFICATION OF CHICKEN`S AND PIG`S DNA IN MEAT PRODUCTS WITH RT PCR**

Sarbakanova Sh. T., Minaev M. Y., Aubekerova L. S., Baibatyrova L.A.

LLP «Kazakh Scientific - research Veterinary Institute»

The article presents the results of identification of chicken`s and pig`s DNA in meat products with PCR method.

*Keywords:* cytochrom B gene, primers, RT PCR, pork, chicken, meat products

УДК 575.17:597.4/5

#### **ПОЛИМОРФИЗМ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ КАРПА CYPRINUS CARPIO CARPIO (LINNAEUS, 1758)**

**Сарбаканова Ш.Т., МУНАЛБАЕВА А.А., ШАЛГИМБАЕВА Г.М.,  
КЕНЖЕБАЕВА М.Ж., КЕНЕСХАН Ж.Н.**

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»  
ТОО «Казахский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства»

**Резюме** В статье приводятся результаты по анализу генетических исследований карпа *Cyprinus carpio carpio* (Linnaeus, 1758) и подбору микросателлитных ДНК маркеров для молекулярно-генетических исследований рыбопосадочного материала карпа Капшагайского НВХ.

*Ключевые слова:* карп, ДНК, олигонуклеотидные праймеры, микросателлитный анализ, генетический полиморфизм.

**Введение** Карп *Cyprinus carpio carpio* (Linnaeus, 1758) – одомашненная форма сазана, подвид лучеперых рыб из семейства карповых. Сазан существует с верхнетретичного периода в условиях пресноводных водоемов умеренных широт северного полушария. Существующие породы карпа,

которых в мировой аквакультуре насчитывается более 35, являются результатом многовековой доместификации *Cyprinus carpio* L. (1758). Сазан существует с верхнетретичного периода в условиях пресноводных водоемов умеренных широт северного полушария. Под влиянием похолодания и осушения Центральной Азии его ареал распался на две части: европейскую и дальневосточную и представлен двумя подвидами европейским (*Cyprinus carpio carpio* L.) и амурским (*Cyprinus haematopterus* T& S) карпами [1].

В связи с усилением антропогенного воздействия в последние десятилетия наблюдается снижение генетического разнообразия в природных популяциях карпа. Генетическая изменчивость возникает в результате мутационного процесса и естественного отбора. В процессе эволюции участвуют селективно нейтральные мутации, которые не вызывают летального эффекта. Потеря генетического разнообразия вызывает снижение адаптивных и приспособленческих способностей особей, популяций и вида в целом и может привести к вымиранию.

Поэтому очень важным является изучение таких быстро эволюционирующих генетических маркеров, как митохондриальная ДНК (мтДНК) и микросателлитные локусы ядерной ДНК. Эти ДНК маркеры особенно чувствительны к изменениям популяционной структуры и способны фиксировать самые незначительные смещения генетического разнообразия в популяциях [2].

**Целью исследований** является выделение и очистка ДНК рыбопосадочного материала карпа Капшагайского НВХ и подбор микросателлитных локусов для изучения его аллельного разнообразия.

**Материалы и методы** Для исследований проведен отбор 90 образцов генетического материала карпа из Капшагайского НВХ.

Пробы карпа отбирались прижизненно путем отрезания фрагмента грудного плавника с последующей фиксацией в 96% этиловом спирте на местах сбора материала.

Выделение и последующую очистку ДНК проводили методом абсорбции на колонках (PALL) [3] с контролем качества выделения на спектрофотометре SPECTRAMax PLUS 384 [4]. ДНК хранили при температуре ниже  $-20^{\circ}\text{C}$  до использования. ПЦР проводили по общепринятому методу [5].

Электрофоретическое разделение продуктов амплификации проводили с помощью системы капиллярного электрофореза «ABI RISM 3130 Genetic analyzer», определение длин аллелей осуществляли с использованием программного обеспечения GeneMarker (Version 1.2) [6].

**Результаты и обсуждение** Из 90 образцов рыбопосадочного материала карпа базового хозяйства Капшагайского НВХ выделена и очищена геномная ДНК. Для выделения использовали метод солевой экстракции [7]. При выделении первым наиболее приемлемым для небольшого количества проб солевым методом к образцу ткани (фрагмент плавника 2x2 мм) добавляют 400 мкл солевого лизирующего буфера, содержащего 0,4 М хлорид натрия, 10 мМ Трис-НСl (рН 8,0) и 2 мМ ЭДТА, а также 40 мкл 20% SDS и 5 мкл протеиназы «К» (10 мг/мл), тщательно

перемешивают и инкубируют в термостатируемом шейкере (120 об/мин.) при температуре 55-60°C в течение ночи. По окончании инкубации в пробирку добавляют 300 мкл 6 М хлорида натрия (насыщенный раствор при комнатной температуре) для осаждения и очистки от белков, тщательно аккуратно перемешивают или встряхивают 30 сек на вортексе и центрифугируют в течение 30 мин на скорости 14000 об/мин при температуре 4 °С. Супернатант переносят в чистую пробирку и добавляют равный объем (600 мкл) изопропилового спирта, аккуратно перемешивают, выдерживают при температуре -20°C в течение часа, после чего центрифугируют при 4°C на скорости 14000 об/мин в течение 30 минут. Осадок промывают холодным 70% этанолом, подсушивают и растворяют в деионизованной воде. Для этого отбирают пипеткой изопропанол, к осадку добавляют 500 мкл 70% этанола, затем центрифугируют в течение 10 мин на скорости 14000 об/мин при 4 °С, отбирают спирт и повторяют процедуру промывки 70% этанолом. Снова отбирают спирт, удаляют, а осадок высушивают на воздухе при комнатной температуре (только не пересушивая). Растворяют осадок очищенной ДНК в 50-500 мкл деионизованной воды или в 10мМ Трис-НС1, 1 мМ ЭДТА, рН 7,4 буфере.

Выход суммы нуклеиновых кислот и качество их очистки определяли по оптическим характеристикам на спектофотометре. Для этого препараты ДНК разбавляли в 100 раз деионизованной водой, измерение оптической плотности растворов ДНК проводили при 260 и 280 нм. Измерение поглощения раствора ДНК при длине волны 260 нм позволяет рассчитать ее концентрацию в пробе, так как оптическая плотность  $D=1$  соответствует приблизительно 50 мкг/мл двухцепочечной ДНК и 40 мкг/мл одноцепочечной ДНК и подходит для определения концентрации праймеров и зондов. Выделенные образцы ДНК имели отношение  $D_{260}/D_{280}$  в пределах от 1,8 - 1,9, что соответствует показаниям для чистых препаратов ДНК без примесей РНК и белков.

Количественная и высокая качественная оценка выделенных ДНК подтверждена методом горизонтального электрофореза в 2%-ном агарозном геле в присутствии инткалирующего красителя бромистого этидия (рис.1).

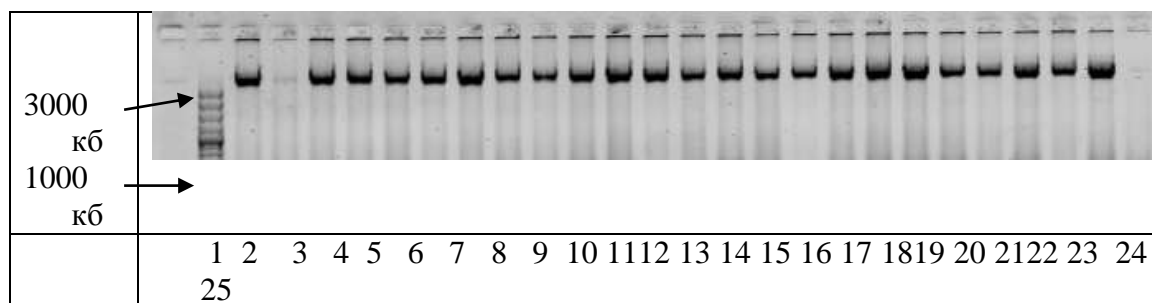


Рисунок 1 - Электрофореграмма образцов ДНК карпа.

На рисунке 1 представлена выделенная и очищенная ДНК из 24-х образцов рыбопосадочного материала карпа Капшагайского НВХ (дорожки



2-25). На дорожку 1 нанесен маркер молекулярных масс ДНК (нижняя полоса - 1000 кб и верхняя полоса - 3000 кб). ДНК выделена чистая без примесей и высокомолекулярная геномная.

Одним из основных методов исследования ядерной геномной ДНК является изучение аллельного состава микросателлитных локусов (STR-анализ). Именно эти участки ДНК накапливают наследуемые в потомстве дифференциальные признаки, анализ которых позволяет проводить межвидовую, внутривидовую (популяционную) и индивидуальную идентификацию особей, изучить аллельное разнообразие по определенным локусам.

Для проведения микросателлитного анализа ДНК карпа отобраны 15 микросателлитных праймеров, использованных в исследованиях ВНИРО (г. Москва, РФ), где для проведения молекулярно-генетического анализа разных пород карпа были взяты последовательности микросателлитных локусов, опубликованные в электронной базе данных NCBI (National Center for Biotechnology Information), <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>: lic18, ci 11, cyp 121, h1j 1067, h1j 1261, h1j 1265, h1j 1230, h1j 1067, h1j 1145в, h1j 1159, h1j 1080, h1j1123, h1j 1185, h1j 1254, h1j 1193.

Реакции амплификации проводили в конечном объеме 10 мкл [70 мМТрис-НСl (рН 8,6); 16,6 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 1,8 мМMgCl<sub>2</sub>; по 200 мкМ каждого дезоксирибонуклеозидтрифосфата; 1 пкМ праймера, модифицированного на 5'-конце флуоресцентным красителем FAM, HEX или TAMRA; 4 пкМ обратного (не меченого) праймера; 2 мкл (50-100 нг) ДНК-матрицы и 0,2 мкл или 1,2 единиц Taq-полимеразы («Силекс»)] по следующей схеме: предварительная денатурация ДНК: 95°C – 5 мин.; 34 цикла: плавление – 92°C – 15 с., отжиг праймеров – 58°C - 30 с., синтез ДНК – 72°C – 60 с.); досинтез ДНК при 72°C – 5 мин.

Из полученной ПЦР смеси брали по 0,5 мкл реакционной смеси переносили в 15 мкл формамида Ni-Di с добавленным молекулярным стандартом для определения размера амплифицируемых фрагментов ДНК.

Электрофоретическое разделение продуктов амплификации проводили с помощью системы капиллярного электрофореза «ABI PRISM 3130 Genetic analyzer», определение длин аллелей осуществляли с использованием программного обеспечения GeneMarker (Version 1.2). Статистическую обработку и определение вероятности принадлежности особей к каждой из предполагаемых популяций (видов) проводили в программах GenAlex [8].

13 из 15 локусов амплифицировались и показали низкую полиморфность (рисунки 1,2).

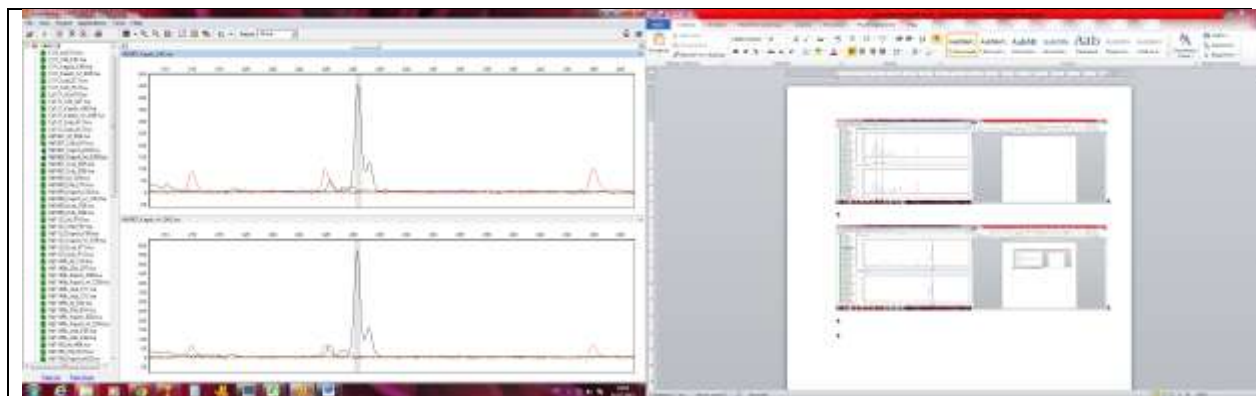


Рисунок 1 - Хроматограмма капиллярного электрофореза ДНК карпа по локусу h1j 1067.



Рисунок 2 - Хроматограмма капиллярного электрофореза ДНК карпа по локусу h1j 1123.

Как видно из рисунков 1 и 2, из изученных 15 микросателлитных локусов 7 оказались мономорфными (по 1-му аллелю размером от 132 п.н. до 255 п.н.) 6 локусов показали по 2 аллельных варианта размером от 150 п.н. до 212 п.н., 2 локуса не амплифицировались.

**Закключение** Таким образом, из исследованной панели микросателлитных локусов для оценки генетического полиморфизма рыбопосадочного материала карпа Капшагайского НВХ: 7 оказались мономорфными и 6 локусов показали по 2 аллельных варианта. Исследования по изучению аллельного полиморфизма микросателлитных локусов карпа продолжаются.

### Литература

- 1 Богерук А.К. Породы и одомашненные формы рыб. Породы карпа (*Cyprinus carpio*, L.) // МСХ., Москва. 2004. 400 с.
- 2 Liu Z.J., Cordes J.F. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics // *Aquaculture*. 2004. Vol. 238. P. 1-37.

3 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.

4 Маниатис Т., Фритч Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование М.: Мир, 1984. С. 159-172.

5 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.

6 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.

7 Aljanabi, S.M., Martinez, I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques // S.M. Aljanabi, I. Martinez. // *NUCLEIC Acids Research*. 1997. V. 25. P. 4692-4693.

8 Peakall R., Smouse P.E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // *Molecular Ecology Notes*. 2006. V. 6. P. 288–295.

### **Сведения об авторах:**

Сарбаканова Ш.Т. - кандидат биологических наук, заведующая отделом по разработке методов исследования и контроля продукции и сырья животного происхождения ТОО «КазНИВИ»

Муналбаева А.А. - младший научный сотрудник отдела по разработке методов исследования и контроля продукции и сырья животного происхождения ТОО «КазНИВИ»

Шалгимбаева Г.М. – главный ученый секретарь ТОО «КазНИРХ»

Кенжебаева М.Ж. - старший лаборант отдела по разработке методов исследования и контроля продукции и сырья животного происхождения ТОО «КазНИВИ»

Кенесхан Ж.Н. - старший лаборант отдела по разработке методов исследования и контроля продукции и сырья животного происхождения ТОО «КазНИВИ»

### **Түйін**

**ТҰҚЫ СУРІНУС САРІО САРІО (LINNAEUS, 1758) БАЛЫҒЫНЫҢ  
МИКРОСАТЕЛИТТИ ЛОКУСТАРЫНЫҢ ПОЛИМОРФИЗМІ**

Сарбаканова Ш.Т., Муналбаева А.А., Шалгимбаева Г.М., Кенжебаева М.Ж.,  
Кенесхан Ж.Н.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС  
«Қазақ балық шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты» ЖШС

Мақалада тұқы *Cyprinus carpio carpio* (Linnaeus, 1758) генетикалық зерттеулер талдау мен «Қапшағай ШӨШ» РМҚК базасында өсірілген тұқы балықотырғызу материалдын молекулярлық-генетикалық зерттеу үшін микросателлитті ДНК маркерлер таңдау нәтижелері ұсынылған.

*Кілттік сөздер:* тұқы, ДНК, олигонуклеотидті праймерлер, микросателлитті талдау, генетикалық полиморфизм

### **Summary**

#### **POLYMORPHISM OF MICROSATELLITE LOCI CARP CYPRINUS CARPIO CARPIO (LINNAEUS, 1758)**

Sarbakanova Sh.T., Munalbaeva A.A., Shalgimbaeva G.M., Kenjebaeva M.J.,  
Keneshan J.N.

LLP «Kazakh Scientific research Veterinary Institute»  
LLP «Kazakh Scientific Research Institute of Fisheries»

The paper presents the results of the analysis of genetic studies of carp *Cyprinus carpio carpio* (Linnaeus, 1758) and the selection of microsatellite DNA markers for molecular genetic investigations of Kapshagai NVH carp stocking material.

*Keywords:* carp, DNA, oligonucleotide primers, microsatellite analysis, genetic polymorphism

УДК 575.17:597.4/5

#### **МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СУДАКА И БЕРША**

**Сарбаканова Ш.Т., Шалгимбаева Г.М., Касымова К.Т.**

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»  
ТОО «Казахский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства»

**Резюме** В статье приводятся результаты микросателлитного анализа ДНК судака *Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758) и берша *Sander volgensis* (Gmelin, 1789), отрицающие гибридное происхождение берша и позволяющие достоверно подтвердить видовой статус судака и берша. Обнаружены диагностические аллели, которые можно использовать для видовой идентификации этих рыб.

*Ключевые слова:* судак, берш, ДНК, ген цитохрома В, олигонуклеотидные праймеры, микросателлитный анализ

**Введение** Судак *Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758), и берш *Sander volgensis* (Gmelin, 1789), относятся к отряду окунеобразных Perciformes, семейству окуневых Percidae, роду судак *Sander*.

В настоящее время в Казахстане судак является ценным объектом коммерческого рыболовства. Однако, нередки случаи ошибочной видовой идентификации судака, так как из-за сходства по морфологическим признакам берша часто выдают за судака, хотя судак является коммерчески более ценным видом. Только с помощью ДНК-анализа можно точно провести видовую идентификацию судака и продукцию из него (филе, фарш и др.) при экспорте или при реализации в торговле. Первые генетические исследования судака на основе ДНК-гидридизации и берша в Казахстане проводились в 90-ые годы [1], где был показан гибридный статус берша в оз. Балхаш. Авторы высказывали предположение, что берш является, возможно, экологической «прибрежной» формой судака [2]. Микросателлитный анализ достоверно выявляет гибридных особей по присутствию в гетерозиготном состоянии аллелей, видоспецифичных для родительских видов.

**Материалы и методы** Для исследований проведен отбор генетического материала судака и берша из озера Балхаш (западная и восточная часть) и реки Урал.

Пробы судака и берша отбирались прижизненно путем отрезания фрагмента грудного плавника с последующей фиксацией в 96% этиловом спирте на местах сбора материала.

Выделение и последующую очистку ДНК проводили методом абсорбции на колонках (PALL) [3] с контролем качества выделения на спектофотометре SPECTRAMax PLUS 384 [4]. ДНК хранили при температуре ниже 20°C до использования.

Реакции амплификации проводили в конечном объеме 15 мкл [70 мМ Трис-НСl (рН 8,6); 16,6 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 1,8 мМ MgCl<sub>2</sub>; по 200 мкМ каждого дезоксирибонуклеозидтрифосфата; 1 пкМ праймера, модифицированного на 5'-конце флуоресцентным красителем FAM, HEX или TAMRA; 4 пкМ обратного (не меченого) праймера; 50-100 нг ДНК-матрицы и 1,2 единиц Taq-полимеразы («Силекс»)] по следующей схеме: предварительная денатурация ДНК: 94°C – 2 мин.; 8 циклов: плавление – 90°C – 20 с., отжиг праймеров – 58°C в первом цикле – 25 с. и в каждом последующем цикле температура отжига снижалась на 0,5°C до 54°C, синтез ДНК – 65°C – 40 с.; 40 циклов: плавление – 90°C – 20 с., отжиг праймеров – 54°C – 25 с., синтез ДНК – 65°C – 40 с.); досинтез ДНК при 70°C – 10 мин [5].

Полученную ПЦР смесь разбавляли H<sub>2</sub>O milliQ до 115 мкл, затем по 1,2 мкл разбавленной реакционной смеси переносили в 12 мкл формамида Hi-Di с добавленным молекулярным стандартом для определения размера амплифицируемых фрагментов ДНК.

Электрофоретическое разделение продуктов амплификации проводили с помощью системы капиллярного электрофореза «ABI RISM 3130 Genetic analyzer», определение длин аллелей осуществляли с использованием программного обеспечения GeneMarker (Version 1.2) [6]. Всего было проанализировано 72 пробы судака и 24 пробы берша.

**Результаты и обсуждение** Для анализа полиморфизма различных популяций судака и берша были отобраны 6 пар микросателлитных локусов из ранее опубликованных в литературе [7, 8] (таблица 1).

Таблица 1 - Микросателлитные локусы на судака

Локус	Праймеры 5'-3'
MSL [3]	F:CCGGCATCCATACACCTTAC
	R:CACACCTgTgTCTgCCTAACA
MSL [4]	F: TAMRA-TCAAGACCCCAGAACCAATC
	R: CAgACAgCTAAgAgAACAACAagg
MSL[5]	F: CAATCGTCTGTGAGGATGTCA
	R: AAaggTggggAAATTATTCg
MSL[7]	F:HEX-CACACAGCAGCATGTGACAA
	R:ggCACggAggTAgAATggTA
Pfla3F	F:FAM-GCCGAATGTGATTGAATG
	R:CgCTAAAgCCAACCTTAATg
Yp13F	F:HEX-GGCACCCAAACTACCACT
	R:ATCAAACAAGCCCCATACA

Все указанные в таблице 1 микросателлитные локусы были успешно амплифицированы и показали достаточно высокую полиморфность для судака и берша.

По результатам микросателлитного анализа ДНК обоих видов рыб, представленных в таблице 2, не было обнаружено ни одной особи рыб гибридного происхождения в выборке из озера Балхаш, для которого ранее предполагалось гибридное происхождение берша [1].

Таблица 2 – Характеристика исследованных локусов

Локус	Диапазон размеров аллелей, пн		Общее число аллелей на локус		Число общих аллелей для двух видов
	судак	берш	судак	берш	
MSL [3]	227-263	243-279	15	4	2
MSL [4]	172-198	181	11	1	0
MSL[5]	226-284	236-266	20	9	8
MSL[7]	249-269	251	7	1	1
Pfla3F	100-116	118-134	9	7	0
Yp13F	272-293	254	4	1	0

Из таблицы 2 видно, что для берша три из шести локусов (MSL4, MSL7, Yp13) оказались мономорфными, причем гомозиготы берша по этим

трем локусам и диапазоны размеров аллелей локуса PflaL3, полиморфного для обоих видов не пересекались с аллелями, характерными для судака. Наглядно на гистограммах (рисунок 1) показано распределение микросателлитных локусов для судака и берша.

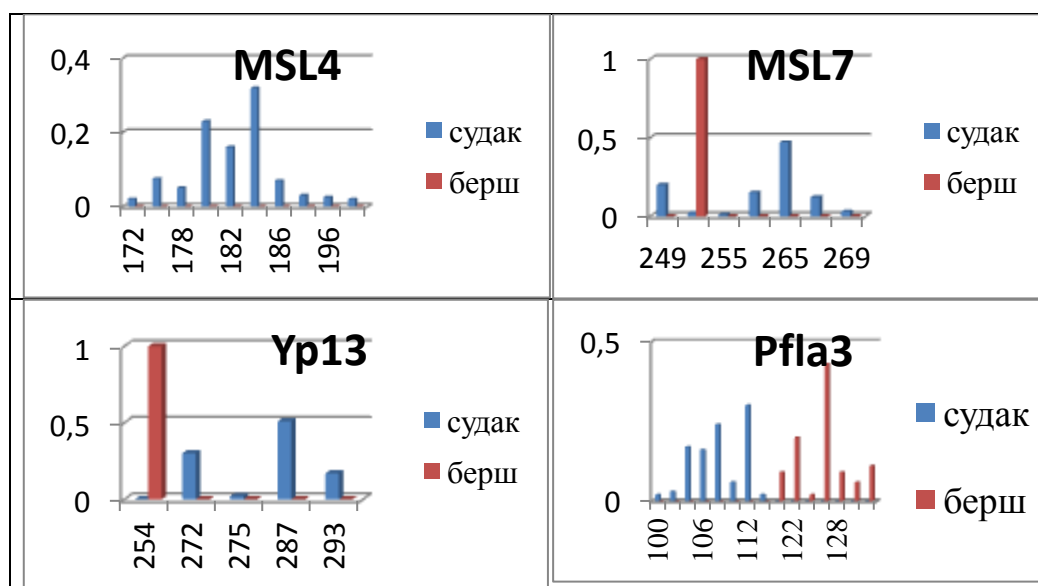


Рисунок 1 - Распределение частот аллелей по локусам

На рисунке 1 показано, что по локусу MSL4 в ДНК берша амплифицируется один аллель, тогда как для судака характерны 11 аллелей от 172 до 198 (здесь и далее название аллеля приводится по длине амплифицированного фрагмента, выраженной в парах нуклеотидов). Всего аллелей по данному локусу выявлено 12, и только один из них встречается у берша.

По локусам MSL7 и Yp13 для берша определяющими являются аллели 251 и 254, соответственно, так как они присутствуют у более 90% особей. Эти локусы можно использовать при видовой идентификации берша. По локусу Pfla3 выявлено 16 аллелей. При этом у судака и берша аллели по данному локусу четко различаются по диапазону: у судака - от 100 до 116 и у берша - от 118 до 134 (рисунок 1). Следовательно, при сравнении особей судака и берша эти виды можно определять по локусам MSL4 и Pfla3, а для видовой идентификации берша можно использовать локусы MSL7 и Yp13.

**Заключение** Таким образом, наличие диагностических аллелей в микросателлитных локусах, обнаруженное в результате микросателлитного анализа, не подтверждает гибридное происхождение берша и позволяет достоверно установить видовой статус судака и берша.

## Литература

1. Мамилов Н.Ш., Митрофанов И.В. К вопросу о систематическом статусе берша *Stizostedion volgensis* // Вестник КазГУ: серия биологическая. – А., 1999. - Т. 7. - С.68 - 73.
2. Мамилов Н.Ш., Митрофанов И.В. Сравнительное морфобиологическое описание берша *Stizostedion volgensis* (Gmelin, 1789) из дельты р. Или // Зоологический журнал. – М.,1996. - Т.75. - № 7. - С.1054 - 1063.
3. 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.
4. Маниатис Т., Фритч Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. - М.: Мир, 1984. - С. 159 - 172.
5. 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.
6. 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.
7. Gharibhani M., Pourkazemi M., Soltani M. et al. Population Genetic Structure of Pikeperch (*Sander lucioperca* Linnaeus, 1758) in the Southwest Caspian Sea Using Microsatellite Markers // *Journal of Fisheries and Aquatic Science*. - 2009. - Т. 4(3). - С. 161 - 168.
8. Khurshut E., Kohlmann K. Application of nine species-specific microsatellite loci to characterize three pike - perch (*Sander lucioperca*) populations from the Aral Sea basin in Uzbekistan // *Environmental biotechnology*. - 2009. - V.5. - № 1. - P. 3 - 10.

#### **Сведения об авторах:**

Сарбаканова Ш.Т. - кандидат биологических наук, заведующая отделом по разработке методов исследования и контроля продукции и сырья животного происхождения ТОО «КазНИВИ»

Шалгимбаева Г.М. - магистр биологических наук, главный ученый секретарь ТОО «КазНИИРХ»

Касымова К.Т. – научный сотрудник отдела по разработке методов исследования и контроля продукции и сырья животного происхождения ТОО «КазНИВИ»

#### **Түйін**

**КӨКСЕРКЕНІ ЖӘНЕ БЕРШТІ МОЛЕКУЛАЛЫҚ - ГЕНЕТИКАЛЫҚ  
ЗЕРТТЕУ**

Сарбаканова Ш.Т., Шалгимбаева Г.М., Касымова К.Т.



«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС  
«Қазақ ғылыми-зерттеу балық шаруашылығы институты» ЖШС

Мақалада көксерке *Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758) және берш *Sander volgensis* (Gmelin, 1789) балықтарының келтірілген ДНҚ-ың шағынсателлит зерттеу нәтижелері берштің гибридті тегін жоққа шығарып, көксерке мен берштің түрлік статусын растайды. Анықталған диагностикалық аллелдерді осы балықтарды түрлік анықтау үшін пайдалануға болады.

*Кілттік сөздер:* көксерке, берш, ДНҚ, В цитохромының гені, олигонуклеотидтік праймерлер, микросателлиттік талдау

### **Summary**

## **MOLECULAR GENETIC STUDIES OF PIKE - PERCH AND BERSH**

Sarbakanova Sh.T., Shalgimbaeva G.M., Kasimova K.T.

LLP «Kazakh Scientific - research Veterinary Institute»

LLP «Kazakh Scientific - research Institute of Fisheries»

This paper presents the results of microsatellite DNA analysis of the pike-perch *Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758) and bersh *Sander volgensis* (Gmelin, 1789), denying the hybrid origin bersh and allow reliable confirmation of species status of pike-perch and bersh. Found diagnostic alleles that can be used for species identification of these fish.

*Keywords:* pike-perch, bersh, DNA, cytochrome b gene, oligonucleotide primers, microsatellite analysis

УДК 577.21

**Ш.Т. Сарбаканова, З.А. Латыпова, Л.С. Аубекерова.**

## **ОТРАБОТКА СХЕМЫ ИЗУЧЕНИЯ АЛЛЕЛЬНОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *BOLA-DRB3* У КРС**

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме** В статье представлена схема проведения молекулярно-генетических исследований с помощью ПЦР-ПДРФ анализа для определения гена *BOLA-DRB3*, ответственного за устойчивость и предрасположенность к вирусу лейкоза (ВЛК) крупного рогатого скота.

*Ключевые слова:* лейкоз, ПЦР-ПДРФ, крупный рогатый скот, устойчивость, предрасположенность.

**Введение** Важным направлением исследований в плане разработки селекционно-генетических подходов к оздоровлению стад животных от лейкоза является изучение ассоциативных связей антигенов гистосовместимости системы BoLA-DRB3 (Bovine lymphocyte antigen) с восприимчивостью и устойчивостью крупного рогатого скота к лейкозу. Научные работы ряда авторов [1,2,3,4,5] указывают на взаимосвязь между генотипом BoLA-DRB 3 и устойчивостью животных к лейкозу.

**Материалы и методы** Для выполнения поставленных задач будут использованы молекулярно-генетические (ПЦР - ПДРФ) методы. Будет проведено выделение ДНК из отобранных образцов и проведен её анализ с применением современных методических подходов (ПЦР-ПДРФ анализ геномной ДНК), основанных на амплификации определенных участков ДНК с последующим электрофорезом и рестриктивным анализом амплифицированных фрагментов ДНК.

**Результаты и обсуждение** Изучение генетической устойчивости крупного рогатого скота к вирусу лейкоза КРС методом ПЦР-ПДРФ основано на определении генетического полиморфизма гена BoLA-DRB3 и выявлении аллелей, ассоциированных с устойчивостью или чувствительностью к ВЛКРС и ответственных за формирование иммунной реакции к вирусу. Метод ПЦР-ПДРФ, использующийся для анализа аллельного полиморфизма гена BoLA-DRB3, включает несколько этапов:

1. Выделение ДНК из крови животных.
  2. Проведение ПЦР с праймерами к гену BoLA-DRB3 для получения фрагмента длиной 284 п.о.
  3. Электрофорез в агарозном геле продуктов амплификации.
  4. Рестрикция фрагмента ДНК в 284 п.о. ферментами рестрикции RsaI, HaeIII, BstIY.
  5. Электрофорез продуктов рестрикции в полиакриламидном геле (ПААГ).
- С ДНК, выделенной из крови коров и быков-производителей, проводят полимеразную цепную реакцию с использованием праймеров, позволяющих амплифицировать фрагмент гена BoLA-DRB3 размером 284 п.о. Специфичность праймеров, подбор температуры их отжига и глубину протекания реакции ПЦР проверяют с помощью электрофореза амплифицированного фрагмента, в агарозном геле.

Частоту встречаемости аллелей определяют по формуле:

$$p = (2N_1 + N_2) / 2n$$

где  $N_1$  – число гомозигот по исследуемому аллелю,  $N_2$  – число гетерозигот,  $n$  – объем выборки.

Ожидаемую гетерозиготность рассчитывают по формуле:

$$H_e = 1 - (p^2 + q^2)$$

где  $H_e$  – ожидаемая гетерозиготность,  $p$  – частота аллеля А,  $q$  – частота аллеля В.



Из рисунка 1 видно, что на электрофореграмме во всех образцах (26, 29, 34, 35, 37,38,40, 41) присутствует амплифицированный фрагмент ДНК размером 284 пар оснований. Далее полученные ПЦР продукты подвергаются расщеплению эндонуклеазами и полученные рестриктные фрагменты ДНК анализируются электрофорезом в полиакриламидном геле (рисунок 2).

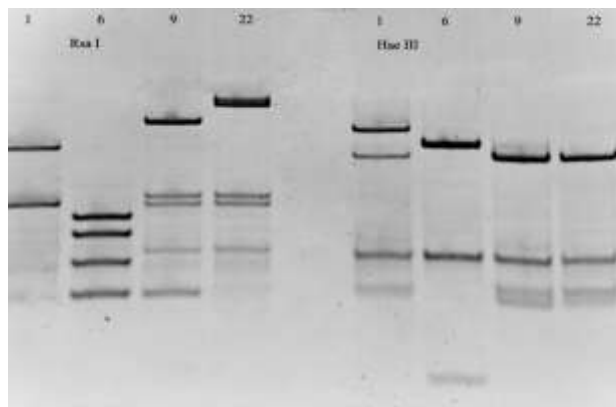


Рисунок 2 - Электрофорез продуктов рестрикции эндонуклеазами Rsa I и Hae III

На рисунке 2 показан аллельный полиморфизм гена BoLA-DRB3 образцов 1, 6, 9, 22 по двум рестриктазам Rsa I и Hae III.

**Заключение** Таким образом, полученная схема ПЦР-ПДРФ анализа для определения аллельного полиморфизма гена BoLA-DRB3, связанного с устойчивостью и восприимчивостью крупного рогатого скота к лейкозу, является оптимальной для проведения исследований отечественных пород КРС.

Полученные результаты указывают на высокую специфичность и информативность отработанного метода.

### Литература

1. Ковалюк Н. В. Молекулярно-биологические методы для оздоровления стад крупного рогатого скота от лейкоза. Ветеринария. – 2008. - № 2. – С. 22-26.
2. Удина И.Г., Карамышева Е.Е., Туркова С.О., Орлова А.Р., Сулимова Г.Е. Генетические механизмы устойчивости и чувствительности к лейкозу айрширской и черно-пестрой пород крупного рогатого скота, установленные на основе распределения аллелей гена BoLA-DRB3. Генетика. -2003. - № 39(3). – С. 383-396.
3. Juliarena M.A., Poli M., Ceriani C., Sala L., Rodriguez E., Gutierrez S., Dolcini G., Odeon A., Esteban E.N. Antibody response against three widespread bovine viruses is not impaired in Holstein cattle carrying bovine leukocyte antigen

DRB3.2 alleles associated with bovine leukemia virus resistance. J. Dairy Sci. – 2009. - 92(1): P. 375-381.

4. Mirsky, M.L. Reduced bovine leukaemia virus proviral load in genetically resistant cattle. Anim. Genet. – 1998. - № 29. – P.145-252.

5. Xu A. Polymorphism in BoLA –DRB3 Exon 2 correlates with resistance to persistent lymphocytosis caused by bovine leukemia vir. J. Immun., 1993, 151(12): 6977-6985.

#### **Сведения об авторах**

Сарбаканова Ш.Т. - кандидат биологических наук, заведующая отдела по разработке методов исследования и контроля продукции и сырья животного происхождения ТОО «КазНИВИ».

Латыпова З.А. - кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела по разработке методов исследования и контроля продукции и сырья животного происхождения ТОО «КазНИВИ».

Аубекерова Л.С. - кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела эпизоотологического мониторинга и оценки рисков возникновения бактериальных и паразитарных болезней животных ТОО «КазНИВИ».

#### **ТҮЙІН**

**Ш.Т. Сарбаканова, З.А. Латыпова, Л.С. Аубекерова.**

#### **ІРІ ҚАРА МАЛЫНЫҢ BOLA-DRB3 ГЕНІНІҢ АЛЛЕЛЬДІ ПОЛИМОРФИЗМІН ЗЕРТТЕУ СХЕМАСЫН ЖАСАУ.**

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада ірі қара малының лейкоз вирусына төзімділігі және бейімділігіне жауап беретін BOLA-DRB3 генін анықтауға арналған ПТР-РФПҰ әдісін қолдану арқылы молекулярлық-генетикалық зерттеулер жүргізу схемасы келтірілген.

*Кілт сөздер:* лейкоз, ПТР-РФПҰ, ірі қара мал, төзімділік, бейімділік.

#### **SUMMARY**

**Sh. T. Sarbakanova, Z.A. Latypova, L.S. Aubekerova.**

#### **WORKING OFF OF THE SCHEME OF STUDYING OF ALLELIC POLYMORPHISM OF THE GENE OF BOLA-DRB3 of cattle.**

«Kazakh Research Veterinary Institute» LLP

In article showed the scheme of carrying out molecular and genetic researches - PCR RFLP for definition of a gene of BOLA-DRB3 responsible for stability and predisposition to a virus a leukosis of cattle (VLK) is presented to the summary.

*Keywords:* leukosis, PCR RFLP, cattle, stability, predisposition.

UDC 576.809.7.616.981.452:636.294

## **THE STUDY OF POST-VACCINATION IMMUNITY IN LAB ANIMALS IMMUNIZED WITH EB STRAIN PLAGUE LIVE VACCINE**

**Sembina F.E., Bizhanov A.B., Namet A.M., Karataev B.Sh., Tugambayev T.I.**

LLP «Kazakh Scientific research Veterinary Institute»

**Resume.** The results of the experiments conducted in lab animals prove that out of white mice doses within the 15-25 range corresponding to equal human doses the 20-dose has the optimal immune-stimulating effect and that the further dose increase does not lead to statistically significant growth of cellular immunity.

*Keywords:* cellular and humoral immunity, hemagglutination reaction method, localized hemolytic reaction, T-lymphocyte rosette formation method, EB strain plague dry live vaccine

**Introduction** Today about 50 countries in Asia, Europe, Africa, and America have registered natural plague foci on their territories. Some of them witness human infection cases almost annually. Kazakhstan, with 40% of its territory being one vast natural plague focus, is one of them. The focus is known as the *Central Asian Plain Plague Focus* and occupies 6 – Mangystauskaya, Kyzylordinskaya, Aktyubinskaya, Almatinskaya, Yuzhno-Kazakhstanskaya, and Zhambylskaya – oblasts of the country as well as connects with another one – *Volga-Ural Sand Focus* incorporating Atyrauskaya and Zapadno-Kazakhstanskaya oblasts.

Desert rodents – hares, hamsters, gerbils, sand eels, voles – are the main plague carriers. It is them who keeps plague microbe within the epizootic system. Even in cases of small doze parenteral infection such animals' organisms are not capable of preventing its reproduction. Fleas and ticks which serve as transmitting agents feed on rodents during the periods of mass bacteremia and then infect both humans and camels by stinging them. Camel and human plague agents are identical. Every year in Kazakhstan plague is registered among rodents in various enzootic regions – natural independent plague foci.

Infection of camels occurs during intensive epizooty among rodents. The incubation period lasts anywhere from 2 to 8 days. Clinical symptoms include

high temperature, pulse arrhythmia, cud-chewing retardation, exhaustion, absence of appetite, possibility of abortions in pregnant females. The majority of registered cases are characterized by acute development and death within 5-12 days of infection. Acute infection course may switch to chronic with subsequent recovery. The period of bacteria carriage in chronically infected animals may be 30 days and more.

The disease may have bubonic, septic and pulmonary forms depending on the agent's portal of entry into organism – skin or mucous membranes. Corresponding investigation has proved the possibility of life-time (extraction of agent from blood of animals suffering from high temperature) in addition to post-mortem diagnostics. Under the corresponding instruction plague-infected camels are not treated but slaughtered with subsequent burning of corpses.

Sick camels can serve source of infection in humans. The agent may transfer in aborted fetus, blood from wounds, and nose mucus in the course of humans taking care or treating animals as well as with urine and milk. Slaughtering of camels is usually marked with group infection among humans with simultaneous occurrence of multiple foci depending on the number of people who participated in the actual slaughtering, cutting and processing of animal's internal organs. Sale of infected camel meat threatens disease spreading within the whole region.

The first mentioning of plague on the territory of Kazakhstan goes back to the beginning of XVI century when a plague epidemic hit Mangyshlak. At present prevention activities are carried out by veterinary experts in cooperation with anti-plague teams in all plague enzootic regions during intensive rodents' epizooty. All camel population is subject to insecticidal and acaricidal treatment not rarer than once a week as well as immunization with EB strain plague live vaccine. Quarantine is lifted after active plague epizooty in rodents is over based on the corresponding decision of anti-plague office.

It is not possible to “eradicate” plague but only to “limit” its spreading. As long as there are natural foci plague will exist also.

It is necessary to use the EB strain plague live dry vaccine and to conduct immunity research with the aim of discovering optimal vaccination dosage in camels. The currently applied doses have been developed more 50 years ago for vaccine batches produced at that time, and vaccinal strains have different immunogenic properties.

**Purpose:** research of humoral immunity by indirect hemagglutination reaction (IHAR) method and cellular immunity by localized hemolytic reaction for detection of antibody-producing cells (APC) by Jerne and Nordin [1] and by the T-lymphocyte rosette formation method in experimental animals immunized with EB strain plague dry live vaccine.

**Materials and Methods** Identification of immunizing human doses in white mice. The initial estimation of immunizing human dosage was done based on different EB strain vaccine doses within the framework of experiments in white mice at Aykimbayev Kazakh State Center for Quarantine and Zoonotic Diseases. 110 white mice weighting 18-20 grams were divided into 11 groups – 10

experimental and 1 control – 10 mice each. They underwent through one-time subcutaneous immunization in the volume of 0,2cm<sup>3</sup> in doses equivalent to 0,1; 0,3; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 5,0; 10,0; 20,0; 30,0 of human dose. 21 days after the immunization all animals were infected with the 20 DCL dose of viral plague microbe culture. 10 non-vaccinated mice were used as controls.

IHAR antibody titers detection was done using 2.5% erythrocyte plague anti-gene kit and a standard methodology.

For the purposes of antibody producing cells (APC) detection 5 days after vaccination 25 white outbreed mice weighting 18-20 grams were divided into 5 groups – 4 experimental and 1 control – 5 animals each. The mice of experimental groups were immunized subcutaneously with 15, 18, 20, 25 human doses of the EB strain vaccine that corresponded to white mice doses of approximately 15-150, 18-180, 20-200, 25-250 thousand microbe cells. Control group animals received 0.2cm<sup>3</sup> intraperitoneal injections of physiological solution. Reaction was registered based on the quantity of erythrocytes lysis for 1 mln splenocytes. Mice were killed with ether narcosis. Immuno-stimulation rate (IR) was calculated as a correlation between the number of APC developed after low-dose vaccination and the number of APC developed after introduction of later doses.

For the purpose of anti-gene binding lymphocytes 75 white outbreed mice weighting 18-20 grams have been divided into 5 – 4 experimental and 1 control – groups 15 animals each. Mice of skilled groups were immunized subcutaneously with 15, 18, 20, 25 human doses of the EB strain vaccine accordingly. Control group animals received 0.2cm<sup>3</sup> intraperitoneal injections of physiological solution. Reaction was registered based on the quantity of rosette forming T-lymphocytes for every 200 anti-gene binding lymphocytes (i.e., lymphocytes that bound more than 3 erythrocytes, hereinafter referred to as “rosette”). The animals were killed with ether narcosis.

**Research results** Identification of immunization human dosage in white mice

The results of the experiments on identification of immunization human doses in white mice are presented in *Table 1*. below.

Table 1. Results of the experiment on identification of immunization human dosage in white mice.

Animal groups	Experimental										Control	
												0
Subcutaneous vaccination (in human doses)	,1	,3	,5						0	0	0	Non-vaccinated
Number of animals in groups	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
Results of white mice infection 21												10/0



days after immunization (died/survived)	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	/1	/4	/7	/10	/10	
---	-----	-----	-----	-----	-----	----	----	----	-----	-----	--

In the course of the experiment it was discovered that within 10 days (monitoring period) after infection of groups vaccinated with mice doses corresponding to 20 and 30 human doses all animals survived, i.e. the results appeared identical.

#### Antigene titers IHAR based research

Since vaccination of mice in dosage identical to 20 as well as 30 human doses prevented 100% of immunized animals from infection it was decided expedient to use the 20-dose and the closest to it (15- and 25-doses) dosages for the IHAR.

For this purpose 60 white mice were divided into 4 – 3 experimental and 1 control – group 15 animals each. Experimental groups animals were vaccinated with dosage corresponding to 15, 20, and 25 human doses. Control group animals received 0.2cm<sup>3</sup> intraperitoneal injections of physiological solution.

For the purpose of identification of the number of anti-plague anti-bodies blood samples were collected from experimental animals 21, 60, and 90 days after vaccination. The corresponding results are presented in *Table 2.* below.

Table 2. IHAR results.

Animal groups		Experimental groups			Control group
		1	2	3	
Vaccination, subcutaneous, human doses		15	20	25	0,2 physiological solution, intraperitoneal
Number of mice in group		15	15	15	15
Anti-body titer within IHAR	21 days after	1792±212	3072±627	3584±572	-
	60 days after	1536±316	2304±325	2560±424	-
	90 days after	1280±256	1792±415	1792±426	-

Based on the experiments it was discovered that 90 days after vaccination antibody titers in 2<sup>nd</sup> group animals that received injections equal to 20 human doses and 3<sup>rd</sup> group animals that received injections equal to 30 human doses were identical. Based on the results of the experiments on mice it was discovered that out of dosages ranging from 0.1 to 30 human doses the mice dose equaling to 20 human doses appeared optimal for vaccination purposes.

#### Detection of anti-body producing cells (APC)

Immuno-stimulation rate was calculated as a correlation between the number of APC developed after low-dose vaccination and the number of APC developed after introduction of later doses.

As a result, on the 5<sup>th</sup> day animals of the 1<sup>st</sup> group on average generated 33±1 APC; animals of the 2<sup>nd</sup> group – 132±2 APC (IR = 4); animals of the 3<sup>rd</sup> group – 165±3 APC (IR = 5); animals of the 4<sup>th</sup> group – 167±3 APC (IR = 5).

#### Detection of the number of anti-gene binding lymphocytes

The results of rosette forming reaction are presented in *Table 3*. below.

Table 3. Results of rosette formation at different times after immunization

Animal groups	1 <sup>st</sup> experimental	2 <sup>nd</sup> experimental	3 <sup>rd</sup> experimental	4 <sup>th</sup> experimental	Control group	
Subcutaneous vaccination (in doses calculated for white mice corresponding to equal human doses)	15	18	20	25	0,2 of physiological solution (intraperitoneal)	
Number of animals	15	15	15	15	15	
Number of rosette forming lymphocytes for 200 anti-gene binding lymphocytes (in percent)	Day 3 after	4,4	4,6	4,6	4,6	-
	Day 7 after	9,8	10,0	10,2	10,6	-
	Day 21 after	11,0	11,4	12,2	11,8	0,5

The research demonstrated that intraperitoneal vaccination of white mice with camel anti-plague vaccine in doses equaling to 18 human doses results in a 4 times higher (20 human doses – 5 times higher) APC production than in case of 15 human doses injection. Increase of the quantity of vaccine up to 25 human doses did not result in any statistically substantial growth of APCs.

Based on the research of the antigene rosette formation dynamics the early growth of this indicator and the highest rate (12.2) were detected on day 21 after immunization of animals with the dose corresponding to 20 human doses.

**Conclusion.** Thus, the results of the experiments conducted in lab animals prove that out of white mice doses within the 15-25 range corresponding to equal human doses the 20-dose has the optimal immune-stimulating effect and that the further dose increase does not lead to statistically significant growth of cellular immunity.

## Literature

1. Jerne, N. K., and Nordin, A. A. Suppression of Humoral Immunity in Mice following Exposure to Perfluorooctane Sulfonate // TOXICOLOGICAL SCIENCES. - 2008. – N.104. – V.1. – P. 144–154.

### **Information about the authors:**

F.E.Sembina, candidate of veterinary sciences  
A.B.Bizhanov, PhD Veterinary Sciences, professor at LLP «Kazakh Scientificresearch Veterinary Institute»  
A.M.Namet, PhD Veterinary Sciences  
B.Sh.Karataev, PhD Veterinary Sciences  
T.I.Tugambayev, PhD Biological Sciences, professor at KSCQZD

### **Түйін**

## **ОБАНЫҢ ЕВ ШТАММЫНАН ДАЙЫНДАЛҒАН ТІРІ ВАКЦИНАМЕН ИММУНДЕЛГЕН ЗЕРТХАНАЛЫҚ ЖАНУАРЛАРДЫҢ ВАКЦИНАДАН КЕЙІНГІ ИММУНИТЕТІН ЗЕРТТЕУ**

Сембина Ф.Е., Бижанов А.Б., Намет А.М., Каратаев Б.Ш., Тугамбаев Т.И.

«Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Антигенспецификалық розеткатүзілуді зерттеу барысында көрсеткіштің жоғарылауы анықталды, ең жоғарғы көрсеткіш (12,2) 20чел/доза мөлшерінде вакциналанған жануарларда, вакцинациядан кейінгі 21 тәулікте байқалды.

Жүргізілген зерттеулер нәтижесі бойынша түйе обасына қарсы вакцинаны 18чел/доза есебімен ақ тышқандарға парентеральды егу 15чел/доза мөлшерінде екенге қарағанда АОК түзілуін 4 есеге, ал 20чел/доза мөлшерінде егу 5 есеге арттырды. Егілген вакцина мөлшерін 25чел/доза арттырғанда АОК түзілу көрсеткішінің статистикалық маңызды жоғарылауы байқалмады.

*Кілттік сөздер:* торшалы және гумарольды иммунитет, гемагглютинация реакциясы, Т-лимфоциттердің розеткатүзу реакциясы, ЕВ штаммынан дайындалған құрғақ, тірі вакцина

### **Резюме**

## **ИЗУЧЕНИЕ ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ ЧУМНОЙ ЖИВОЙ ВАКЦИНОЙ ИЗ ШТАММА ЕВ**

Сембина Ф.Е., Бижанов А.Б., Намет А.М., Каратаев Б.Ш.,  
Тугамбаев Т.И.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

При исследовании антигенспецифического розеткообразования в динамике выявлено раннее нарастание этого показателя, причем наиболее высокий уровень (12,2) установлен на 21 сутки исследования у животных вакцинированных дозой, тождественной 20 чел/дозам.

В результате проведенных исследований выявлено, что парентеральное введение белым мышам вакцины против чумы верблюдов в дозе для белых мышей, тождественной 18 чел/дозам вызывает выработку АОК в 4 раза больше, а 20 чел/доз в 5 раз больше, чем при введении 15 чел/доз. Увеличение вводимой дозы вакцины до 25 чел/доз не приводило к существенному статистически значимому увеличению количества вырабатываемых АОК.

*Ключевые слова:* клеточный и гуморальный иммунитет, реакция гемагглютинации, реакция розеткообразования Т-лимфоцитов, сухая живая вакцина из штамма ЕВ.

УДК 619:616.981.42(574)

## **ЭПИЗОТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО БРУЦЕЛЛЕЗУ ЖИВОТНЫХ В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН**

**Султанов А.А., Барамова Ш.А., Абуталип А.А., Оспанов Е.К.,  
Тайтубаев М.К.**

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье представлены результаты проведенного мониторинга за эпизоотической ситуацией по бруцеллезу животных в РК на основании изучения статистических данных ветеринарной отчетности за последние 3 года.

*Ключевые слова:* мониторинг, бруцеллез, скрининг, КСР, МРС

Современные условия ведения животноводства, основу которого составляют различные по величине и принадлежности (частные или государственные) сельхозформирования, создали достаточно сложные задачи, связанные с мониторингом эпизоотической ситуации, мобильной диагностикой и профилактикой бруцеллеза животных. Изменение структуры животноводческой отрасли потребовало от ветеринарной службы проведения тщательного анализа эффективности существующих схем профилактических и оздоровительных мероприятий, которые в последние годы базировались на применении научно-обоснованных перспективных методов диагностики и санитарно-ветеринарных мер.

Бруцеллез животных, являясь хроническим инфекционным заболеванием, имеет тенденцию к быстрому и широкому распространению,

серьезно препятствуя сохранению и увеличению численности поголовья, а также повышению продуктивности и улучшению качества получаемой продукции. Это заболевание приводит не только к гибели и преждевременной выбраковке животных, но и ставит под угрозу сохранение племенных стад, стабильное ведение селекционно - племенной работы, влияя на развитие экономики, мешая продаже и обмену животными.

Бруцеллез имеет социальное значение, так как при этой инфекции поражаются все жизненно важные органы человека (печень, почки, селезенка, сердце, костный мозг, органы слуха, зрения, опорно-двигательная система, центральная нервная и защитная систем организма). При бруцеллезе инвалидность среди заболевших людей достигает от 50% и более, а летальный исход согласно статистическим данным равен 1-5%.

Мероприятия по борьбе с бруцеллезной инфекцией должны быть направлены на разрыв эпизоотической цепи, основными звеньями которой является источник возбудителя инфекции, механизм передачи его и здоровое восприимчивое животное, находящееся в зоне возможного заражения. Для этого необходимо проводить работу по выявлению и ликвидации основного источника возбудителя болезни, уничтожению заразного начала во внешней среде и предохранению от заболевания здорового поголовья.

В связи с тем, что существующая новая технология ведения животноводства, в какой-то степени повлияла на ухудшение эпизоотической ситуации по бруцеллезу животных, первоочередной задачей ветеринарных специалистов сегодня, является своевременное и полнообъемное проведение эпизоотологического мониторинга за бруцеллезом животных во всех регионах страны, что даст возможность провести объективную оценку эпизоотической обстановки по данному заболеванию в каждом конкретном сельском округе и отдельном хозяйстве области, выявить факторы, способствующие распространению инфекции и влияющие на интенсивность течения эпизоотического процесса.

Исходя из актуальности проблемы наши научные исследования были посвящены проведению эффективного скрининга, основанного на выявлении больных бруцеллезом животных с помощью комплекса рутинных и современных информативных тестов серологических и микробиологических исследований, включающих определение видов бруцелл и их субтипирование, изучение путей распространения и факторов передачи, патогенеза болезни. Полученные результаты собственных исследований могут быть важны для эпидемиологического надзора и могут быть использованы при разработке эффективных средств борьбы с бруцеллезом животных.

За отчетный период уточнена эпизоотическая ситуация по бруцеллезу животных путем анализа статистических данных РГП «РВЛ» и данных областных Департаментов ветеринарного надзора МСХ РК за последние 3 года. В результате проведенных исследований отмечен рост процента заболевших бруцеллезом животных в целом по республике.

Определена динамика и степень проявления бруцеллезной инфекции среди КРС и МРС и других видов животных в разрезе районов, областей регионов и в целом по РК.

Результаты анализа официальных статистических данных РГП «РВЛ» по эпизоотической ситуации по бруцеллезу среди МРС и КРС в разрезе областей страны с 2012 по 2014 годы представлены в таблице 1.

Анализ состояния эпизоотической ситуации за последние 3 года в разрезе областей РК показал рост степени проявления бруцеллезной инфекции среди КРС в 2014 году по сравнению с 2013 и 2012 годами в следующих областях: ЗКО – 1,7% против 1,5 и 1,28%, Карагандинской - 1,3% против 1,2 и 0,55%, Актюбинской – 1,1% против 0,97 и 0,67%, соответственно.

Высокая степень напряженности эпизоотической ситуации по бруцеллезу КРС отмечена и в хозяйствующих субъектах города Астаны, в которых заболеваемость составила в 2013 году - 1,8%; в 2014 году -,1,7%.

За последние 4 года в республике наблюдается динамика повышения заболеваемости бруцеллезом среди данного вида животных (рисунки 1 и 2).

Таблица 1 - Результаты диагностических исследований КРС на бруцеллез за 2012-2014 годы

№ п/п	Наименования областей и регионов	2012 год			2013 год			2014 год		
		Исслед.	Выяв. реаг.	% реаг.	Исслед.	Выяв. реаг.	% реаг.	Исслед.	Выяв. реаг.	% реаг.
1	Акмолинская	530517	2504	0,47	199 354	537	0,3	258275	943	0,4
2	Актюбинская	653684	4400	0,67	492 768	4 553	0,97	342177	3851	1,1
3	Атырауская	226030	964	0,43	184 282	1 428	0,8	150 230	852	0,5
4	Алматинская	771240	670	0,1	402 188	592	0,1	505127	562	0,1
5	Талдыкорганский	599416	311	0,05	324 413	405	0,1	528566	233	0,04
6	ВКО	699287	2988	0,427	372 775	2 154	0,6	3000	69	2,3
7	Семипалатинский	580512	1817	0,31	292 695	1 683	0,6	413 800	2 235	0,5
8	Жамбылская	500000	970	0,19	306 470	724	0,2	329007	0	0,0
9	ЗКО	493595	6319	1,28	323 217	4 773	1,5	369 035	6 601	1,7
10	Карагандинская	718680	3927	0,55	302 711	3 582	1,2	368788	4759	1,3
11	Жезказганский	107320	212	0,2	40 620	313	0,8	47306	267	0,5
12	Кызылординская	344 529	195	0,06	259 061	135	0,13	231181	68	0,0
13	Костанайская	606723	4099	0,68	329 832	2 321	0,7	414 654	4 682	1,1
14	Мангистауская	16115	5	0,03	13 736	0	0	15560	0	0,0
15	Павлодарская	495600	3295	0,66	327 701	3 050	0,9	350101	4764	1,3
16	СКО	467589	1125	0,24	260 147	585	0,2	383 277	682	0,2
17	ЮКО	1282656	446	0,03	947 099	332	0,0	854970	497	0,0
18	г.Астана	1635	0	0,00	89 023	1 646	1,8	99929	1710	1,7
19	Всего	9095128	34247	0,3	5 468 092	28 813	0,6	5546171	32775	0,6

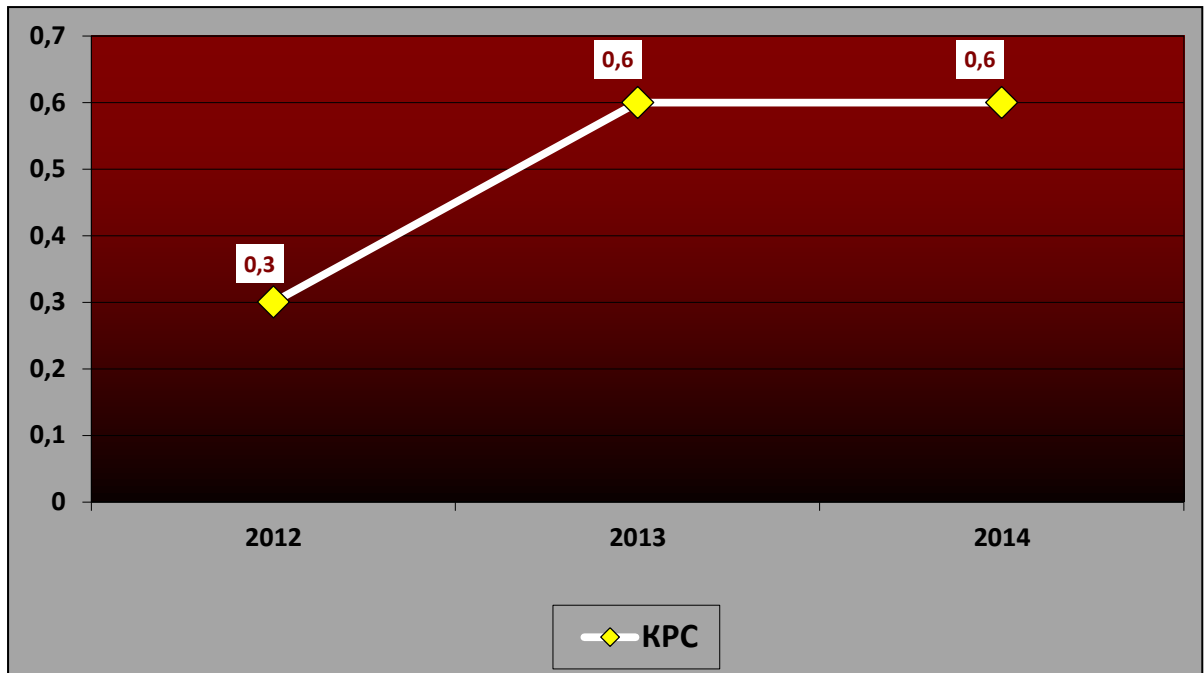


Рисунок 1 - Динамика заболеваемости бруцеллезом КРС в целом по РК с 2012 по 2014 годы (%)

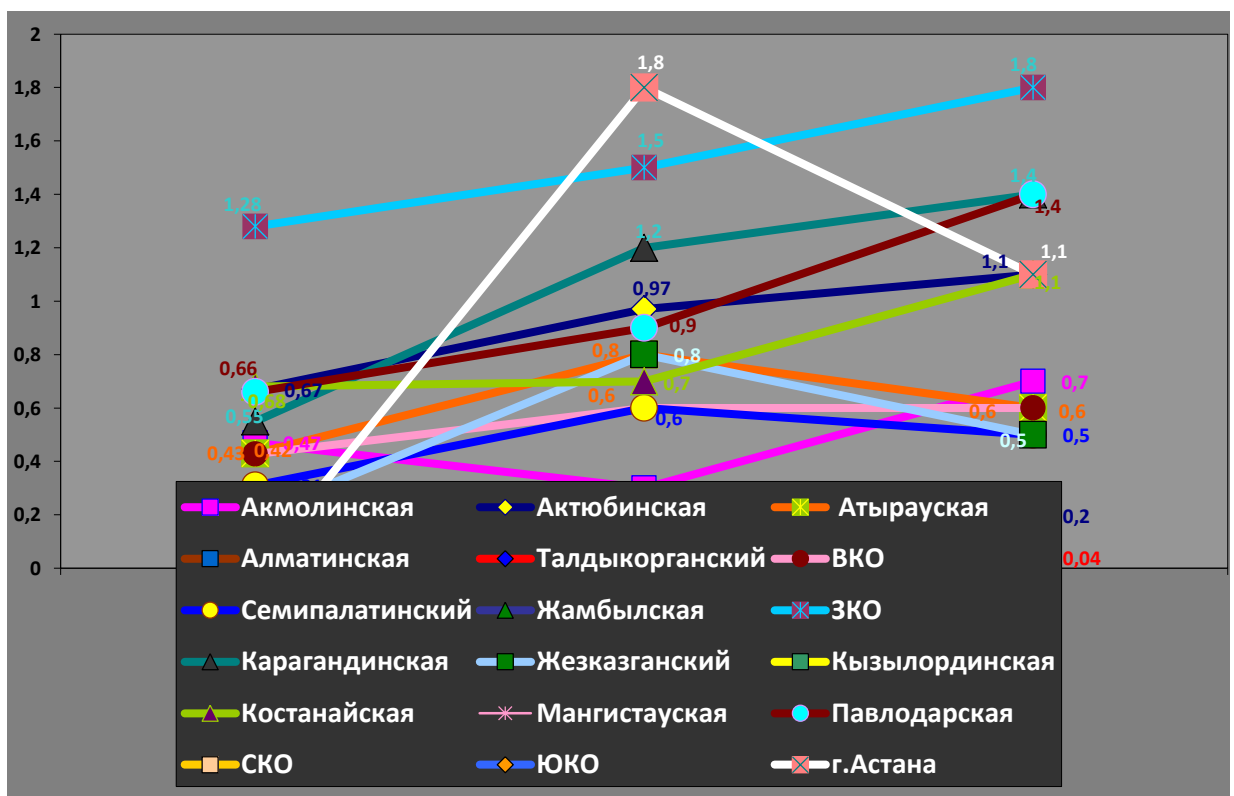


Рисунок 2 – Динамика заболеваемости бруцеллезом КРС в разрезе областей республики с 2012 по 2014 годы (%)



Как показывают данные таблицы 1 и рисунка 1, в целом по республике за последние годы отмечаемая динамика количества зараженного бруцеллезом КРС характеризуется резким повышением показателей. Так, например, если в 2012 году на бруцеллез положительно реагировало 0,3 % КРС, то в 2013 году этот показатель почти удвоился и равнялся 0,6%, находясь на этом же уровне в 2014 году-0,6%.

Данные рисунка 2 показывают резкое ухудшение эпизоотической обстановки по бруцеллезу КРС в некоторых областях республики. Так, например, в Павлодарской области, в 2014 году показатель заболеваемости КРС повысился с 0,9% до 1,4% по сравнению с предыдущим годом, который, в свою очередь, по сравнению с 2012 годом возрос на 0,24%. Неблагоприятная ситуация, характеризующаяся заметным стабильным ростом уровня заболеваемости КРС бруцеллезом, наблюдается и в Костанайской области. В этой области отмеченное в 2013 году улучшение эпизоотической ситуации по данной инфекции, когда не было выявлено ни одно положительно реагирующее животное, по сравнению с 2012 годом (показатель заболеваемости равнялся 0,68%%), сменилось ухудшением в 2014 году (показатель заболеваемости- 1,1%). ,

В 2014 году по республике были объявлены неблагополучными по бруцеллёзу КРС 91 пункт, содержащих 41467 голов скота. Из указанного числа неблагополучных пунктов было оздоровлено только 27 пунктов, а 64 пункта перешли на 2015 год - Акмолинской области – 1, Актюбинской – 16, ВКО – 20, ЗКО – 5, Карагандинской – 10, Костанайской – 9, СКО – 3.

Анализ результатов проведенных РГКП «РВЛ» диагностических исследований МРС на бруцеллез за последние годы представлен в таблице 2.

При анализе результатов массовых диагностических исследований в животноводческих хозяйствах республики за последние 3 года, установлена нестабильная скачкообразная динамика эпизоотической обстановки по бруцеллезу МРС (рисунок 3).

Как показано в таблице 2 и на рисунке 3, если зараженность МРС бруцеллезом в 2012 году составляла 0,13, то в 2013 году он уже достиг 0,5%, а в 2014 году этот показатель в целом по республике снизился до 0,3% (49237 голов). Динамика заболеваемости МРС в разрезе областей представлена на рисунке 4.

Таблица 2 - Результаты диагностических исследований МРС на бруцеллез за 2012-2014 годы

№ п/п	Наименования областей и регионов	2012 год			2013 год			2014 год		
		Исслед.	Выяв. реаг.	% реаг.	Исслед.	Выяв. реаг.	% реаг.	Исслед.	Выяв. реаг.	% реаг.
1	Акмолинская	459450	1188	0,3	324 725	338	0,1	294277	291	0,1
2	Актюбинская	1779791	2826	0,16	1272 205	3 514	0,3	816987	3953	0,5
3	Атырауская	749251	332	0,04	630 342	1 206	0,2	538350	1 853	0,3
4	Алматинская	2211257	2843	0,13	1 297 243	3 700	0,3	1084802	5181	0,5
5	Талдыкорганский	1957382	2213	0,11	1 227 006	2 639	0,2	1184323	4226	0,4
6	ВКО	1725625	6060	0,351	818 018	4 948	0,6	793315	4975	0,6
7	Семипалатинский	2418019	3858	0,16	1 028 366	2 732	0,3	841900	4283	0,5
8	Жамбылская	4356382	11540	0,3	1 997 377	9 145	0,5	1953593	11647	0,5
9	ЗКО	1090654	3085	0,28	805 565	2 042	0,3	724335	2077	0,2
10	Карагандинская	1458400	614	0,04	670 982	343	0,1	581594	881	0,2
11	Жезказганский	57900	0	0	100 890	0	0	84550	51	0,0
12	Кызылординская	990 782	636	0,06	804 370	502	0,1	671469	916	0,1
13	Костанайская	350013	388	0,11	404 311	558	0,1	300000	694	0,2
14	Мангистауская	655769	0	0	612 417	0	0	427316	0	0,0
15	Павлодарская	645840	472	0,07	552 310	205	0,0	509992	1371	0,2
16	СКО	364872	35	0,01	342 783	79	0,0	283339	34	0,0
17	ЮКО	6415035	2422	0,04	4 246 087	2 336	0,1	4190421	2982	0,0
18	г.Астана	1530	28	1,83	150 741	1 813	1,2	146768	2393	1,6
19	Всего	27687952	38540	0,13	7 285 738	36 100	0,5	15143992	47808	0,3

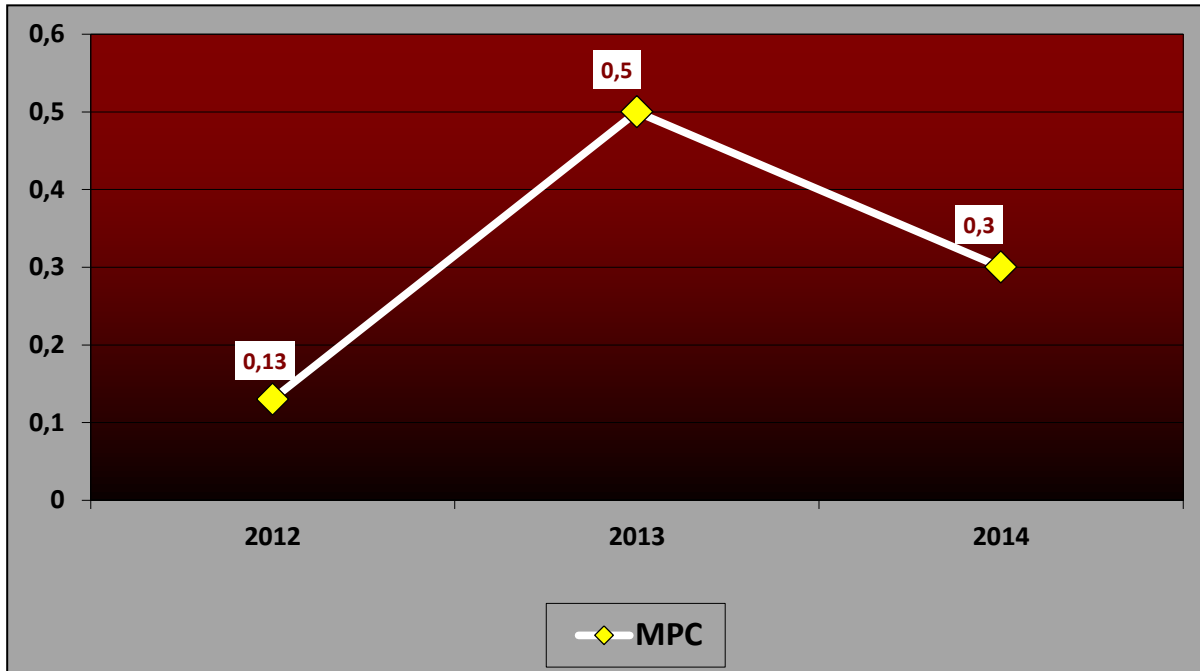


Рисунок 3 – Динамика заболеваемости бруцеллезом MPC в РК с 2012 - 2014 годы, (%)

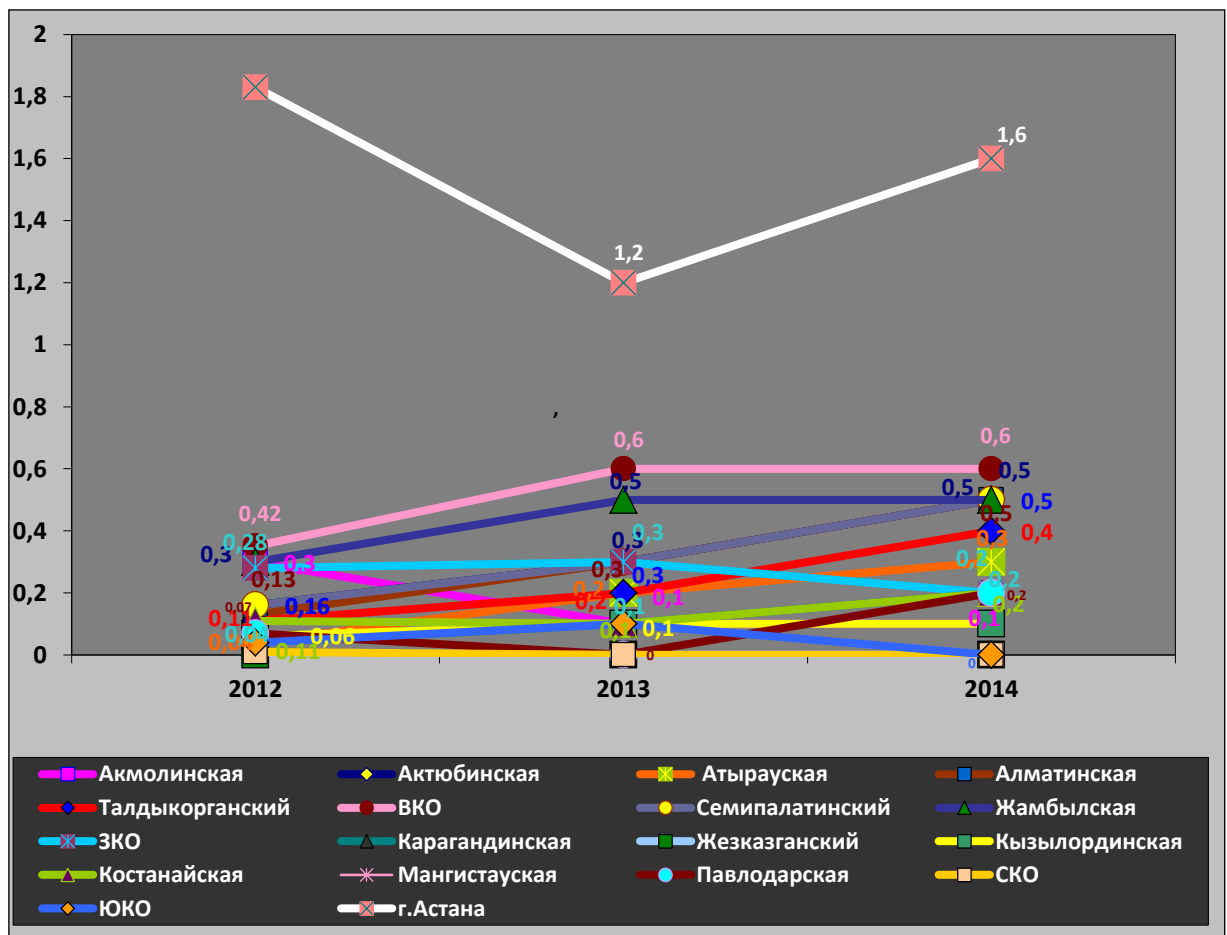


Рисунок 4 – Динамика заболеваемости бруцеллезом MPC в разрезе областей республики с 2012 по 2014 годы

Наблюдения за динамическими изменениями количественных показателей заболеваемости бруцеллезом МРС за последние 3 года, приведенных на рисунке 4, показывают, что самые высокие проценты реагирующих на бруцеллез МРС были зафиксированы в 2012 году в Акмолинской, ЗКО, ВКО и Жамбылской областях – по 0,3. В последующие годы (2013, 2014) снижение заболеваемости бруцеллезом МРС из числа названных областей отмечено только лишь в Акмолинской области – до 0,1% в 2013 и 2014 годы.

Существенное ухудшение эпизоотической ситуации по бруцеллезу МРС по сравнению с 2012 годом в 2013 и 2014 годах отмечено в ВКО – по 0,6%, соответственно. Аналогичное стабильно последовательное повышение неблагополучия МРС по бруцеллезу наблюдается также в Жамбылской области, где зараженность бруцеллезом в 2013 и 2014 годах составила 0,5%.

Подъем уровня заболеваемости в 2014 году по сравнению с предыдущими годами зафиксирован в Актюбинской (до 0,5%), Атырау-ской (до 0,3%), Алматинской до (0,5%), в т.ч. в Талдыкорганском регионе (0,33%), а также в Семипалатинской регионе (до 0,5%). Указанные данные свидетельствуют, что во всех вышеперечисленных областях республики отмечается тенденция к повышению числа заболевших бруцеллезом животных к концу 2015 года.

В отдельных областях РК (например, в Павлодарской), несмотря на регистрацию, достаточно высоких показателей заболеваемости бруцеллезом среди КРС и МРС не отмечено ни одного позитивного случая среди других видов животных (верблюдов, лошадей, свиней, маралов).

Таким образом, анализ статистических данных ветеринарной отчетности по результатам диагностических исследований в разрезе областей РК позволил установить достаточно высокий уровень напряженности эпизоотической ситуации по бруцеллезу животных в республике, что требует принятия незамедлительных мер по повышению эффективности проводимых профилактических и оздоровительных мероприятий.

#### **Сведения об авторах:**

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

Барамова Ш.А. - доктор биологических наук, профессор, заведующая отделом эпизоотологического мониторинга и оценки рисков бактериальных и паразитарных болезней животных ТОО «КазНИВИ»

Абуталип А. - доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник отдела эпизоотологического мониторинга и оценки рисков бактериальных и паразитарных болезней животных ТОО «КазНИВИ»

Оспанов Е.К. – кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела эпизоотологического мониторинга и оценки рисков бактериальных и паразитарных болезней животных ТОО «КазНИВИ»

## Түйін

### ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНДА ЖАНУАРЛАРДЫҢ БРУЦЕЛЛЕЗ АУРУЫ БОЙЫНША ЭПИЗООТИКАЛЫҚ ЖАҒДАЙЫ

Сұлтанова А.Ә., Барамова Ш.А., Әбутәліп А., Оспанов Е.К., Тайтубаев М.К.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада бруцеллезге шалдыққан жануарларды микробиологиялық және серологиялық заманауи ақпараттық тесттер және рутинді жиынтық көмегімен анықтауға негізделген эффективті скрининг нәтижелері көрсетілген.

*Кілттік сөздер:* мониторинг, бруцеллез, скрининг, ІҚМ, ҰҚМ

## Summary

### EPIZOOTIC SITUATION ON BRUCELLOSIS IN ANIMALS IN THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

Sultanov A.A., Baramova Sh.A., Ospanov E.K., Taytubaev M.K.

LLP «Kazakh scientific research veterinary institute»

The article shows the results by carrying out effective screening, based on the detection of brucellosis-affected animals with the help of routine and complex modern informative tests serological and microbiological studies.

*Keywords:* monitoring, brucellosis, screening, cattle

УДК 579.62

### РЕЗУЛЬТАТЫ ПАССАЖИРОВАНИЯ КУЛЬТУРЫ FUSOBACTERIUM NECROPHORUM И FUSIFORMIS NODOSUS

**Суцких В.Ю., Б. Канатов Б.**

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме** Приведены данные о возможности восстановления вирулентных свойств у культур *Fus. necrophorum* и *F. nodosus* при их однократном пассажировании через организм кролика.

*Ключевые слова:* возбудитель, пассаж, некробактериоз, копытная гниль

**Введение** Известно, что основным принципом изучения факторов, связанных с вирулентностью бактерий, является сравнительное исследование свойств (культуральных, биохимических, серологических и др.) вирулентных и авирулентных штаммов одного и того же вида.

Патогенные бактерии отличаются от сапрофитов по своей способности инфицировать организм хозяина и вызывать симптомы заболевания. Эти симптомы проявляются только в том случае, если проникшие в организм хозяина бактерии не будут быстро уничтожены его защитными механизмами, а, напротив, станут активно размножаться [4].

Для преодоления защитных сил макроорганизма патогенные бактерии в процессе своего становления, как эволюционной единицы, приобрели ряд признаков, определяющих их инвазивность, приживаемость, распространяемость, токсигенность и другие свойства патогенности.

Некоторые из признаков патогенности бактерий мало изучены, другие уже хорошо известны – это факторы, связанные с образованием гемолизина, коагулазы, лицитиназы, фибрилизина и гиалуронидазы. Как правило, признаки вирулентности полидетерминанты [1].

Известно, что анаэробные бактерии синтезируют и секретируют ряд белков, служащих факторами вирулентности. Так, наиболее значимыми из них являются - гепариназа, способствующая внутрисосудистому свертыванию, коллагеназа опосредует деструкцию тканей, энтерото- и эндотоксины повреждающие цитоскелет энтероцитов, изменяя их секреторные свойства,

Для проявления полной вирулентности анаэробных штаммов и возбудителей некробактериоза и копытной гнили, в частности по отношению к мышам и кроликам они должны обладать антигенами, образующими белковые комплексы с оболочкой клетки, обуславливающими устойчивость к фагоцитозу.

Большинство ученых бактериологов предполагают, что не идентифицированный фактор вирулентности должен обязательно существовать, поскольку обнаружены штаммы, наделенные всеми известными детерминантами и, тем не менее, характеризующиеся пониженной вирулентностью [2].

Современные исследования подтверждают, что большинство структур генетического аппарата бактерий, принимающих участие во взаимоотношениях с организмом хозяина, характеризуются как определенные биохимические процессы [5].

Предполагается, что свойства, определяющие вирулентность бактерий, находятся под таким же генетическим контролем, как и другие признаки, которые зависят от образования и активности специфических ферментов.

Вирулентность является конечным результатом взаимодействия между хозяином и паразитом и регулируется определенными наследственными свойствами бактерий и хозяина.

Ряд экспериментальных исследований показал, что формирование всех заложенных в генотипе признаков патогенности осуществляется лишь в организме животного, чувствительного к этому возбудителю.

Микроорганизмы же, выращенные на искусственной питательной среде, должны пройти фазу трансформации в организме, прежде чем проявить полностью свою вирулентность [3].

Таким образом, для реализации факторов патогенности, характеризующих данный генотип, микроб должен вступить в контакт с определенным ингредиентом-индуктором, с которым он встречается в нейтрофилах или моноцитах восприимчивых животных, но который отсутствует в искусственно приготовленной питательной среде.

Цель исследований Для подтверждения вышеуказанных данных в лабораторных условиях были проведены опыты по реверсии вирулентности у штаммов возбудителей некробактериоза и копытной гнили, утративших этот признак.

**Материалы и методы исследований** В эксперимент были взяты эпизоотические культуры, выделенные от больных животных в ряде хозяйств Алматинской области. Все опытные культуры были условно очищены термически (трехкратным нагреванием до 70 °С в течение 10 минут) и проведены через организм 8-10 дневных крольчат - сосунков.

Все опытные культуры *Fus. necrophorum* и *F. nodosus* характеризовались выраженной пониженной вирулентностью. Так, 24-часовые культуры не вызывали заболевания и/или гибели ни мышей, ни кроликов.

**Результаты и обсуждение** В результате пассажа через организм крольчат 5 культур из 6 проявляли высокую патогенную активность. При дальнейшем их изучении данные культуры вызывали заболевание всех опытных белых мышей. Кроме того, они приобрели дополнительные характеристики - сбраживать молоко и разжижать желатин (ранее отсутствующие у исходных культур).

**Заключение** Данные эксперимент дает основание предполагать наличие регуляторного механизма изменчивости микроорганизмов, основанный на включении в цепь универсального дерепрессора ферментной природы, имеющегося в организме крольчонка-сосунка.

Таким образом, однократный пассаж культур с пониженной патогенностью через организм кролика значительно повысил их вирулентные свойства, а также изменил некоторые биохимические показатели.

## Литература

1. Кадымов Р.А. и др. Ветеринарная микробиология.-М.: Колос, 1982.
2. Осидзе Д.Ф. Инфекционные болезни животных.- М.: Агропромиздат, 1987.
3. Болезни копыт. Животноводство и ветеринария. Ветеринарный справочник. 2. 2014.
4. Антонов Б.И. и др. Лабораторные исследования в ветеринарии: Справочник.- М.: Агропромиздат, 1986.
5. Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических методов исследований.- М.: Медицина, 1968.

### **Сведения об авторах:**

Сущих В.Ю. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Канатов Б. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

### **Түйін**

## **FUSOBACTERIUM NECROPHORUM ЖӘНЕ FUSIFORMIS NODOSUS ӨСІНДІЛЕРІНІҢ ӨСУ НӘТИЖЕЛЕРІ**

Сущих В.Ю., Канатов Б.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Бұл мақалада кролик организмі арқылы бір рет жұқтырылып, қайта бөлінген *Fus. necrophorum* және *F. nodosus* өсінділерінің вируленттік қасиеттерін қалпына келтіру мүмкіншілігі туралы мәлімет келтірілген.

*Кілттік сөздер:* ауру қоздырғышы, пассаж, некробактериоз, тұяқ шірімесі

### **Summary**

## **THE RESULTS OF THE CULTIVATION FUSOBACTERIUM NECROPHORUM AND FUSIFORMIS NODOSUS CULTURE**

Suchshikh V. U., Kanatov B.

LLP "Kazakh scientific – research veterinary institute"

The data on the recovery from the virulent cultures *Fus. necrophorum* and *F. nodosus*, when the body through a single rabbit passazhirovani.



*Keywords:* pathogen, passage, necrobacillosis, foot rot

ӘОЖ: 619:616.995.121

## **БАТЫС ҚАЗАҚСТАН ОБЛЫСЫ БОЙЫНША ЛАРВАЛЬДЫ ЭХИНОКОККОЗДЫҢ ТАРАЛУЫ**

**Тажбаева Д.Т., Аманжол Р.А., Мурзабаев К.Е., Тулегенова Г.И.**

«Батыс Қазақстан ғылыми-зерттеу ветеринария станциясы» Қазақ ҒЗВИ  
ЖШС филиалы  
Жәңгір хан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық университеті

**Түйін** Бұл мақалада Батыс Қазақстан облысындағы эхинококкоздың таралу аймағы көрсетілген. Инвазиялық аурулардың экономикалық және әлеуметтік зияны қарастырылған.

*Кілттік сөздер:* эхинококкоз, ауру ошағы, инвазия экстенсивтілігі

**Кіріспе** Инвазиялық аурулар барлық жерде таралып дүние жүзі елдерінің бәрінде тіркелген. Үй және жабайы малдардың барлығы да осы аурулармен ауырады. Инвазиялық аурулардың экономикалық және әлеуметтік зияны орасан зор.

- Малдың жаппай қырылуы, бірінші кезекте мал төлінің әсіресе протозооздарда (пироплазмидоз, тейлериоз, эймериоздар және т.б.), гельминтоздарда (диктиокаулез, мониезиоз, фасциолез тағы с.с.) байқалуы;

- Ет, сүт, жұмыртқа, жүн өнімділігінің азаюы және олардың тауарлық, қоректік сапаларының күрт төмендеуі.

**Өзектілігі** Қойлардың гельминтоздарының ішінде, қазіргі уақытта, ең көп тарағаны – эхинококкоз.

Эхинококкоз (гидатидоз) – *Echinococcus granulosus* цестодасының балаңқұрт сатысы тудырған созылмалы ауруы.

Ларвалды эхинококкозға 60 жуық сүтқоректілердің: қой, ірі қара мал, жылқы, есек, шошқа, зебу, қодас, буйвол, елік, сайғақ, бұғы және т.б.түрлері, сонымен бірге адам мен маймыл бейім.

Аралық иелерінде ларвоцисталар бауырда, талақта және кейде басқа ұлпалар мен мүшелерде (кейде тіпті сүйек пен тарамыста) дамиды. Қазақстанның барлық аймағында жылдың барлық мезгілдерінде кездесіп, қой шаруашылығының дамуына үлкен зиян келтіреді. Сондықтан эхинококкозды зерттеу жұмыстары қазіргі уақытта жалғасуда, осы ретте әртүрлі препараттар сыналып, олардың экстенс және интенс тиімділіктері анықталып, өндіріске ғылыми ұсыныстар дайындалып, енгізілуде.

Эхинококкоздың таралу жиілігіне байланысты Қазақстан территориясын шартты үш аймаққа бөлген. Эхинококкоздың ең көп тараған аймағына Батыс Қазақстан облысында енеді (2000-2009 жылдар С.О. Ордабеков деректері бойынша) 1 суретте қарастырылған.



Сурет 1 - Батыс Қазақстан облысында эхинококкоз індетінің таралуы

Батыс Қазақстан облысында эхинококкоз індетінің таралуын аудандарға бөліп көрсек мынадай суретке көзіміз жетеді.

Тұтынушылардың құқығын қорғау департаментінің статистикалық талдауларының нәтижелері бойынша адамдар арасындағы эхинококкоз ауруының таралу деңгейі анықталды.

Соңғы төрт жылда облысымыз бойынша адамдар арасындағы эхинококкоз ауруының 2011-2014 жылдар мен салыстырғанда төмендегені байқалып отыр, алайда бұл мүлдем жоқ деген сөз емес (кесте 1).

Кесте 1 - БҚО бойынша адамдар арасындағы эхинококкоз ауруының таралуы 2011 - 2014 жж.

№	Аудандар	Эхинококкоз		
		2011	2012	2013
1	Ақжайық	1	3	2
2	Бөкейорда	0	0	0
3	Бөрлі	0	0	0
4	Жаңғала	1	1	0
5	Жәнібек	2	2	2
6	Зеленов	2	4	2
7	Қазталов	3	2	1
8	Қаратөбе	1	1	3
9	Сырым	4	2	2
10	Тасқала	0	0	0
11	Теректі	3	7	2

12	Шыңғырлау	0	3	0
13	Орал қаласы	22	11	11
<b>Облыс бойынша</b>		<b>39</b>	<b>36</b>	<b>25</b>

Адам ағзасындағы эхинококкоздың ең көп тараған мүшесі бұл бауыр - 54,24% екендігі көрсетілсе қалған мүшелерде таралуы шамамен суретке сәйкес өкпеде -26,1%, бүйректе -4,0%, көк бауырда -2,3%, ішекте -1,5%, жүректе -1,4%, сүйек, ми және бұлшықетте -0,8%, қалқанша безде -0,3% болады.

Батыс Қазақстан облысының шаруашылық бағыты – мал шаруашылығы. Мал шаруашылығы кешені негізінен ірі қара шаруашылығы мен қой шаруашылығынан тұрады. Көптеген зерттеулердің нәтижесі бойынша мал шаруашылығы жануарларында эхинококкоз өте көп кездеседі.

Батыс Қазақстан облысында мүйізді ірі қара 16,0-75,0%, қойлар 16,2-53,7%, шошқалар 2,9-21,7%, түйелер 21,8-70,0% шамасында залалданғаны зерттелген.

М.Ш.Шалменовтың мәлімдегеніндей облыс аумағында эхинококкоздың тұрақты ошағы төмендегідей белгіленді:

1. Облыс аумағында ауру ошағы тіркеліп, онда 100 мың халықтың жыл сайын 30-дан астам адамы осы ауруға шалдығады. Осындай ауру ошағына жататыны – Тасқала ауданы;

2. 30% аумағының тұрақты ошағына жататыны (орта есеппен жылына 12 адам ауырады): Қаратөбе, Сырым, Шыңғырлау аудандары;

3. 20% аумағының тұрақты ошағына жататыны: Ақжайық, Бөрлі, Зеленов, Теректі аудандары және Орал қаласы.

Аумақта эхинококкоздың тұрақсыз ошақтарына жататыны: Бөкейорда, Жанғала, Жәнібек, Қазталов аудандары. Мұнда 100 мың халыққа орташа көрсеткіші 0,5-4,0%.

Батыс Қазақстанда соңғы жылдары жүргізілген зерттеу деректері бойынша тіркелгені: 2340 қойды тексергенде эхинококкозға шалдыққаны 655, яғни 28%. 3120 ірі қараны тексергенде эхинококкозға шалдыққаны 47, яғни 9% көрсетілген.

Батыс Қазақстан облысының түрлі аудандарында 2223 бас қой, 783 бас мүйізді ірі қара және 79 бас шошқа эхинококкозбен зақымданған. Ересек мүйізді ірі қараның инвазия экстенсивтілігі 12,5%-дан 57,7%-ға дейін, 1 жасқа дейінгі шошқаларда 25,3%-ға дейін болса, 3-4 жастағы қойларда ауруға шалдығу 7,8-ден 68,2% аралығында болғаны анықталған.

Эхинококктың мал ағзасында 7-8 жыл өмір сүретінін есепке алсақ, осы кеселден ауылшаруашылық саласы көптеген экономикалық шығынға ұшырайтынын көпшіліктің біле бермейтіні өкінішті.

Атап айтқанда, эхинококкозға душар болған әр 100 саулық қойдан 12 төл кем алынып, әр қойдан 200 г жүн аз қырқылып, сойылған әр қойдан 2,2 килограмм ет кем алынады екен. Бұл ауруға ұшыраған сиыр сүтті екі есе аз беретіні белгілі.

Эхинококкоз адам денсаулығына да елеулі зиян келтіруде. Онымен ауырған әрбір адамды емдеу үшін орта есеппен 1 500 000 нан аса қаражат керек екен. Оған қоса сырқаттың жан қиналысын, жақындарының көңіл-күйін, олардың күйзелісін қосыңыз. Қанша адам денсаулығын жоғалтып, мүгедектер санына қосылады. Кейбір адамдардың кеселі қайталанып, қайтадан екі-үш рет операция столына түсіп жатады. Сондықтан, эхинококкозды жәй ғана кесел деп санап, оған жеңіл-желпі қарау түсінбеушілік болады.

Шаруашылық шығындары малдың өлімінен, ет, сүт, жүн өнімдерінің төмендеуінен және жас малдың өспеуінен туындайды. Бұл мәселені зерттеу 60 жылдардан басталған. Шығынды есептеуге байланысты алғашқы жұмыстар ет өнімдерімен эхинококкоз жұқтырған ауру мүшелердің массасын салыстыру жолымен жүргізілді. Эхинококкоз малдың семіздігін төмендететіндігі анықталды.

**Әдістер мен материалдар** Копрологиялық зерттеу Фюллеборн әдісі. Етқоректілер гельминттер фаунасын жануарлардың ішек-қарын жолдарын толық гельминтологиялық К.И. Скрябиннің зерттеу әдісімен анықтадық. Қарындағы заттарды реттік шаю әдісі арқылы зерттедік.

**Өзіндік зерттеулер** Эхинококкоздың таралу деңгейін зерттеу жұмыстарын иттердің гельминттерін тексеру арқылы анықтадық. Зерттеу жұмыстары Батыс Қазақстан ғылыми зерттеу ветеринария стансасында Скрябин бойынша толық емес жарып сою арқылы қаламыздың әртүрлі аудандарынан ауланып әкелген бұралқы иттерді жарып сою арқылы жүргізілді. Сойылған иттердің ішектерінен түгелдей эхинококкоз құрттары табылды.

Қаламыздың әртүрлі аймақтарынан ұсталынып әкелінген бұралқы қаңғыбас иттерді толық гельминтологиялық жарып сою (Скрябин К. И.) әдісімен зерттеу барысында ТГЗ нәтижесінде сойылған 10 иттің түгелдей гельминттермен залалданғанын микроскоптың көмегінсіз көрдік. Нәтижесі төмендегі кестеде келтілді (кесте 2).

Кесте 2 - Иттердің гельминттермен зақымдалуы

Гельминт атаулары	түрлерінің	Деркөл ауданы		Зашаған ауданы		Желаев кенті
		бас	%	бас	%	бас
		3	100	3	100	4
Тения гидатигена		1	33,3	-		2
Мультицепс-мультицепс		1	33,3	-		2
Э. гранулезус		3	100	3	100	4
Дипилидиум Канинум		3	100	3	100	4
Токсокара Канис		3	100	2	67	4
Токсаскарис Леонина		2	67	1	33,3	3

**Қорытынды** Эхинококкоз Қазақстан территориясындағы ауыл шаруашылығы малдарының арасында кең таралған. Ауруды жұқтыру бейімділігі солтүстіктен оңтүстікке қарай өсе түсетіндігі байқалады. Мал жасының өсуіне инфекцияның экстенсивтілігіне байланысты екендігі нақты анықталған. Мұндай заңдылық паразиттің физиологиялық дамуына немесе өсуіне қатысты. Семіз мал орташа семіздіктегі малдан гөрі 3-5 есе аз ауыратыны байқалған. Қошқарларға қарағанда саулықтардың эхинококкозбен ауыруы екі есе жоғары. Бұл малдың экологиялық және физиологиялық жағдайына байланысты. Эхинококкоздың экономикалық зияны да едәуір, өйткені мал өнімі көбеймейді, ет, сүт, жүн өнімдері төмендейді және мал басы өспейді. Дегенмен мал өнімі аса байқалмауы мүмкін, өйткені ауру малды сол жерде сояды немесе ет комбинатына өткізеді.

Эхинококкоз адам мен мал денсаулығына едәуір зиян келтіретін елдің экономикасына зиян келтіретін медицина және ветеринарияның маңызды проблемасы болып табылады. Әрбір шаруашылық жыл сайын эхинококкозбен ауыратын 100 қойға байланысты 220 кг ет, 50 бауыр, 30 өкпе, 20 кг жүн және 7-12 қазы ала алмайды. Бұл кезде өмірлік маңызы бар паренхиматоздық органдар-өкпе, бауыр, ми және т.б. бүлінеді.

### **Әдебиеттер**

1. Сулейменов М.Ж., Серикбаев Б.К., Кереев Я.М., и др. Основные гельминтозы овец и меры борьбы с ними в Республике Казахстан. – Рекомендации. – А., 2006. – 29 с.
2. Аманжол Р.А. Возрастная и сезонная динамика ассоциативных инвазий овец в Западно-Казахстанской области // мат. межд. науч. –практ. конф. «Актуальные проблемы современной ветеринарии», посвящ. 65-летию ветеринарной науки Кубани. – Ч. II. – Краснодар, 2011. – С. 17 – 19.
3. Шалменов М.Ш. Научные основы борьбы с эхинококкозом в Западном Казахстане: автореф. ....дисс. док. вет. наук. – А., 2009. - 54 с.

### **Иегерлер туралы мағлұмат:**

Тажбаева Д.Т. - «ҚазҒЗВИ» ЖШС «Батыс Қазақстан ҒЗВС» филиалының ғылыми қызметкері

Аманжол Р.А. – ветеринария ғылымдарының кандидаты, «ҚазҒЗВИ» ЖШС «Батыс Қазақстан ҒЗВС» филиалының директоры

Мурзабаев К.Е. - ветеринария ғылымдарының кандидаты, БҚАТУ кафедра меңгерушісі

Тулегенова Г.И. - магистрант, «ҚазҒЗВИ» ЖШС «Батыс Қазақстан ҒЗВС» филиалының ғылыми қызметкері

### **Резюме**

## РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЛАРВАЛЬНОГО ЭХИНОККОКЗА В ЗКО

Тажбаева Д.Т., Аманжол Р.А., Мурзабаев К.Е., Тулегенова Г.И.

Филиал «Западно - Казахстанская научно – исследовательская ветеринарная станция» ТОО «КазНИВИ»  
ЗКАТУ им. Жангир хана

В статье приведены распространение эхинококкоза в Западно – Казахстанской области и экономической и социальной ущерб от инвазионных заболеваний.

*Ключевые слова:* эхинококкоз, очаг болезни, экстенсивность инвазий

### Summary

#### THE PREVALENCE OF LARVAL ECHINOCOCCOSIS IN THE WEST KAZAKHSTAN REGION

Tazhbaeva D.T., Amanzhol R.A., Murzabaev K.E., Tulegenova G.I.

Branch « West Kazakhstan Scientific - Research Veterinary Station»  
West Kazakhstan Agrarian Technical University of Zhangir Khan

This article describes the spread of echinococcosis in the West - Kazakhstan region. Economic and social damage from invasions diseases.

*Keywords:* echinococcosis, hearth disease, extent of invasions

**УДК 619.:616.81**

#### ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ ЖИВОТНЫХ В ЮКО

**Телелева М.В.**

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме.** Проведен эпизоотологический мониторинг антракса за 1935-2015 гг. в ЮКО. Изучено географическое распространение сибирской язвы, выявлены пространственные связи эпизоотического процесса с предполагаемыми причинными факторами среды.

*Ключевые слова:* сибирская язва, территория, очаг, захоронение

**Введение** Сибирская язва (антракс) - высококонтагиозное особо опасное заболевание человека и животных. Однажды, возникнув на определенной территории, она сохраняет опасность повторных вспышек инфекции на многие десятилетия, ввиду высокой патогенности и способности возбудителя длительное время сохраняться в почве и даже размножаться в ней. Ежегодно практически во всех странах мира среди животных и людей регистрируются заболевания антраксом. Значимость инфекции подтверждается многочисленными сообщениями ученых на международных конференциях по сибирской язве [1,2,3,4,5,6].

На территории Южно-Казахстанской области случаи возникновения сибирской язвы регистрируются периодически, что дает основание считать её по-прежнему опасной инфекцией [7,8,9,10,11].

Современная статистика регистрирует новые вспышки болезни в ранее благополучной и «ожившие» старые очаги в стационарно неблагополучной местности по причине земляных работ, природных катаклизмов и т.п. Зарегистрированные ранее очаги, которые не проявляют в данный момент активности, текущей статистикой не учитываются. Сведения о них можно получить из сибиреязвенных кадастров, отчетов, эпизоотических журналов и эпизоотических карт, публикаций. Однако эти места гибели животных или захоронения сибиреязвенных трупов остаются потенциально опасными [12,13,14].

На сегодняшний день по ЮКО не систематизированы сведения о наличии и месторасположении сибиреязвенных захоронений, скотомогильников с учетом их климато-географических характеристик, метеорологических и экологических факторов, картографического положения, а также прогнозирования инфекции. Исходя из этого, разработка новых подходов к эпизоотологическому мониторингу, индикации и дифференциальной диагностики сибирской язвы остаются актуальными для ветеринарной науки и практики.

**Материалы и методы исследований** Для оценки эпидемиологической ситуации в ЮКО были использованы данные официальной статистической регистрации заболеваемости сибирской язвой за 1960–2014 гг. Анализ динамики численности животных основывался на материалах ветеринарной инспекции каждого неблагополучного по сибирской язве района. Оперативный эпизоотологический анализ в очагах сибирской язвы проводился на основе карт эпидемиологического расследования очагов.

**Результаты и обсуждение.** Анализ эпизоотологической ситуации показал, что в ЮКО имеется всего 128 известных сибиреязвенных захоронений и 280 не известных.

Приведенные данные сделаны на анализе представленных документов каждого района, так же методом опроса врача эпизоотолога и ведущих специалистов ветеринарного отдела.

В Южно-Казахстанской области установлена сезонность вспышек сибирской язвы. Наиболее часто проявление болезни отмечается в жаркие месяцы с июля по август. Последний случай регистрации вспышки сибирской язвы отмечен в 2003 году в Толебийском районе. В 2008 году заболел и погиб человек в с. Алгабас, источник заражения человека не установлен.

Благополучным по сибирской язве является Шардаринский район.

Установлены несоответствия по имеющимся в документах по Сарыагашскому району и г. Туркестан.

Указанное в документации, одно захоронение датируемое 08.2006 годом Тегисшилкий сельский округ с. Енкес фактически не существует.

По указанному в кадастре одно сибиреязвенное захоронение, расположенное в Бабай Курганский сельский округ с. Бабай-Корган отгонное пастбище «Актума» от 05.08.2008 вписан ошибочно, так как его географически и документально по Туркестанскому сельскому округу не существует.

В результате изменения территориальных границ из г. Кентау передано одно сибиреязвенное захоронение в г. Туркестан, на него подготовлены соответствующие документы, принятие на баланс должно состояться в ближайшее время.

Всего по районам скотоубойных площадок 64, скотоубойных пунктов 31. Всего в Южно-казахстанской области функционируют 42 ямы Беккери, 194 скотомогильника из них 22 типовых и 172 приметивных. В Махтаральском, Толебийском и Сайрамском районах нет ни одной ямы Беккери, строительство их не планируется, используются скотомогильники. Во всех районах имеются трупосжигательные печи.

Вакцины используемые для профилактики сибирской язвы в ЮКО имеют разных производителей. Необходимо в Сайрамском, Тюлькубасском, Арыском и Отырарском районах изменить сроки весенней вакцинации и утвердить ее с 20 февраля по 20 марта, для более комфортных условий адаптации животных. Эффективность противоэпизоотических мероприятий составляет 90 %.

**Заключение** Установлено, что в Южно-Казахстанской области имеется 128 известных очагов, и 280 неизвестных. Сезонность вспышек сибирской язвы отмечалась в жаркие месяцы года с июля по август. Последний случай вспышки сибирской язвы зарегистрирован в 2003 году по Толебийскому району. Благополучная эпизоотологическая ситуация установлена в Шардаринском районе. Установлены несоответствия по сибиреязвенным очагам в Сарыагашском и Туркестанском районах. В связи с изменением территориальных границ г. Кентау один сибиреязвенный очаг передан на баланс г. Туркестан.

## Литература



1. Антонов, Б.И. Лабораторные исследования в ветеринарии: справочник / Б.И. Антонов, В.В. Борисова, П.М. Волкова.- М.: Агропромиздат, 1986.-С. 5-11.
2. Бакулов, И.А. Сибирская язва сельскохозяйственных и диких животных и меры профилактики в России / И.А. Бакулов // Вопросы микроб., эпи-зоот. и вет.-сан. экспертизы: сб. науч. работ.- Ульяновск, 1998.-С. 10-20.
3. Безнадежных, И.С. Основы эпидемиологического анализа / И.С. Безнадежных.- М.: Медицина, 1966.-С. 177.
4. Васильев, П.Г. Актуальные проблемы сибирской язвы: биология и индикация возбудителя, клиника, патоморфология и диагностика заболевания: Автореф. Дис.докт.биол.наук/П.Г. Васильев.-Казань,2000.-С. 3-
5. Ведерников, В.А. Сибирская язва опасна по-прежнему / В.А. Ведерников, И.А. Бакулов, В.А. Гаврилов //Ветеринарная газета.-1995.-№20.- С. 3.
6. Сибирская язва: новые данные по эпизоотологии, диагностике и профилактике болезни / И.А. Бакулов и др. // Сборник НТД.- М.: Информагротех, 1996.-40 с.
7. Вершинский, Б.В. Географические аспекты эпидемиологии / Б.В. Вершинский, М.Я. Никитин, К.Н. Токаревич // Сб. науч. тр. Ленинградского института эпидемиологии и микробиологии им. Пастера.-Л., 1970.-Т.37.-С. 27-40.
8. Разработка способов и технических средств полевой индикации возбудителей инфекционных заболеваний животных на основе генных зондов / Р.В. Белоусова и др. // Вопросы ветеринарной биологии: сб. науч. тр. МГАВМиБ им. К.И. Скрябина.- М.-1994.-С. 68-70.
9. Урбах, В.Ю. Математическая статистика для биологов и медиков / В.Ю. Урбах.- М: Изд-во АН СССР., 1963.-323 с.
10. Ургуев, К.Р. Эпизоотология и меры борьбы с особо опасными болезнями животных / К.Р. Ургуев, Х.М. Ашаханов // Ветеринария.-2000.- №1.-С. 8-11.
11. Черкасский, Б.Л. Эпидемиология и профилактика сибирской язвы / Б.Л. Черкасский.- М.: Интерсэн, 2002.-384 с.
12. Лухнова, Л.Ю. , и др Эпидемиологическая ситуация по сибирской язве в 2014 году в Казахстане// Медицина 2014. -№ 11.С-11-23.
13. Генная диагностика особо опасных инфекций: состояние, проблемы, перспективы / Г.Г. Онищенко и др. // Генодиагностика инфекционных заболеваний: сб.тез. IV Всерос. научно-практ. конф.-М.,2002.- С.285-286.
14. Ипатенко, Н.Г. Зоны проявления сибирской язвы / Н.Г. Ипатенко, В.А. Гаврилов, Н.Т. Татаринцев // Сибирская язва.- М.: Колос, 1996.-С. 105109.

#### **Сведения об авторе:**

Телелева М.В. - кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела эпизоотологического мониторинга и оценки риска бактериальных и паразитарных болезней животных ТОО «КазНИВИ».

**Түйін**  
**ОҚО-ДА СІБІР ЖАРАСЫНА ЭПИЗООТОЛОГИЯЛЫҚ МОНИТОРИНГ**  
**ЖҮРГІЗУ**

Телелева М.В.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Оңтүстік Қазақстан облысы төңірегінде 280 белгісіз және 128 белгілі індет ошақтары анықталған. Топалаңның шығу мезгілдері жаз мезгілінің шілде-тамыз айларында жиі байқалады. Индет ошағының соңғы рет тіркелуі 2003 жылы Толе би ауданында болса, Шардара ауданының індеттік жағдайы сәтті болғандығы анықталды. Сарыағаш, Түркістан аудандарында топалаң індеті ошақтары бойынша сайкес емес. Кентау қаласының аймақтық шекараларының өзгеруіне байланысты Топалаң індетінің бір ошағы Түркістан қаласының бақылауына берілді.

*Кілттік сөздер:* топалан, аймақ, ошақ, өлексе көмілген жер

**Summary**

**EPIZOOTOLOGIK MONITORING OF ANTHRAX OF ANIMALS IN THE**  
**SOUTH-KAZAKHSTAN AREA**

Telelyayeva M. V.

LLP «Kazakh scientific-research veterinary institute»

It is set that there are 128 well-known hearths in the South-Kazakhstan area, and 280 unknown. Seasonality of flashes of anthrax registered in the hot months of year from July for August. The last case of flash of anthrax is registered in 2003 on Tolebu region to the district. A safe epizootology situation is set in Shardara region district. Disparities are set on anthrax hearths in Saryagash and Turkestan districts. In connection with the change of territorial borders Kentau one anthrax hearth is passed on balance of Turkestan city.

*Key words:* anthrax, territory, hearth, burial place

УДК 619:616.968

# ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТИБОБРУЦЕЛЛЕЗНЫХ ВАКЦИН ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

Тен В.Б., Абуталип А., Матихан Н.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме** В статье приводится характеристика вакцин применяемые для профилактики бруцеллеза животных и результаты разработки и перспективы неживой вакцины КазНИВИ против бруцеллеза животных.

*Ключевые слова:* бруцеллез, профилактика, вакцина

Результаты борьбы с бруцеллезной инфекцией в РК в настоящее время, основанные только лишь на диагностических исследованиях животных с удалением больного скота показало, что оздоровление неблагополучных хозяйств от бруцеллеза крупного рогатого скота, с широким распространением инфекции, без применения средств специфической профилактики недостаточно эффективно [1,2].

В последние годы в Казахстане не проводится вакцинация сельскохозяйственных животных от бруцеллеза в связи с планируемым вступлением нашей страны во Всемирную торговую организацию. Отказ от иммунизации животных в РК был связан с доказанностью высокой патогенности вакцин из штаммов *B.abortus* 19 и 82, *B.melitensis* Rev-1 для животных и человека, миграции из иммунизированного организма животного в неиммунный, трансформации в разные формы, длительно сохраняющееся поствакцинальная серопозитивность в организме вакцинированных особей, которую трудно отличить от таковых зараженных бруцеллезом животных.

Во многих странах мира применяют противобруцеллезные вакцины, например в России, до сих пор применяют для крупного рогатого скота живую вакцину из шт. *B. abortus* 82 и инактивированную (убитую) вакцину KB 17/100, а для мелкого рогатого скота вакцину из шт. *B. melitensis* Rev-1. В Америке применяют для иммунизации крупного рогатого скота живую вакцину из шт. *B. abortus* RB-51 [3,4,5,6]. Преимущества и недостатки живых вакцин приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Характеристика применяемых живых вакцин

Название вакцин	Преимущества	Недостатки
<i>B.abortus</i> шт. 19 (S форма)	Предохраняет животных от заболевания бруцеллезом в 60-80% случаях, слабопатогенна, неабортотгенна	Длительная поствакци-нальная серопозитивность (до 5 лет), персистенность, высокая реактогенность
<i>B. abortus</i> 82 (SR форма)	Предохраняет от заражения бруцеллезом 70-90% живот-ных, проявление поствак-цинальных антител 3-5 мес и более	Абортотгенность, миграция на неиммунный организм, высокая реактогенность, патогенность, реверсия, применяется только

		для к.р.с. в разные сроки
<i>B.melirensis</i> Rev-1 (S форма)	Предохраняет от заражения бруцеллезом 80-95% случаях	Абортогенность, миграция на неиммунный организм, высокая реактогенность, патогенность, реверсия, применяется только для м.р.с. в разные сроки
<i>B. abortus</i> RB-51 (Rформа)	Предохраняет от заражения бруцеллезом 40-50% живот-ных, не вызывает образования S-антител, слаботоногенна, слабореактогенна, неабортогенна, не продуцирует S-антитела	Низкая иммуногенность, возможная абортогенность, не изученность продолжительности иммунитета

В настоящее время наибольшую популярность в мире приобрели экологически безопасные профилактические препараты из инактивированных вакцинных штаммов бруцелл, использование которых для иммунизации животных в ветеринарной практике решило многие серьезные проблемы, имеющиеся при вакцинации животных живыми штаммами – их миграцию на здоровых животных, длительную персистенцию в организме, трансформацию и мутацию до состояния, неулавливаемой стандартными серологическими тестами.

Убитые (неживые) вакцины позволяют обходить вышеуказанные недостатки, отмеченные у живых вакцин, иммунодефицитные состояния за счет использования в её составе пролонгатора и иммуностимулятора.

В странах Европы, где проблема полной ликвидации бруцеллеза окончательно не решена и временами регистрируется указанная инфекция, используются инактивированные противобруцеллезные вакцины: в Голландии - вакцина для крупного рогатого скота «Diphavak» из штамма *B.abortus* 45/20; во Франции вакцины из штамма *B.melitensis* 53N38 «Aborlane». Аналогом французских препаратов является неагглютиногенная адьювант-вакцина из штамма *B. abortus* KB 17/100, разработанная К.В. Шумиловым с соавторами (1988-1995 гг.) в ВГНКИ [7,8].

В РК в КазНИВИ разработка неживой вакцины против бруцеллеза животных проводилась с 1988-2007 гг. в рамках выполнения госпрограммы 042 «Прикладные исследования в АПК».

Изыскания протективных антигенов проводились в период с 1980 по 1988 гг., а с 1988 по 1996 гг. - разработка неживых вакцин. За это время приобретен значительный опыт в области разработки методов инактивации бруцелл и выделения из них антигенов, определена иммуногенная активность различных антигенов, в частности различных структур клеток бруцелл и фракций, полученных с применением различных физико-химических методов. Также были разработаны способы получения адьювантов, иммуностимуляторов для создания композиции неживой вакцины против бруцеллеза животных. Были проверены безвредность, реактогенность и иммуногенность созданных композиций в лабораторных и производственных условиях.

Разработанные в КазНИВИ препараты испытаны на лабораторных и сельскохозяйственных животных в сравнении с живыми вакцинами, ранее регламентированными в Республике Казахстан. Преимущества и недостатки используемых неживых вакцин приведены в таблице 2.

Таблица 2 - Характеристика применяемых неживых вакцин

Название вакцин	Преимущества	Недостатки
V.melirensis 53H38-Aborlan (S форма)	Обладает высокими иммуногенными свойствами, безопасна в употреблении, создает иммунитет до 80-85%.	Выраженная местная реакция и длительная поствакцинальная серопозитивность, антитела персистируют в сыворотке крови до 3 лет.
V. abortus 45/20 – Abortox (R форма)	Создает иммунитет до 75-80 % безопасно в употреблении, неабортотенна, не синтезирует S антитела, провоцирует выявления скрытобольных.	Выраженная реактогенность, необходимость использования огромного количества микробных клеток.
V. abortus 17/100 (R форма)	Препарат обеспечивает оздоровление хозяйств в короткие сроки (6-15 месяцев), создает иммунитет до 85%.	На месте введения препарата образуется горячий отек, приводящая к образованию абсцессов.
Неживая вакцина против бруцеллеза животных КазНИВИ (S форма)	Безвредна, слабореактогенна, экологически безопасна, стабильна, неабортотенна, создает иммунитет до 80-90%. Применяется для всех видов и половозрастных групп животных, одномоментно.	Поствакцинальные титры сохраняются до 3-5 мес.
Инактивированная вакцина против бруцеллеза животных КазНИВИ (S форма)	Безвредна, слабореактогенна, экологически безопасна, стабильна, неабортотенна, создает иммунитет до 80-100%. Применяется для всех видов и половозрастных групп животных, одномоментно.	Поствакцинальные титры сохраняются до 7-8 мес.
Инактивированная вакцина про-тив бруцеллеза животных КазНИВИ (R форма)	Безвредна, слабореактогенна, экологически безопасна, стабильна, неабортотенна, создает иммунитет до 70-80% , не синтезирует S антитела, спровоцирует скрытобольных.	Недостатки не отмечены.

Было установлено, что при иммунизации морских свинок вакцинами V.abortus 82, Rev-1 в дозе 2 млрд. КОЕ (S- форма) и неживой вакциной КазНИВИ противостояло заражению до 90% особей, вакциной V.abortus 19 - до 70%, инактивированной вакциной против бруцеллеза животных КазНИВИ (S форма) не заразилось до 100 % животных, а при введении

инактивированной вакцины КазНИВИ из штамма 960/W<sub>1</sub> (R форма) уровень иммунитета морских свинок достигал до 80%.

Таким образом отмечено, что разработанные в КазНИВИ вакцины по иммуногенной активности не уступают живой вакцине из шт. 82, при этом на изготовление неживой вакцины против бруцеллеза животных и инактивированной вакцины против бруцеллеза животных требуется в 3 раза меньше колоний образующих единиц (КОЕ), а на изготовление инактивированной вакцины против бруцеллеза животных 960/W<sub>1</sub> требуется равное с шт. 82 количество КОЕ (100 млрд.).

Необходимо отметить, что разработанная в КазНИВИ неживая и инактивированная вакцина из R-форм бруцелл не имеет аналогов в мире, так как вакцины подобного класса содержат инактивированный (убитый протективный ) штамм и пролонгатор, тогда как предлагаемые нами вакцины содержат дополнительно иммуностимулятор.

Себестоимость одной дозы неживой или инактивированной вакцины из S или R-форм составляет примерно 300 тенге, тогда как стоимость одной дозы российской вакцины из шт. 17/100 – 400 тенге, а американской вакцины RB-51 – 450-500 тенге.

Экономическая эффективность применения неживой противобруцеллезной вакцины равна в среднем 58000 тенге на 1 голову крупного рогатого скота или 193,3 тенге на 1 тенге затрат. Экономическая эффективность складывается из сохранения поголовья продуктивных животных, приплода, молока, экономии затрат на проведение организационно-хозяйственных, ветеринарно-санитарных мероприятий.

Таким образом неживые и инактивированные вакцины КазНИВИ имеют большую перспективу, являются надежными иммуногенными вакцинными препаратами, отвечают всем требованиям ветеринарной практики, а именно: вакцины слабоаглютиногенные, экологически безопасные, безвредные, высокоиммуногенные, неабортгенные кроме того, инактивированная вакцина против бруцеллеза животных КазНИВИ (R форма) провоцирует выявление скрытобольных, не продуцирует S антитела, что позволяет проводить плановые серологические исследования животных на бруцеллез в любые сроки после вакцинации. Все перечисленные позитивные факторы помогут вакцине занять должное место в ветеринарии для иммунизации животных от бруцеллеза. Учитывая полученные положительные результаты при испытании неживой вакцины КазНИВИ в лабораторных и производственных условиях, мы предлагаем применять неживую (S-форма) и инактивированную (R-форма) из штамма 960/W<sub>1</sub> вакцину в неблагополучных по бруцеллезу хозяйствах республики.

## Литература

1. Иванов Н.П. Бруцеллез животных методы и средства борьбы с ним. – А., 2002. - С. 250 - 251.

2. Минжасов. К.И. Бруцеллез крупного рогатого скота и меры борьбы с ними. - Петропавловск, 1999. – 132с.
3. Салмаков К.М., Плотников Е.С. Эффективность применения живой противобруцеллезной вакцины из штамма 82 на крупном рогатом скоте // Тезисы доклад. Всесоюз. межведомств. конф. Современные проблемы зоонозных инфекций. – М., 1981. - С.212 - 214.
4. Касымов Т.К., Ким В.И., Калмыков В.В., Шумилов К.В. Иммуногенность адъювант-вакцины из шт. V.abortus KB 17/100 // Ветеринария. – М., 2002. - №5. – С.10 - 12.
5. Alton G.G., Elberg S.S. Rev. 1 Brucella melitensis vaccine: a review of ten years of study // Vet. Bull. 37. - 1967.- P.793–800.
6. Palmer M., Olsen S., Cheville N. Safety and immunogenicity of Brucella abortus strain RB51 vaccine in pregnant cattle // American J. Vet. Res. 58. - 1997. - P. 472 – 477.
7. Шумилов К.В. и др. Иммуногенные свойства инактивированных адъювант-вакцин из штаммов 45/20 и 53Н38 // Сб.науч.тр. ВНИИБТЖ, Омск, 1990. – С. 53 - 56.
8. Тен В.Б. Методологические основы изготовления и совершенствования профилактических противобруцеллезных препаратов и диагностических средств: автореф...дисс. докт. вет. наук. – А., 1996. - 45 с.

#### **Сведения об авторах:**

Тен В. Б. – доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник отдела эпизоотологического мониторинга и оценки рисков бактериальных и паразитарных болезней животных ТОО «КазНИВИ»

Абуталип А. - доктор ветеринарных наук, профессор, отдела эпизоотологического мониторинга и оценки рисков бактериальных и паразитарных болезней животных ТОО «КазНИВИ»

Матихан Н. - PhD докторант отдела эпизоотологического мониторинга и оценки рисков бактериальных и паразитарных болезней животных ТОО «КазНИВИ»

#### **Түйін**

### **МАЛ БРУЦЕЛЛЕЗИНІҢ АЛДЫН АЛУҒА ҚОЛДАНЫЛАТЫН ВАКЦИНАЛАР СИПАТТАМАСЫ**

Тен В.Б., Әбутәліп Ә., Матихан Н.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада мал бруцеллезінің алдын алуға қолданылатын вакциналар сипаттамасы және ҚазҒЗВИ-да жасалынған өлі вакцина тиімділігі мен болашағы жайлы сөз болады.

*Кілттік сөздер:* бруцеллез, алдын алу, вакцина

### Summary

#### CHARACTERISTICS OF VACCINE AGAINST BRUCELLOSIS FOR ANIMAL

Ten.V.B., Abutalip A., Matihan H.

LLP «Kazakh scientific research veterinary institute»

The article presents characteristics of vaccines used for prevention of animal brucellosis and results of development and prospects of nonliving vaccines of KazSRVI against animal brucellosis.

*Keywords:* brucellosis, prevention, vaccine

УДК616.91+591.557.83

#### О БИОЛОГИЧЕСКОМ МЕТОДЕ БОРЬБЫ С КОНГО-КРЫМСКОЙ ГЕМОМРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКОЙ В УСЛОВИЯХ ЮЖНО-КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ

**Тоганаев Ж.К., Кожабаяев М., Есиркепов М.М., Жанбырбаев М.**

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

Южно-Казахстанская государственная фармацевтическая академия

**Резюме** В статье отражены результаты исследований по применению биологического метода борьбы с Конго-Крымской геморрагической лихорадкой в ЮКО с использованием естественных паразитов (*Hunterellus hookeri*) переносчиков этого опасного заболевания – клещей.

*Ключевые слова:* Конго-Крымская геморрагическая лихорадка, биологический метод, суперпаразитизм, *Hunterellus hookeri*

**Введение** Конго-Крымская геморрагическая лихорадка (ККГЛ) – особо опасное вирусное заболевание с большим процентом летальности до (40%), которое встречается во многих странах мира [1,2,3].



В последние годы из-за ослабления противоклещевых мероприятий на территории Южно-Казахстанской области резко увеличилось количество иксодовых клещей, которые являются переносчиками вируса ККГЛ, вызывающие нежелательные последствия у людей и домашних животных [4].

В связи этим на республиканском и областном уровнях предпринимаются противоклещевые меры путем обработки животных и животноводческих помещений, которые, однако, не обеспечивают желаемую эффективность [5,6].

Кроме того, известно, что после неоднократных обработок у клещей появляется устойчивость к применяемому препарату и тем самым снижается эффективность борьбы с клещами. Химические препараты обладают остаточной токсичностью и оказывают негативное влияние на организм животных и человека, нарушается экологическая обстановка. Сообщения об этом опубликованы ещё 40-50 лет назад [7].

Учитывая остроту данной проблемы, с целью предотвращения распространения ККГЛ среди людей, предупреждения чрезвычайных ситуаций, а также для определения источника заражения с последующей его ликвидацией на территории Южно-Казахстанской области, научными сотрудниками Южно-Казахстанской НИВС и лаборатории Южно-Казахстанской академии фармацевтики предлагается альтернативный вариант химическому методу – биологический метод борьбы с клещами с использованием насекомых-наездников.

Возникла необходимость разработки метода биологической борьбы с ККГЛ путем использования естественных паразитов - иксодовых клещей.

**Материал и методы исследования** В лабораторных условиях выращивали насекомых-наездников. Отлов взрослых особей проводили в хозяйствах Туркестанского и Ордабасинского районов Южно-Казахстанской области. Из 1672 собранных иксодовых клещей обнаружена естественная зараженность насекомыми – наездниками у 96 иксодовых клещей, что составляет 6%.

Для определения естественной зараженности иксодовых клещей насекомыми – наездниками был проведен видо-популяционный анализ полученного материала.

**Результаты и обсуждение** Из собранных 1672 иксодовых клещей был определен видовой состав клещей. Из них *Hyalomma detritum* -39%, *Hyalomma anatolicum* – 27%. 50 особей самок клещей, не зараженных вирусом, разместили в 10 стеклянных банках и в каждую банку впустили по одной особи насекомых – наездников *Hunterellus hookeri*. При непосредственном содержании насекомые откладывали яйца в тело всех особей самок клещей. В результате в банке №1 выделено 158 насекомых – наездников, в банке №2 соответственно – 163, № 3 – 148, № 4- 171, № 5 -169, № 6 – 179, № 7- 182, № 8- 130, № 9 – 186, № - 189. Всего из 50 особей клещей

выделено 1675 насекомых- наездников, в среднем от одной особи 33-34 насекомых.

Выращенных насекомых использовали в природных условиях в биотопах клещей. На площади 5 га впустили 1675 насекомых - наездников. Через 45 дней с указанной территории собрали 1932 клеща, из них зараженными насекомыми- наездниками оказались 1711 клещей, что составляет 80,4%.

В природе имеются естественные враги клещей – насекомые-наездники (Chalcididea) (рис. 1), самки которых откладывают яйца в тело нимф клещей (Ixodes, Haemaphysalis, Hyalomma, Rhipicephalus). Вышедшие из яиц личинки наездников питаются содержимым тела клеща, после вылета насекомых из клеща остается одна лишь хитиновая оболочка, т.е. клещ погибает. Это самки наездника- *Hunterellushookeri*, паразитирующего на иксодовых клещах. Впервые насекомые - наездники были обнаружены в Техасе в 1907 году. В странах бывшего СССР (СНГ) обнаружены в 1939 году сначала в Узбекистане, позднее на Дальнем Востоке и в Хабаровском крае известным ученым Д. И. Благовещенским.

В природе клещей уничтожают птицы, некоторые грызуны, ящерицы. В помещениях нимфы *Rhipicephalusturanicus* часто попадают в тенеты пауков. Кроме того, существуют насекомые-наездники (Chalcidoidea), самки которых откладывают яйца в тело нимф клещей (Ixodes, Haemaphysalis, Hyalomma, Rhipicephalus и др.). Вышедшие из яиц личинки наездников питаются содержимым тела клеща; там же личинки превращаются в куколок, а затем - во взрослых окрыленных насекомых. После вылета насекомых (от 2-24 особей из одной нимфы) от клеща остается одна лишь хитиновая оболочка. К числу специфических наездников клещей относится *Hunterellus hookeri*.

Учитывая, что химические и другие методы борьбы с клещами имеют не всегда удовлетворительные, а чаще временный эффект, а также оказывают отрицательное влияние на экологическую обстановку в регионе, биологические методы борьбы с иксодовыми клещами являются предпочтительными и эффективными.

**Заключение** В лабораторных условиях можно выращивать большое количество насекомых – наездников, которые являются суперпаразитами для иксодовых клещей.

## Литература

Keshtkar - Jahromi M., Sajadi M.M., Ansari H., Mardani M., Holakouie-Naieni K. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Iran. *Antiviral Res.* 2013 Oct; 100(1):20-8. doi: 10.1016/j.antiviral.2013.07.007. Epub 2013 Jul 18.

Soares-Weiser K., Thomas S., Thomson G., Garner P. Ribavirin for Crimean-Congo hemorrhagic fever: systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis.* 2010 Jul 13;10:207. doi: 10.1186/1471-2334-10-207.

Mardani M., Keshtkar - Jahromi M. Crimean -Congo hemorrhagic fever. Arch Iran Med. 2007 Apr; 10(2):204 - 14.

Бердикулулы А. Вопросы эпидемиологии Конго-Крымской геморрагической лихорадки на территории Южно-Казахстанской области // Карантинные зоонозные инфекции в Казахстане. – А., 2001. - Вып. 4. - С. 86 - 89.

Нурмашева А.А., Лизинфельд И. А, Абуова Г. Н Особенности лечения конго – крымской геморрагической лихорадки у детей в Южном Казахстане на современном этапе // Мат. Первой межд. науч. конф. молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации». - Шымкент 2013. – Т. 1. – С. 159 – 162.

Нурмашева А.А., Абуова Г. Н., Лизинфельд И. А. Случай из практики: течение конго-крымской геморрагической лихорадки у ребенка в ЮКО // Мат. Первой межд. науч. конф. молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации». - Шымкент 2013. – Т. 1. – С. 162-165.

March RB. Properties and actions of bridged diphenyl acaricides. Environ Health Perspect. 1976 Apr; 14:83-91.

### **Сведения об авторах:**

Тоганаев Ж.К. - кандидат ветеринарных наук, директор филиала «Южно - Казахстанская НИВС» ТОО «КазНИВИ»

Кожабаяев М. - доктор биологических наук, главный научный сотрудник филиала «Южно - Казахстанская НИВС» ТОО «КазНИВИ»

Есиркепов М.М. - кандидат медицинских наук, зав.кафедры биохимии, биологии и микробиологии «Южно-Казахстанская государственная фармацевтическая академия»

Жанбырбаев М. - кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник филиала «Южно - Казахстанская НИВС» ТОО «КазНИВИ»

### **Түйін**

## **ОҢТҮСТІК ҚАЗАҚСТАН ОБЛЫСЫНДА КОНГО-ҚЫРЫМ ҚАНДЫ БЕЗГЕГІМЕН КҮРЕСУДЕ БИОЛОГИЯЛЫҚ ӘДІСТІ ҚОЛДАНУ**

Тоғанаев Ж.К., Қожабаяев М., Есиркепов М.М. Жаңбырбаев М.

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

Оңтүстік Қазақстан мемлекеттік фармацевтика академиясы

Бұл ғылыми еңбекте Оңтүстік Қазақстан облысында Конго-Қырым қанды безгегімен күресуде биологиялық әдісті қолдануда кенелерге қарсы

табиғи жауларын (*Hunterellus hookeri*) өсіріп - көбейтіп өндіріске енгізуде ғылыми зерттеулердің нәтижесі көрсетілген.

*Кілттік сөздер:* Конго-Қырым қанды безгегі, биологиялық әдіс, суперпаразитизм, *Hunterellus hookeri*

### Summary

#### OF BIOLOGICAL CONTROL OF CRIMEAN-CONGO HAEMORRHAGIC FEVER IN UNDER THE SOUTH KAZAKHSTAN REGION

Toganaev J.K., Kozhabayev M., Esirkeпов M.M., Zhanbyrbaev M.

Branch «South - Kazakhstan Scientific - Research Veterinary Station»  
South Kazakhstan State Pharmaceutical Academy

In this scientific paper shows the results of a study on the application of biological control of Crimean-Congo haemorrhagic fever in South Kazakhstan using natural parasites (*Hunterellus hookeri*) carriers of this disease - mites.

*Keywords:* Crimean-Congo hemorrhagic fever, biological, superparasitizm, *Hunterellus hookeri*

ӘОЖ: 619:616:995.1:591.531.2

#### ОРАЛ ҚАЛАСЫНДАҒЫ ИТТЕРДІҢ ГЕЛЬМИНТТЕРМЕН ЗАЛАЛДАНУ ДЕҢГЕЙІ

Тулегенова Г.И., Аманжол Р.А.

«Батыс Қазақстан ғылыми-зерттеу ветеринария станциясы» Қазақ ҒЗВИ  
ЖШС филиалы

**Түйін** Мақалада Орал қаласында, сонымен қатар Деркул, Круглоозерное, Зашаған, Желаев кентінде тіршілік ететін иттердің гельминттермен залалдану деңгейі туралы мәліметтер көрсетілген.

*Кілттік сөздер:* гельминт, гельминтоздар, гельминтоскопия, копроскопия, ит, залалдану деңгейі

**Кіріспе** Етқоректі үй жануарларының, соның ішінде иттердің гельминттермен залалдануын анықтау - адам мен жануарларға қауіпті гельминтоздарға шалдығу деңгейін төмендетуге, алдын-алуға маңызды болып есептеледі. Себебі, қазіргі қоғамда тіршілік ететін үй етқоректілері,

қадағалаусыз жүрген бұралқы, қаңғыбас иттер адам мен жануарларға қауіпті бірнеше гельминттердің негізгі иесі болып табылады. Сондай-ақ етқоректі үй жануарлары қоршаған ортаны гельминт жұмыртқаларымен ластап қана қоймай, инвазияның тұрақты ошағын қалыптастырады.

Соңғы жылдарда ірі қалаларда үй етқоректілерінің санының артуы, жануарлар және адамдар арасында жұқпалы аурулардың, соның ішінде гельминтоздардың таралуына ықпал жасайды. Оған тек қана адам мен жануарлардың денсаулығына тигізетін зардаптың әсері ғана емес, сонымен қатар гельминтоздардан сауықтыру мен сақтандыруға жұмсалатын экономикалық шығындарды да қоса есептеуге болады.

**Тақырыптың өзектілігі** Көптеген зерттеулердің мәліметіне сүйенетін болсақ (Р.Ш. Делянова, 1959 [1]; А.А. Гаврилов, 1974 [2]; А.Г. Сидоренко, 1990 [3]; Я.М. Кереев, 1999 [4]; А.С. Бессонов, 2002 [5]; М.Ш. Шалменов, 2009[6]) эхинококкоз, ценуроз, тенуикольды цистицеркоз, дипилидиоз, трихинеллез, токсокароз, токскаридоз, описторхоз адамның денсаулығына айтарлықтай зиян келтіреді. Көбінесе асқазан ішек жолының жұмыр құрттары мен таспа құрттары кеңінен таралған. Аталған қоздырғыштар ішек қабырғаларының жарылуы мен жануардың өлімімен аяқталады.

Етқоректі үй жануарларының гельминтоздары ірі қалаларды, сондай-ақ елді мекендерде ит пен мысықтың 60% зақымдап кеңінен таралған. Токсокароз, эхинококкоз, дифиллоботриоз, описторхоз, диروفилляриоз сияқты бірнеше гельминтозооноздар адамның денсаулығына, соның ішінде балаларға қауіп төндіреді.

**Зерттеу материалдары мен әдістері** Етқоректі үй жануарларының гельминттерін анықтау үшін 42 бұралқы итке гельминтологиялық жарып-сою, 15 итке диагностикалық дегельминтизация жүргізіліп, 82 иттен нәжіс сынамасы алынып тексерілді. Нәжіс сынамасынан гельминт жұмыртқаларын анықтау үшін «Етқоректілердің гельминтоздарын балауға арналған әдістемелік нұсқау» (1987), яғни Фюллеборн әдісін қолдану арқылы жүргізілді.

**Зерттеу нәтижелері** Жүргізілген зерттеу нәтижелері бойынша, иттерден гельминттің 8 түрі анықталды. Олардың 1 түрі сорғыш құрттар класына, 4 түрі таспа құрттар класына, 3 түрі жұмыр құрттар класына жатады. *TREMATODA* (сорғыш құрттар) класынан гельминттің 1 түрі – *Opisthorchis felinus* анықталды. *CESTODA* (таспа құрттар) класынан гельминттің 4 түрі - *Echinococcus granulosus*, *Multiceps multiceps*, *Taenia hydatigena*, *Dipylidium caninum* анықталды. *NEMATODA* (жұмыр құрттар) класынан гельминттің 3 түрі – *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Uncinaria stenocephala* анықталды (1 кесте).

Кесте 1 - Орал қаласы мен оның аумағындағы (Деркул, Круглоозерное, Желаев, Зашаған кенті) иттердің гельминттерімен залалдану деңгейі, %

№	Гельминт атауы	Зертт., саны	Залалд., саны	ЭИ, %		ИИ, дана	
				P±m <sub>p</sub> , %	min	max	
1	<i>O.felineus</i>	139	6	4,3±0,4	87	180	
2	<i>E.granulosus</i>		7	5,0±1,5	130	260	
3	<i>M.multiceps</i>		9	6,8±2,1	1	2	
4	<i>T.hydatigena</i>		11	8,0±1,5	25	78	
5	<i>D.caninum</i>		51	36,8±2,3	3	48	
6	<i>T.canis</i>		40	28,7±2,2	2	8	
7	<i>T.leonina</i>		12	8,6±4,2	1	5	
8	<i>U.stenocephala</i>		1	0,7±0,2	1	3	

1 кестеде көрсетілгендей, барлық инвазияланған иттердің ішінен: описторхтар 6 (4,3%), эхинококк – 7 (5,0%), мультицепс – 9 (6,8%), тениа гидатигена – 11 (8,0%), дипилидии – 51 (36,8%), токсокара – 40 (28,7%), таксаскара – 12 (8,6%), унцинария – 1 (0,7%) иттен анықталды.

Иттер гельминтоздардың ішінен ең көп дипилидиозға (36,8%), одан кейін токсокарозға (28,7%) шалдыққан.

Эхинококкоз Орал қаласындағы иттердің (4,8%) арасында да кеңінен таралған. Мультицептозға ең көп шалдыққан иттер Деркул кентінен анықталды, Круглоозерное кентінде және Зашаған кентінде басқалармен салыстырғанда иттердің *T.hydatigena*-мен инвазиялануы жоғарғы деңгейде. Круглоозерное кентінде 9,1% құраса, Зашаған кентінде 10,7% құрады.

Барлық 42 итті гельминтологиялық жарып-сою нәтижесінде гельминттің келесідей түрлері анықталды: сорғыш құрттардан *O.felineus* (1,2%); таспа құрттардан - *E.granulosus* (2,3%), *M.multiceps* (2,4%), *T.hydatigena* (3,5%), *D.caninum* (38,8%); жұмыр құрттардан - *T.canis* (40,0%), *T.leonina* (9,4%), *U.stenocephala* (1,2%) анықталды.

Орал қаласындағы иттердің көпшілігі *D.caninum* (33,3%), одан кейін *T.canis*-пен (26,1%), одан кейін *T.leonina*-мен (11,9%), *T.hydatigena*-мен (7,2%), және *M.multiceps*-пен (7,1) *E.granulosus* (4,8%), *O.felineus* (2,3) пен *U.stenocephala*-мен (1,2%) залалданған.

Деркул кентіндегі иттердің гельминттермен залалдану деңгейі: *D.caninum* (ЭИ=33,4%, ИИ=3-15 дана); *T.canis* (ЭИ=29,1%, ИИ=2-9 дана) құраса; *T.hydatigena* (ЭИ=8,4%, ИИ=1-25 дана); *M.multiceps* (ЭИ=8,3%; ИИ=1-4 дана); *T.leonina* (ЭИ=4,1%, ИИ=1-2 дана); *O.felineus* (ЭИ=8,3%, ИИ=7-90 дана); *E.granulosus* (ЭИ=4,2%, ИИ=130-190 дана) құрады.

Деркул кентіндегі зерттелген 24 иттің барлығы (100%) гельминттермен инвазияланған. 24 иттің 2-уі сорғыш құрттармен (2,3%), 13-і таспа құрттармен (54,1%), 9-і жұмыр құрттармен (37,5%) залалданған.

Круглоозерное кентіндегі иттердің гельминттермен залалдануы келесідей: таспа құрттардан: *D.caninum* ЭИ=36,3%, ИИ=5-45 дана; жұмыр құрттардан: *T.canis* ЭИ=27,3%, ИИ=3-12 дана; *T.leonina* ЭИ=13,6%, ИИ=1-5 дана; таспа құрттардан: *T.hydatigena* ЭИ=9,1%, ИИ=1-10 дана; *M.multiceps* ЭИ=4,6; ИИ=1-2 дана, *E.granulosus* ЭИ=4,5%, ИИ=70-150 дана, *O.felineus* ЭИ=4,5%, ИИ=7-150 дананы құрады.

Круглоозерное кентіндегі зерттелген 22 иттің 1-уінен сорғыш құрттар (4,5%) анықталса, 12-нен таспа құрттар (54,5%), 9-нан жұмыр құрттар (40,9%) анықталды. Круглоозерное кентіндегі иттердің арасында дипилидиоз және токсокароз, мультицептоз кеңінен таралған.

Желаев кентіндегі иттердің гельминттермен залалдануы да әртүрлі деңгейде: *D.caninum* (ЭИ=39,1%, ИИ=3-48 дана); *T.canis* (ЭИ=34,8%, ИИ=1-15 дана); *T.hydatigena* (ЭИ=4,2%, ИИ=2-38 дана); *M.multiceps* (ЭИ=4,3%; ИИ=1-2 дана); *T.leonina* (ЭИ=13,0%, ИИ=1-2 дана); *E.granulosus* (ЭИ=4,2%, ИИ=84-120 дана) құрады. *O.felineus*-пен инвазияланбаған.

Желаев кентіндегі барлық зерттелген 23 иттің 23-і гельминттермен (93,6%) инвазияланған. Сорғыш құрттармен инвазияланбаған, таспа құрттармен – 3 ит (61,7%), жұмыр құрттармен 20 ит (34,0%) залалданған.

Зашаған кентіндегі иттердің гельминттермен инвазиялануы: *D.caninum* (ЭИ=42,8%, ИИ=2-23 дана); *T.hydatigena* (ЭИ=10,7%, ИИ=13-36 дана); жұмыр құрттардан: *T.canis* (ЭИ=25,0%, ИИ=2-5 дана); *T.leonina* (ЭИ=10,7%, ИИ=1-2 дана); *M.multiceps* (ЭИ=7,1%; ИИ=1-2 дана); *O.felineus* (ЭИ=7,1%, ИИ=12-89 дана); *E.granulosus* (ЭИ=4,3%, ИИ=140-260 дана); *U.stenocephala* (ЭИ=1,8%, ИИ=1-3 дана) құрады.

Зашаған кентіндегі зерттелген 28 иттің гельминттермен инвазиялануы 100% құрады. Барлық инвазияланған иттің 28 иттің 2-уі сорғыш құрттармен (7,1%) залалданса, 19-ы таспа құрттармен (67,8%), 20-сы жұмыр құрттармен 7 –уі (37,8%) залалданған.

Инвазияланған 42 иттің 2-уі описторхозға, тениидоздардан: 3-уі эхинококкозға, 2-уі мультицептозға, 2-уі тениа гидатигенозға, 14-і дипилидиозға, 11-і токсокарозға, 5-уі токсоаскаридозға, 1-уі унцинариозға шалдыққан.

Орал қаласында иттердің арасында дипилидиоз және токсокароз (33,3%; 26,1%), Деркул кентінде описторхоз (8,3%), Круглоозерное кентінде мультицептоз (4,5%), тениа гидатигеноз (9,1%), Желаев кентінде мультицептоз (8,5%), Зашаған кентінде мультицептоз (10,7%) кеңінен таралған.

**Қорытынды** Иттердің ішегінде кездесетін гельминттер иелеріне ғана емес, сонымен қатар адамға да қауіпті. Иттердің гельминттерін анықтау, инвазияның таралу деңгейін білу, иттер тарататын эхинококкоз, ценуроз, тенуикольды цистицеркоз, описторхоз және т.б аурулардың қоздырғыштарын анықтау маңызды болып табылады. Себебі адам мен жануарлардың ішкүрт ауруларына шалдығуын алдын-алуға, қысқа мерзім ішінде гельминтоздарға қарсы шараларды жүргізуде шығынның төмендеуіне әсер етеді.

## Әдебиеттер

1. Делянова Р.Ш. Распространение гельминтов собак по различным зонам СССР // Рукопись диссерт. - М., 1962. - 522 с.

2. Гаврилов А.А. Эпидемиологическое значение гельминтов собак в Казахстане // мат. к республиканскому семинару – совещанию по борьбе с паразитарными и незаразными болезнями с-х. ж-х. – А., 1974. – С. 117 - 119.

3. Сидоренко А.Г. Проблемы профилактики эхинококкоза в РСФСР // Тез. докл. науч. – практ. конф. «Современные состояние и перспективы оздоровления хозяйств от эхинококкоза и ценуроза». - М., 1990. - С. 127 – 128.

4. Кереев Я.М. Химиофилактика ларвальных цестодозов животных: автореф..... дис. докт. вет. наук. – А., 1999. - 46 С.

5. Бессонов А.С. Тохасага spp и токсокароз: проблемы эпидемиологии и перспективы борьбы (по материалам одноименного симпозиума на 8-ом Европейском мультиколлоквиуме по паразитологии) // Ветеринария. - М., 2002.- №3. - С. 55 – 58.

6. Шалменов М.Ш. Научные основы борьбы с эхинококкозом в Западном Казахстане: автореф.....дис. докт. вет.наук. – А., 2009. – 55 с.

### **Иегерлер туралы мағлұмат:**

Тулегенова Г.И. - ветеринария ғылымдарының магистранты, «ҚазҒЗВИ» ЖШС «Батыс Қазақстан ҒЗВС» филиалының ғылыми қызметкері

Аманжол Р.А. – ветеринария ғылымдарының кандидаты, «ҚазҒЗВИ» ЖШС «Батыс Қазақстан ҒЗВС» филиалының директоры

### **Резюме**

## **ИНВАЗИРОВАННОСТЬ СОБАК г. УРАЛЬСК ГЕЛЬМИНТАМИ**

Тулегенова Г.И., Аманжол Р.А.

Филиал «Западно - Казахстанская научно – исследовательская ветеринарная станция» ТОО «КазНИВИ»

В статье приведены данные об инвазированности собак гельминтами в г. Уральск, также п. Деркул, Круглоозерное, Желаево, Зачаганск.

*Ключевые слова:* гельминт, гельминтозы, гельминтоскопия, копроскопия, собака, степень инвазированности

### **Summary**

## **INFESTATION OF DOGS URALSK HELMINTHS**

Tulegenova G.I., Amanjol R.A.



Branch «West Kazakhstan Scientific - Research Veterinary Station»

The article presents information on infestation dogs helminths in Uralsk, settlement Derkul, Krugloozernoe, Zhelaevo, Zachagansk.

*Keywords:* helminths, helminthiasis, helminthscopy, scatoscopy, the dog, the degree of infestation

УДК 619.616. 982.22-07:636.2

## **ЭФФЕКТИВНОСТЬ АЛЛЕРГЕНОВ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ ТУБЕРКУЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

**Тургенбаев К.А., Жумаш А.С., Борсынбаева А.М., Хайруллаев М.К.**

ТОО «Казахский Научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме** В работе приведены результаты сравнительного производственного испытания отечественного ППД-туберкулина для млекопитающих в симультанной аллергической пробе с применением ППД-туберкулина на раннее реагирующем крупном рогатом скоте в благополучном по туберкулезу хозяйстве Талгарского района Алматинской области. Показана их диагностическая ценность, оправданность и перспективность.

*Ключевые слова:* диагностика, туберкулин, аллергия, эффективность аллергена

**Введение** Среди инфекционных болезней, наносящих значительный ущерб животноводству и представляющих серьезную опасность для здоровья людей, туберкулез занимает особое место. В связи с реорганизацией структуры в аграрном секторе, созданием многочисленных хозяйственных субъектов с различной формой собственности и развитием рыночной экономики отмечено осложнение эпизоотической обстановки в Республике Казахстан по этой инфекции. В настоящее время в Республике Казахстан 2 хозяйства остаются неблагополучными по туберкулезу крупного рогатого скота.

Основным способом диагностики туберкулеза животных является внутрикожная туберкулиновая проба. Однако используемый до настоящего времени ППД – туберкулин для млекопитающих не совершенен. Наличие у них неспецифических реакций на туберкулин, обусловленных сенсibilизацией организма атипичными микобактериями на фоне поражения органов гельминтами и актиномицетами, существенно осложняет аллергическую диагностику туберкулеза [1-4].

В связи с чем и возникла необходимость разработки новых, более совершенных, коммерческих диагностикумов.

Целью наших исследований служило изучение сравнительной эффективности коммерческого ППД - туберкулина для млекопитающих, выпускаемого Курской биофабрикой и ППД – туберкулина, приготовленного по оригинальной методике сотрудниками Казахского НИВИ и НПЦ БиоВет.

Известно, что культуральные фильтраты - основной материал для получения ППД-туберкулина - содержат до 23 антигенов. Многие из этих антигенов являются общими для всего рода *Mycobacterium*, часть из них - для нескольких видов, а некоторые видоспецифичны (А.П.Лысенко, 1982).

В процессе приготовления ППД-туберкулина из культуральной жидкости проводят осаждение белков с помощью трихлоруксусной кислоты и пересаживают его сернокислым аммонием. Однако при этом не происходит разделения общих антигенов от видоспецифичных.

По данным Т.Г.Байтубаева и др. (1990) в ППД-туберкулине при электрофорезе установлено содержание 8 фракций белков: из них три белка с молекулярной массой свыше 94 кД, один – 94 кД, один – 67 кД, два - 30 кД и один менее 14 кД.

Для извлечения видоспецифических антигенов применяют различные методы очистки. Так, А.П.Лысенко (1982) с помощью гельфильтрации на сефадексе G-150 удалось выделить из ППД-туберкулина три фракции аллергена с более высокой, чем у коммерческого туберкулина для млекопитающих, специфичностью. Более специфический компонент туберкулина (СКТ) для млекопитающих удалось получить, применив двойную гельфильтрацию ППД-туберкулина на сефадексах G-50 и G-150 (Т.Л.Клышев, Б.Н.Шакенов, 1989).

Предложенные методики направлены на совершенствование способов очистки коммерческого ППД-туберкулина. Недостатком этих методов является многоэтапность технологии, предусматривающее вначале приготовление гетерогенного туберкулина, а затем выделение из него гомогенных фракций.

Безальбумозный туберкулин был предложен А.А.Евглевским (А.А.Евглевский, 1990, 1999). Культуру микобактерий бычьего вида выращивают в течение 8 недель на синтетической безбелковой питательной среде, автоклавируют в течение 1,5-2 час при 1-1,5 атм, культуральную жидкость отделяют фильтрованием от бактериальной массы, а фильтрат разводят физиологическим раствором до концентрации белка 0,7 мг/см<sup>3</sup>. В результате в полученном безальбумозном туберкулине помимо видоспецифических пептидов содержится еще 23 различных вида антигена микобактерий и продуктов их жизнедеятельности, фрагменты и цельные клетки микобактерий туберкулеза и компоненты питательной среды, снижающие диагностическую ценность препарата.

В Российской Федерации на Курской биофабрике выпускают ультрафильтрационный (УФ) туберкулин полученный путем фракционирования концентрата ППД-туберкулина на ультрафильтрационных мембранах с номинальной отсекающей

молекулярной массой 150-1000 кДа, диафильтрации крупномолекулярной фракции и последующей стерилизующей микрофильтрации полученных пермеатов. В результате в разработанном туберкулине при сохраненной активности по ГОСТ 16739-88 концентрация белков и органических веществ снижена в два раза, что повышает специфичность препарата (Патент RU 2113233).

ППД-туберкулин для млекопитающих, производимый в Республике Казахстан ТОО НПЦ БиоВет, приготовлен из рекомендованного ВОЗ штамма культуры *Mycobacterium bovis* AN/5, стандартизирован по Международному стандарту ППД-туберкулина Национального института биологических стандартов и контроля (NIBSC, United Kingdom).

Нами был приготовлен ППД-туберкулин для млекопитающих, активность которого была испытана в лабораторных условиях на морских свинках и в производственных опытах на крупном рогатом скоте.

Для проведения испытания активности препарата было взято 5 морских свинок живым весом 300 – 350 г. ранее иммунизированных вакциной БЦЖ, внутрикожно в дозе 0,2 мг в объеме 0,1 см<sup>3</sup> стерильного физиологического раствора. В стерильных условиях развели исследуемую серию ППД-туберкулина для млекопитающих и стандартную серию ППД-туберкулина для млекопитающих (эталонный, изготовленный 07.09.2012 г. ТОО НПЦ «БиоВет» серия № 17 согласно СТ ТОО 970640002008-03-2010).

Из испытываемой серии ППД-туберкулина и стандартной серии приготовили разведения № 1, 2 с содержанием в одной дозе соответственно 10 и 100 ТЕ.

В этот же день указанные разведения стандартного ППД-туберкулина для млекопитающих и испытываемого ППД-туберкулина для млекопитающих вводили внутрикожно в депилированные участки кожи на боках 5 морским свинкам по 2 инъекции с каждой стороны тела в дозе 0,1 см<sup>3</sup> (4 инъекций каждому животному).

Для введения растворов применяли маркированные однограммовые шприцы, не пропускающие туберкулин под поршень или под иглу. Каждое разведение туберкулинов вводили отдельным шприцем, имеющим номер, соответствующий разведению препарата. На следующий день через 24 часа проводили учет реакции. Контуры папул обрисовывали фломастером, после этого накладывали лист гибкого прозрачного пластика на бок свинки и перерисовывали контуры папул. Затем линейкой определяли поперечный и продольный диаметры каждой папулы на листе целлофана и вычисляли их среднюю величину (листы с контурами папул прилагаются).

Результаты измерений вносили в таблицу № 1 и определяли по формуле активность препарата:

$$B = \frac{B}{A} \times 50000, (1)$$

где А - сумма средних диаметров папул на введение стандартной серии туберкулина;

Б - сумма средних диаметров папул на введение испытуемой серии туберкулина;

50 000 - содержание ТЕ в 1 мл стандартной серии туберкулина.

Таблица 1 - Учет интенсивности реакции у морских свинок, вакцинированных БЦЖ

Инв. № морск. свинки	Интенсивность реакции на введение разведений туберкулина ТЕ			
	Стандартный раствор ППД-туберкулина для млекопитающих ТЕ		Испытуемый ППД-туберкулин для млекопитающих ТЕ	
	100 ТЕ	10 ТЕ	100 ТЕ	10 ТЕ
1	17,5	11,5	18,0	12,0
2	16,0	10,0	15,0	10,0
3	14,5	8,0	12,0	9,0
4	17,5	11,5	16,5	11,0
5	15,5	9,5	19,0	12,5
всего	81,0	50,5	80,5	54,5
	<b>131,5</b>		<b>135,0</b>	

А - сумма средних диаметров папул на введение стандартной серии туберкулина

Б - сумма средних диаметров папул на введение испытуемой серии туберкулина

Согласно формуле,  $B = \frac{135,0}{131,5} \times 50000 = 51350,00$  содержание ТЕ в 1 мл

испытуемой серии туберкулина.



Рисунок 1 – Реакция морской свинки на введение стандартной серии ППД-туберкулина для млекопитающих



Рисунок 2 – Реакция морской свинки на введение испытываемой серии ППД-туберкулина для млекопитающих

Активность испытываемой серии ППД-туберкулина для млекопитающих составило 51350,00 ТЕ в 1 см<sup>3</sup>, что соответствует требованиям СТ ТОО 970640002008-03-2010

Сравнительные исследования ППД-туберкулинов для млекопитающих в производственных условиях были проведены на 429 головах крупного рогатого скота черно-пестрой породы, выявленных как реагировавшие на ППД-туберкулин для млекопитающих 60 дней спустя на молочно-товарной ферме благополучного по туберкулезу хозяйстве Талгарского района Алматинской области.

Каждому животному вводили с правой стороны стандартный раствор ППД – туберкулина для млекопитающих Курской биофабрики, а с левой ППД-туберкулины для млекопитающих БиоВет. Место введения (средняя треть шеи животного) аллергенов предварительно выстригали с последующей обработкой 70%-ным раствором спирта-ректификата. Все аллергены вводили безыгольными инъекторами марки БИ-7М в дозе 0,2 мл. Учет реакций проводили через 72 часа после их введения путем измерения кутиметрами толщины кожной складки в миллиметрах, а также определяли величину воспалительного отека (припухлости) в местах введения.

При чтке реакций через 72 часа после внутрикожного введения указанных аллергенов установлена реакция на два аллергена у 56 коров, в том числе наличие только на ППД туберкулин для млекопитающих НПЦ БиоВет – 39 (9%) головы, ППД-туберкулин Курской биофабрики – 17 (4%) голов.

При контрольно-диагностическом убое 11 коров во внутренних органах (легкие, печень, селезенка и почки) и лимфатических узлах обнаружены макроизменения, характерные для туберкулеза. Диагностирован туберкулез легких и печени, а также специфические лимфадениты заглочного и подчелюстного лимфоузлов. Кроме того, отмечалась гиперплазия с точечным кровоизлиянием предлопаточных, надвыменных и брыжеечных (в области илеоцекального отдела) лимфоузлов.

Бактериологическое исследование на туберкулез послеубойного материала (кусочки внутренних органов и лимфоузлов) от них показало положительный результат. При посеве биоматериала на среде Левенштейна-Йенсена и Гельберга из от коровы (инв. № 1234,230) были выделены культуры микобактерий, которые по культурально-морфологическим признакам и биопробой на лабораторных животных отнесены к микобактериям бычьего вида.

Результаты исследования представлены в нижеследующей таблице.  
Таблица 2 - Интенсивность проявления реакций на различные аллергены у крупного рогатого скота в Талгарском районе

Инвентарные номера животных	Размеры кожных утолщений, в мм на введение туберкулинов:	
	НПЦ БиоВет	Курской биофабрики
57578860	7	4
57581128	10	4
57581166	10	4
57578396	5	4
57581163	30	-
57588771	7	-
57581058	7	-
043	4	-
440-57578755	20	15
2631	7	-
1183-57578390	4	-
1233-57581155	3	-
57578837	6	-
1157	5	-
425-57578757	14	5
1158	6	-
068	4	-
6295-57578762	10	-
1251-57578864	14	-
419	9	-
528	5	-
131	9	-
1285-57578772	7	-

В настоящее время в отделе туберкулеза в этом направлении ведется работа по изысканию более совершенных и эффективных способов изготовления высокоспецифических туберкулинов.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что при сравнительной аллергической диагностике туберкулеза крупного рогатого скота в благополучном хозяйстве (Талгарского района) ППД-туберкулин для млекопитающих, изготовленный НПЦ БиоВет оказался в 4 раза активнее ППД-туберкулина для млекопитающих изготовленной на Курской биофабрики (39 головы, reagiroвавших на ППД-туберкулин НПЦ БиоВет против 17 головы, reagiroвавшей на ППД-туберкулин Курской биофабрики).

### Литература

1. Басыбеков С.Д, Благодарный Я.А., Жанузаков Н.Ж. Животные – источники микобактериозов человека. Издательство «Кайнар», Алма-Ата, 1985 – 112с.
2. Тургенбаев К.А. Сравнительное изучение СКЖ-туберкулина для аллергической диагностики туберкулеза крупного рогатого скота // Вестник с.-х. Науки Казахстана. РИИ «Бастау», Алматы, 2000.-№10-С.55-58
3. Жумаш А.С. Эпизоотическое состояние по туберкулезу и показатели различных туберкулинов при диагностике туберкулеза животных. // Мат. Научно-практической конференции. «Состояние и перспективы развития ветеринарной Науки и практики» посвященной государственной программе «Аул». Алматы, 2003.-с.117-123.
4. Пиантовский В.И., Даугалиева С.Т., Жумаш А.С., Неспецифические туберкулиновые реакции у крупного рогатого скота и методы их дифференциации. // Методические рекомендации. Костанай, 2003.-12 с.
5. Патент № 9801 Национального патентного Ведомства РК. Способ получения туберкулина. // Тургенбаев К.А., Кадыров С.О., Джусакинов Ж.Н. Опубликовано 17.07. 93.

#### **Сведения об авторах:**

Тургенбаев К.А. - доктор ветеринарных наук, заведующий отделом по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Жумаш А.С. - доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник отдела по научно-методическому обеспечению эпизоотического и ветеринарно-санитарного благополучия ТОО «КазНИВИ»

Борсынбаева А.М. - научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Хайруллаев М.К. – магистрант отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

#### **Түйін**

### **ІРІ ҚАРА МАЛ ТУБЕРКУЛЕЗІН БАЛАУДАҒЫ АЛЛЕРГЕННІҢ ӘСЕРЛІГІ**

Тургенбаев К.А., Жумаш А.С., Борсынбаева А.М., Хайруллаев М.К.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада Алматы облысының Талғар ауданындағы ірі қара малының ППД-туберкулиніне берген әсерін отандық өндірістік ППД-туберкулиннің салыстырмалы сүтқоректілерге қойылған симультанды аллергиялық сынама-сының нәтижелері көрсетілген.

Олардың балау сапасы мен құндылықтары көрсетілген.



*Кілттік сөздер:* балау, туберкулин, аллергия, алергеннің әсерлігі

### **Summary**

#### **EFFICIENCY OF ALLERGENS IN THE DIAGNOSIS OF BOVINE TUBERCULOSIS**

Turgenbaev K.A., Zhumash A.S., Borsynbaeva A.M., Khairullaev M.K.

LLP «Kazakh scientific research veterinary institute»

In the articles presents the results of the comparative tests of PPD- tuberculin for mammals in simultaneous allergy test with PPD tuberculin reacting to early cattle in the TB prosperous economy Talgar district of Almaty region.

It is shown that their diagnostic value, the justification and prospects.

*Keywords:* diagnosis, tuberculin, allergy, the effectiveness of allergen

УДК:619:616.900:636.1

#### **ПРИМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕСС - МЕТОДА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА ЖИВОТНЫХ**

**Тургенбаев К.А., Тамгабаева С., Шаймбетова А.К.**

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме** В статье приводятся результаты использования в качестве экспресс-метода диагностики туберкулеза животных иммунохроматографического анализа для определения антител к *Mycobacterium bovis* в сыворотке в плазме или в крови животных.

*Ключевые слова:* иммунохроматографический анализ, конъюгат, микобактерии туберкулеза

**Введение** Анализ состояния и путей развития животноводства Республики Казахстан свидетельствует о том, что дальнейшее увеличение производства мяса, молока, яиц и другой продукции в значительной мере зависит от внедрения в практику перспективных научных разработок по организации и технологии ее производства, а также достижений в селекции, биотехнологии и ветеринарии. Весомых инноваций требуют мероприятия по профилактике и оздоровлению животных от инфекционных болезней, в частности, от туберкулеза.

Среди зооантропонозных заболеваний туберкулез по своему социальному и экономическому значению занимает особое место. Значительный ущерб туберкулез наносит сельскому хозяйству в связи с большой чувствительностью к нему животных, особенно, крупного рогатого скота (КРС), и длительностью их эксплуатации.

Туберкулез обычно протекает хронически, нередко в латентной форме с отсутствием в большинстве случаев характерных клинических признаков болезни, что затрудняет его своевременное выявление, а также чередованием процессов ремиссии и активизации процесса. Болезнь характеризуется поражением органов и тканей с образованием в них туберкулов.

Микобактерии туберкулеза способны поражать человека и животных разных видов, а также длительно сохраняться в продуктах животноводства. Больные животные снижают продуктивность, пораженные туши подлежат утилизации или глубокой термической обработке, что снижает ценность продукта.

К числу важнейших особенностей эпизоотического процесса туберкулеза относятся продолжительный инкубационный период (до 45 дней), разнообразие источников возбудителя, множественность возможных путей его выделения и путей передачи, а также чрезвычайная устойчивость микобактерий во внешней среде.

Главную опасность в качестве резервуара и источника возбудителя туберкулеза бычьего вида представляет КРС. Выделение возбудителя у животных отмечают в начальном периоде болезни, максимальное - в период ее разгара. В зависимости от локализации поражений микобактерии выделяются с молоком, мокротой, калом, мочой. При туберкулезе матки возможно внутриутробное заражение плода.

Из молока коров, у которых после убоя обнаруживали характерные для туберкулеза поражения, возбудитель бычьего вида выделяли в 100% случаев в концентрации 5 млн. микобактерий в 1 мл. Однако основным путем выделения возбудителя у КРС считается мокрота при поражении легких. Выделения больных животных загрязняют корма, места водопоя, почву на выгулах и пастбищах, различные объекты в стойлах. Корма, вода, подстилка, навоз становятся факторами передачи возбудителя.

Микобактерии бычьего вида устойчивы к высушиванию, гниению и низким температурам. В условиях внешней среды в мокроте они выживают до 6 мес., в высушенных фекалиях на пастбище - до 2 мес. летом и до 5 мес. зимой; в навозе, соломенной подстилке, в стоках животноводческих ферм и проточной воде сохраняются свыше 1 года, в сырой почве - до 3 лет. Прямые солнечные лучи убивают бактерии через 2 часа, рассеянный свет - в течение 10-40 дней.

Заражение человека связано, в первую очередь, с употреблением сырого молока и инфицированных молочных продуктов. В сыром молоке, сметане, сливочном масле, хранящимся в холодильнике, микобактерии выживают до 10 мес., в сырах - до 7 мес., в замороженном молоке, сливках -

до 4 мес. Прогревание молока при температуре 85<sup>0</sup> С вызывает их гибель через 30 мин, при 90<sup>0</sup> С - через 5 мин, при 100<sup>0</sup> С - через 1 мин.

Сохранение устойчивости неблагоприятной эпизоотической обстановки по туберкулезу может быть обусловлено несколькими причинами. Радикальное изменение условий хозяйствования затрудняет организацию и проведение профилактических и противоэпизоотических мероприятий, ухудшение условий содержания и кормления снижает устойчивость животных. Уменьшается поголовье скота в общественных хозяйствах, в то же время увеличивается число малых ферм, крестьянских хозяйств, которые труднее контролировать. Соответственно стали возможными бесконтрольные перемещения животных.

Туберкулез вызывают, в основном, микобактерии бычьего, человеческого и птичьего видов, каждый из которых является наиболее патогенным для животных соответствующего вида и человека, однако, возможно и перекрестное заражение.

Микобактерии бычьего вида патогенны для КРС, а также всех млекопитающих животных и человека.

К возбудителю туберкулеза человеческого вида восприимчивы, кроме человека, свиньи, козы, кошки, собаки, а также попугаи. Этот вид, в основном, сенсibiliзирует (формирует аллергическую чувствительность) КРС к туберкулину и лишь иногда вызывает незначительные очаги в отдельных лимфатических узлах.

К возбудителю птичьего вида восприимчивы домашние и дикие птицы, а также свиньи. У КРС этот возбудитель также вызывает кратковременную сенсibiliзацию к туберкулину.

Отдельные виды атипичных микобактерий (из примерно 40 видов) или их ассоциации могут вызывать сенсibiliзацию КРС, свиней и птиц к туберкулинам, и в отдельных случаях патоморфологические изменения в лимфатических узлах у свиней, неотличимые от туберкулезных изменений. Кроме перечисленных видов микобактерий, сенсibiliзацию КРС к туберкулину могут вызвать микобактерии паратуберкулеза, а также представители других родов микроорганизмов: коринебактерии, нокардии и родококки. Установление реального эпизоотического статуса стад на общем широком фоне сенсibiliзации скота к туберкулину, обусловленной перечисленными микроорганизмами, широта распространения которых очень велика, стало одной из важных задач ветеринарных специалистов.

Система контроля благополучия хозяйств по туберкулезу КРС предусматривает поголовное обследование животных с применением внутрикожной туберкулиновой пробы, по крайней мере, дважды в год.

В неблагополучных стадах всех положительно реагирующих на туберкулин животных признают больными, хотя среди них могут быть здоровые особи, инфицированные атипичными микобактериями или другими микроорганизмами, убой которых является фактически необоснованным и приводит к экономическим потерям.

Плановые исследования скота благополучных по туберкулезу хозяйств с помощью внутрикожной туберкулиновой пробы должны сочетаться с клиническим осмотром, так как не исключается наличие больных животных, находящихся в состоянии анергии к туберкулину.

Реагирующих животных дополнительно исследуют офтальмо- или внутривенной туберкулиновой пробой. Если реакции отрицательны, всех животных стада через 30-45 дней проверяют симультанной пробой с комплексным аллергеном из атипичных микобактерий или туберкулином для птиц. Цель этих исследований - выяснение причины сенсibilизации к туберкулину и отбор животных для диагностического убоя. Однако при смешанной инфекции, вызванной истинными возбудителями туберкулеза и атипичными микобактериями, симультанная проба обычно дает неопределенные результаты.

Туберкулин при плановом обследовании КРС применяют в определенной дозе, величина и точность введения которой имеет большое значение для эффективности диагностики. При увеличении дозы туберкулина в благополучных хозяйствах возрастает количество неспецифических реакций, что вызывает необходимость убоя реагирующих животных с диагностической целью и проведения дополнительных исследований. При уменьшении дозы часть зараженных животных в неблагополучных хозяйствах не реагирует на туберкулин и остается в стаде, что увеличивает сроки оздоровления.

Таким образом, вопросы повышения диагностической ценности внутрикожной аллергической пробы до сих пор еще остаются актуальными.

Положительный результат ПЦР свидетельствует лишь о наличии в организме животного ДНК определенного вида возбудителя туберкулеза (бычьего, человеческого или птичьего), отрицательный результат анализа указывает на отсутствие ДНК возбудителя в исследуемых образцах материала от животных или выделенной культуре.

Другие тесты, предложенные Всемирной организацией здравоохранения животных (МЭБ) для прижизненной диагностики туберкулеза - тест пролиферации лимфоцитов, тест определения гамма-интерферона, ИФА на основе моноклональных антител и другие, пока не востребованы для широкого использования в ветеринарной практике нашей страны, в частности, из-за сложности постановки и дороговизны. В связи с чем возникла необходимость дальнейшего проведения научно-исследовательской работы по усовершенствованию разработки экспресс-метода диагностики туберкулеза крупного рогатого скота с использованием методики подготовки тест-системы, применяемой в ИХА, но значительно более простой в постановке и не требующей сложного оборудования и дефицитных реагентов.

Поэтому наши исследования направлены на разработку и изыскание более совершенных методов комплексной диагностики туберкулеза и оздоровления, неблагополучных по туберкулезу хозяйств, а также

совершенствование мероприятий по сохранению благополучия стада по этой инфекции.

Иммунохроматографический анализ незаменим при дифференциации парааллергических туберкулиновых реакций. Значительный экономический эффект животноводству будет достигнут за счет своевременного предотвращения неоправданного убоя практически здорового скота и необоснованного проведения противотуберкулезных (оздоровительных) мероприятий.

**Цель исследований** - Разработка экспресс-метода диагностики туберкулеза животных иммунохроматографическим анализом путем определения антител к *Mycobacterium bovis* в сыворотке, в плазме или в цельной крови животных.

**Материал и методы исследований** Нами изготовлены иммунохроматографические экспресс-тесты для обнаружения антител в сыворотке, плазме или цельной крови к возбудителю туберкулеза *M. bovis*. При постановке реакции исследуемая проба контактирует с мембраной диагностической панели и инициирует движение по мембране нанесенных на мембрану реагентов. Для определения антител использовали два антигенных реагента: 1) иммобилизованный в тестовой зоне диагностической панели антиген *Mycobacterium bovis* и 2) антиген, конъюгированный с частицами коллоидного золота. Благодаря наличию у антител как минимум двух антиген-связывающих сайтов при контакте мембраны с пробой в тестовой зоне происходит формирование иммунных комплексов, состоящих из иммобилизованных на мембране молекул антигена и содержащихся в пробе антител к антигену *Mycobacterium bovis*. После внесения образца на подушку (антитела) образца, взаимодействуют с антигенами, конъюгированными с коллоидным золотом, нанесенным на подушку конъюгата. В результате образуется окрашенный комплекс антиген-антитело.

Образовавшийся окрашенный иммунный комплекс движется под действием капиллярных сил вдоль нитроцеллюлозной мембраны и взаимодействуют с иммобилизованными в контрольной зоне антителами. В результате появляется вторая окрашенная полоска. Если анализ проведен правильно, контрольная линия должна проявляться всегда, независимо от присутствия исследуемого антитела в образце биологической жидкости.

Тест может использоваться для исследования на туберкулез сыворотки, плазмы или цельной крови. Проба помещается на подушку для образца вместе с подвижным буфером.

Результаты теста можно получить в течение 15-20 минут после добавления образца. В некоторых случаях контрольная линия может появиться раньше, чем через 15 минут. Тем не менее, 15 минут необходимо для засвидетельствования отрицательного результата.

Сотрудники отдела с 8 по 13 июня 2014 г были командированы в Карагандинскую область для апробаций ИХА в качестве метода

диагностики туберкулеза крупного рогатого скота в КХ «Ата» с/о Юбилейный Абайского района.

Для проведения исследований было использовано 10 проб сывороток крови, доставленных из Карагандинской области от реагирующих на туберкулин животных.

Сравнительное испытание предлагаемого экспресс-теста для диагностики туберкулеза животных иммунохроматографическим анализом (ИХА) проводили путем тестирования 5 положительных и 5 отрицательных сывороток крови крупного рогатого скота по результатам бактериологического посева (таблица 1).

Таблица 1- Результаты сравнительного тестирования сывороток крови животных

№№ животного	Бактериологический метод	ИХА
49001315	+	+
49001273	+	+
49001301	+	+
39001233	+	+
К2 0604	+	+
К2 0571	-	-
49001276	-	-
49001294	-	-
К2 0572	-	-
49001280	-	-

Как видно из таблицы 1, результаты бактериологического и иммунохроматографического методов исследования на туберкулез полностью совпали.

Результаты тестирования сывороток крови крупного рогатого скота иммунохроматографическим методом представлены на рисунке 1.



Рисунок 1 – Результаты иммунохроматографического определения антител к *M. bovis* в сыворотках крови КРС из Карагандинской области

Из рисунка 1 видно, что окрашенные линии появились в тестовой и в контрольной зонах, что указывает на положительный результат.

**Заключение** В результате применения иммунохроматографического анализа в качестве экспресс-метода для обнаружения антител к *Mycobacterium bovis* у реагиовавших на внутрикожную туберкулиновую пробу животных был получен экономический эффект животноводству в хозяйстве за счет предотвращения неоправданного убоя практически здоровых и высокопродуктивных животных.

### Литература

1. Владимирский М.А. Иммунологические и биотехнологические методы в повышении эффективности диагностики и лечения туберкулез: автореф.... дисс. док. наук. – М., 1993. – 38 с.
2. Ходун Л.М., Цунская Н.И., Владимирский М.А. и др. «Рекомендации. Иммуноферментный анализ для диагностики туберкулеза животных: (Приготовление реагентов тест-системы и методики постановки реакции)» - Омск, 1990. - 13 с.
3. Лысенко А.П., Карпова Г.А., Агеева Т.Н. Специфичность антигенов *Mycobacterium bovis* при диагностике туберкулеза крупного рогатого скота в ИФА // Ветеринария. – М., 1992. - № 3. – С. 22 – 24.
4. Инструкция «О мероприятиях по профилактике и ликвидации туберкулеза животных». – Астана, 1999. – 29 с.
5. Наставления по диагностике туберкулеза животных. – Астана, 1999. – 19 с.
6. Бызова Н.А., Сотников Д.В. Влияние состава конъюгатов коллоидного золота с белками на эффективность их использования в

иммунохроматографическом анализе // Биологические науки. – М., 2013. - 8 с.

7. Жердев А.В., Бызова Н.А. и др. Способ определения антител к возбудителю туберкулеза // Патент № МПК G01N33/53 от 01.2006.

### **Сведения об авторах:**

Тургенбаев К.А. - доктор ветеринарных наук, заведующий отделом по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Тамгабаева С. - кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Шаймбетова А.К. - кандидат ветеринарных наук, заведующая лабораторией бактериологии ТОО «КазНИВИ»

### **Түйін**

#### **ЖЕДЕЛ - ӘДІСТЕМЕ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЯЛЫҚ ТАЛДАУДЫ ҚОЛДАНА ОТЫРЫП ТУБЕРКУЛЕЗ АУРУЫН БАЛАУ**

Тургенбаев К.А., Тамгабаева С., Шаймбетова А.К.

«Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада жедел - әдістеме иммунохроматографиялық талдауды қолдана отырып туберкулез ауруын балаудың нәтижелері келтірілген.

*Кілттік сөздер:* иммунохроматографиялық талдау, конъюгат, туберкулез микобактериялары

### **Summary**

#### **APPLICATION OF EXPRESS METHOD OF IMMUNOASSAY ANALYSIS FOR DIAGNOSTICS OF TUBERCULOSIS OF ANIMALS**

Turgenbaev K.A., Tamgabaeva S., Shaimbetova A.K.

LLP «Kazakh scientific research veterinary institute»

To the article the results of research of expressmethod of diagnostics of tuberculosis of animals are driven by a иммунохроматографическим analysis by determination of antibodies to Mycobacterium bovis in a serum in plasma or in blood of animals.

*Keywords:* immunochromotografy analysis, conjugate, micobacterium of tuberculosis



УДК:619:616.906:636.1

## РАЗРАБОТКА УСКОРЕННОГО МЕТОДА БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА

Тургенбаев К.А., Тамгабаева С., Шаймбетова А.К.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме** В статье приводятся результаты исследования метода выявления микобактерий туберкулеза в начальных стадиях развития или находящихся в «спящем» состоянии.

*Ключевые слова:* среда Школьниковой, диагностика, микобактерии туберкулеза

**Введение** Туберкулез – хронически протекающая инфекционная болезнь, поражающая и животных, и человека (антропозооноз), с формированием во внутренних органах и тканях организма характерных образований – туберкулов, а иногда и без типичных признаков – в форме латентного (скрытого) процесса.

Данная инфекция наносит значительный экономический ущерб народному хозяйству как вследствие вынужденного уоя больных и реагирующих на туберкулин животных (возможно, не являющихся больными), так и из-за утери работоспособного населения государства.

Первостепенное значение в успешной борьбе с этой инфекцией имеет своевременная и эффективная диагностика.

Одним из основных методов лабораторной диагностики туберкулеза животных является бактериологический. Этот метод заключается в культуральном исследовании исследуемого материала (определении характера и скорости роста колоний), а также включает в себя бактериоскопию диагностического материала и постановку биопробы на восприимчивых лабораторных животных.

Но, вследствие того, что микобактерии туберкулеза относятся к медленно растущим микроорганизмам (вегетативное деление каждой из клеток микобактерий происходит за 14 – 18 часов [1], сроки постановки первичного диагноза на туберкулез бактериологическим методом увеличиваются до 3 месяцев.

Для микобактерий туберкулеза человеческого вида характерен рост через 20 – 30 суток в виде морщинистых, сухих, цвета слоновой кости колоний. Это R-варианты культур микобактерий (шероховатые), вирулентные для человека и животных. Иногда встречаются S-варианты (гладкие) культур.

Для микобактерий бычьего вида на плотных яичных питательных средах характерен рост через 20 – 60 суток в виде скудно растущих, мелких, шаровидных цвета слоновой кости колоний. Реже встречаются культуры, образующие морщинистые колонии.

На жидких средах микобактерии растут в виде отдельных островков, постепенно сливающихся в пленку, на полужидких средах дают рост в глубине среды, которая со временем мутнеет.

Для культур микобактерий птичьего вида на плотных яичных питательных средах характерен рост через 10 – 15 суток в виде мягких слизистых, иногда с пуговицеобразным возвышением и кратеровидным углублением (в виде «тюбана») серовато-белых, реже желтоватых колоний. Оптимальная температура роста 40 – 45 °С, в большинстве случаев микобактерии растут и при комнатной температуре, но скуднее и медленнее.

Биологический метод (биопроба) считается наиболее эффективным и достоверным методом диагностики туберкулеза, и основным при определении типовой принадлежности и вирулентности выделенных культур. В основном для экспериментального заражения применяются морские свинки и кролики – для микобактерий бычьего и человеческого видов, и куры – для микобактерий птичьего вида.

Этот метод у морских свинок дает положительные результаты даже при наличии в инъецируемом материале лишь 1 – 5 клеток микобактерий туберкулеза [1,2]. Для выделения возбудителей туберкулеза при латентном течении заболевания рекомендуется выдерживать подопытных животных до 6 месяцев [3].

Тем не менее, биопроба, так же как и бактериологическая диагностика туберкулеза, в их классической форме не могут считаться оптимальными методами, так как установить диагноз достаточно быстро при их использовании не представляется возможным. Результатов биологической пробы приходится ждать довольно долго, первичный рост микобактериальных культур на питательных средах при бактериологическом исследовании также происходит медленно, что исключает возможность своевременного осуществления противотуберкулезных мероприятий в хозяйстве, а значит, снижает их эффективность.

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 заключается в том, что метод 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-форм микобактерий туберкулеза, способных реверсировать в исходный бактериальный вид с восстановлением свойственной возбудителю

вирулентности. Это позволяет проводить диагностику латентного микробоносительства животных.

Разработка ускоренного метода выявления микобактерий в начальных стадиях развития или находящихся в «спящем» состоянии позволит в сжатые сроки ставить диагноз на туберкулез бактериологическим методом.

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 не проявляя себя. Однако стоит иммунитету по каким-то причинам ослабеть, как микобактерии могут "проснуться", и болезнь начнет стремительно прогрессировать. Именно поэтому таким принципиально важным шагом в борьбе с туберкулезом станет метод выявления "спящих форм" микобактерий туберкулеза.

Разработка ускоренного метода выявления микобактерий в начальных стадиях развития или находящихся в «спящем» состоянии, позволяющим за 10 - 15 суток ставить диагноз на туберкулез бактериологическим методом, даст возможность принять эффективные и своевременные меры по нераспространению и купированию инфекции.

*Цель исследований* - выделение промежуточных форм микобактерий туберкулеза из диагностического материала.

**Материал и методы исследований** При выполнении работы использовались бактериологические, биохимические методы исследований. Пробы сывороток крови, отобранные от ранее реагировавших на туберкулины животных из КХ «АГА» Карагандинской области, были проверены на туберкулез в реакции иммунохроматографии тест-системой для обнаружения антител к *Mycobacterium bovis*, а также классическим методом бактериологического исследования и предварительным культивированием.

**Результаты и обсуждение** В результате предварительного культивирования посевов на среде Школьниковой в термостате при 37 °С в течение 1 сут и последующего пересева материала вместе с жидкой средой Школьниковой пастеровской пипеткой по 0,25 - 0,5 см<sup>3</sup> в 3-5 пробирок с полужидкой синтетической средой Школьниковой в модификации Дорожковой (ДИР), на 3 сутки наблюдали рост культуры в виде нежного облачка (рисунок 1).

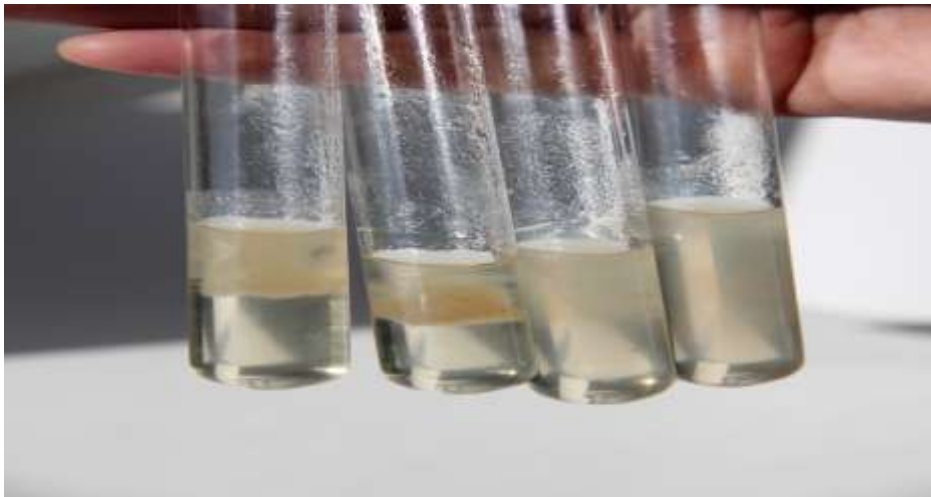


Рисунок 1 – Рост культур микобактерий, выделенных из проб крови от реагирующих на туберкулин коров

После появления в пробирках со средой ДИР роста культур микобактерий, используя пастеровскую пипетку, культур микобактерий вместе с синтетической средой пересеивали по 0,25 см<sup>3</sup> в 3-5 пробирок со средой Левенштейна-Йенсена. Посевы ежедневно просматривали, через 5-7 суток обнаружили рост колоний культур микобактерий на плотной питательной среде (рисунок 2, таблица 1).



Рисунок 2 – Рост культур микобактерий выделенных из проб крови от реагирующих на туберкулин коров, на среде Гельберга и на среде Школьниковой

Таблица 1- Результаты исследования проб сывороток крови животных на туберкулез

Номера животных	ИХА тест-система	Бактериологическое исследование	
		Классический метод	Разрабатываемый
49001315	+	-	+
49001273	+	-	+
49001301	+	-	+
39001233	+	-	+
K2 0604	+	-	+
K2 0571	-	-	+
49001276	-	-	-
49001294	-	-	-
K2 0572	-	-	+
49001280	-	-	-
Итого	5 (50%)	0	7 (70%)

Как видно из таблицы 1, иммунохроматографическим методом исследования проб сывороток крови положительные результаты получены в 5 случаях. Классическим бактериологическим методом исследования проб сывороток крови на плотной питательной среде выделить микобактерии не удалось, а при использовании метода предварительного культивирования рост измененных форм микобактерий туберкулеза был обнаружен в 7 случаях.

Кроме того, были исследованы бактериологическим методом доставленные в отдел бактериологии 7 проб лимфоузлов и паренхиматозных органов от реагировавших на туберкулин животных. Для этого кусочки материала помещали в ступку и заливали 5 %-ым раствором серной кислоты на 10-20 мин. Затем кислоту сливали, материал промывали 2-3 раза в течение 5-10 мин физ.раствором, после чего кусочки тщательно растирали с незначительным объемом свежего физиологического раствора. Полученную взвесь использовали для посевов.

Обработанный материал высевали на 4 пробирки с яичной питательной средой. Посев проводили платиновой петлей, осторожно втирая посевной материал по всей поверхности питательной среды или пастеровской пипеткой. Засеянные пробирки укладывали в наклонном положении и помещали в термостат при температуре 37-38 градусов. Через 2 дня посеvy просматривали и учитывали восстановление цвета среды, затем помещали в вертикальном положении в штативе для дальнейшего инкубирования.

Для предварительного культивирования отмытую физиологическим раствором суспензию биоматериала после предпосевной обработки 5 %-ным раствором серной кислоты вносили пастеровской пипеткой уколом по 0,25 см<sup>3</sup> в пробирки со средой Школьниковой, которые выдерживали в термостате при 37 °С в течение 1 сут. Затем, используя пастеровскую пипетку, посевной материал вместе с жидкой средой Школьниковой пересеивали по 0,25 - 0,5 см<sup>3</sup> в 3-5 пробирок с полужидкой синтетической средой Школьниковой в модификации Дорожковой (ДИР). Посевы ежедневно

просматривали в проходящем свете. На 3 сутки на синтетической среде ДИР наблюдали рост культур в виде нежного облачка (рисунок 3).

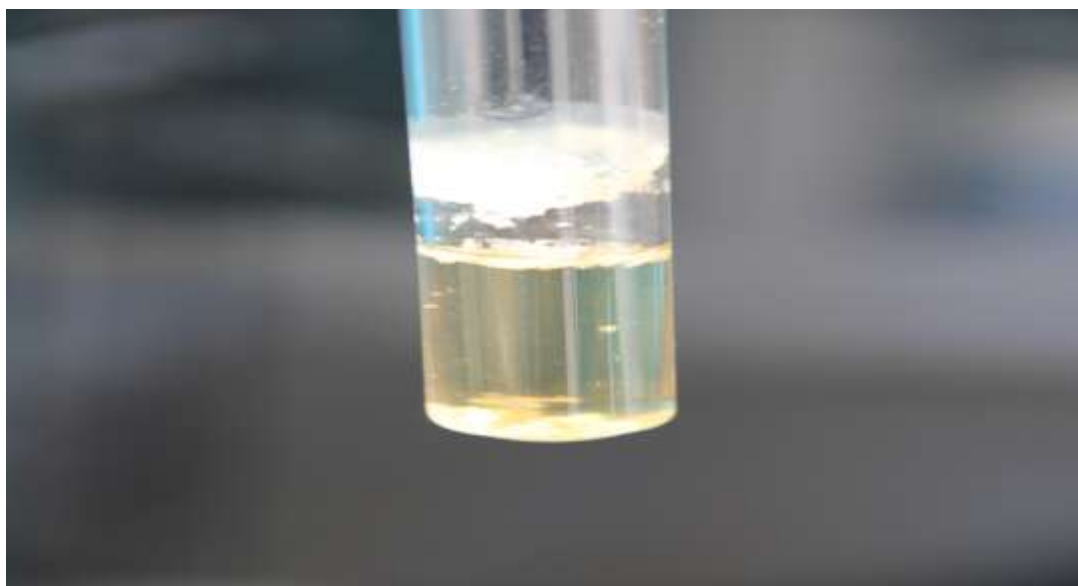


Рисунок 3 – Рост культуры микобактерий из проб патологического материала на среде ДИР

После появления роста культуры микобактерий на среде ДИР культуру микобактерий вместе с синтетической средой пастеровской пипеткой пересевали по 0,25 см<sup>3</sup> в 3-5 пробирок со средой Левенштейна-Йенсена. Посевы ежедневно просматривали, через 5-7 суток обнаружили рост колоний культур микобактерий на плотной питательной среде (рисунок 4).

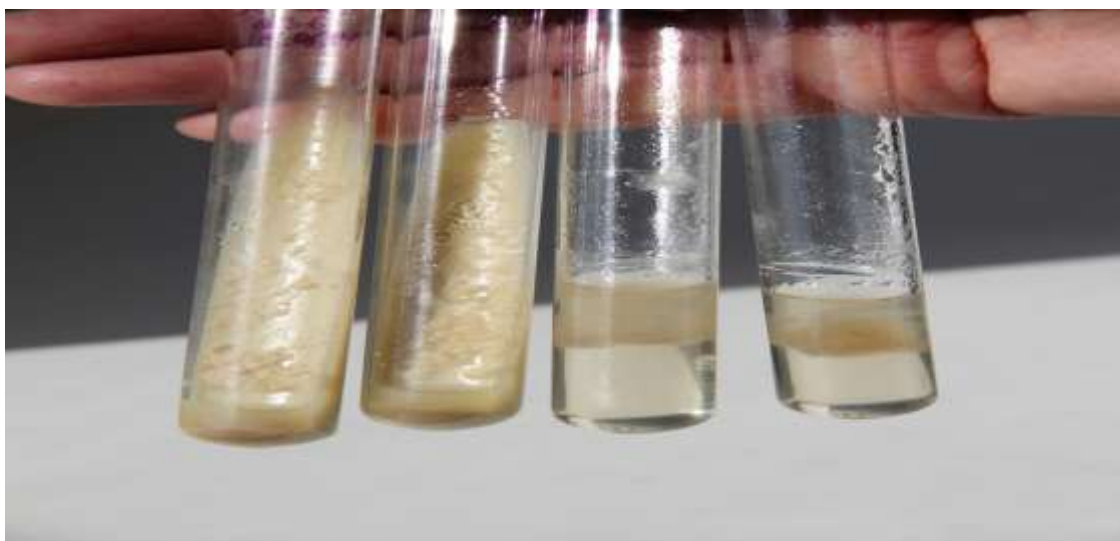


Рисунок 4 – Рост культур микобактерий из проб патологического материала на среде Гельберга и на среде ДИР

В результате выращивания микобактерий на плотной питательной среде Левенштейна-Йенсена на 30 сутки культивирования была выделена только одна культура микобактерий от реагировавшей коровы № К2 0604 из КХ «АТА» Карагандинской области, тогда как при предварительном культивировании проб биоматериала в жидкой среде Школьниковой в течение одних суток с последующим высевом на полужидкую питательную среду Школьниковой, модифицированную Дорожкой (ДИР), рост микобактерий был обнаружен в 5 случаях в период до 7 суток, в том числе в трех пробах биоматериала из ТОО «Байсерке-Агро» (таблица 2).

Таблица 2- Результаты исследования проб биоматериала от животных

№ проб	Бактериологическое исследование	
	Классический метод	Разрабатываемый
К2 0604, КХ «АТА»	+	+
К2 0571, КХ «АТА»	-	+
1- Байсерке-Агро	-	+
2 -Байсерке-Агро	-	-
3 -Байсерке-Агро	-	+
4- Байсерке-Агро	-	+
5 -Байсерке-Агро	-	-
Итого	1(1%)	(50 %)

Из таблицы 2 следует что выделение микобактерий туберкулеза разрабатываемым методом значительно превосходило классический метод.

**Заключение** Из приведенных данных можно заключить, что достоверность результатов исследования методом предкультивирования оказалась достаточно высокой благодаря более полному выявлению больных животных и бактерионосителей по сравнению с традиционными методами и исключению неоправданного убоя животных с неспецифическими и парааллергическими реакциями на туберкулин. Использование предложенного метода диагностики туберкулеза животных позволяет сократить сроки постановки первичного диагноза на туберкулез животных до 5 -7 сут и увеличить высеваемость культур микобактерий в пять раз.

### Литература

1. Тургенбаев К.А. Диагностика туберкулеза животных. – А., 2001. – С. 93 - 95.
2. Вейсфейлер Ю.К. Биология и изменчивость микобактерий туберкулеза и атипичные микобактерии. – Будапешт, 1975. – 334 с.
3. Лысенко А.П., Лемиш А.П., Архипов И.Н. и др. Выделение микроорганизмов из автоклавированной культуральной жидкости возбудителя туберкулеза и туберкулинов // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2002. - №2. – С. 25 - 29.

### **Сведения об авторах:**

Тургенбаев К.А. - доктор ветеринарных наук, заведующий отделом по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Тамгабаева С. - кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Шаймбетова А.К. - кандидат ветеринарных наук, заведующая лабораторией бактериологии ТОО «КазНИВИ»

### **Түйін**

#### **ТУБЕРКУЛЕЗДІ ЖЫЛДАМ БАЛАУ ҮШІН БАКТЕРИОЛОГИЯЛЫҚ ӘДІСТЕМЕНІ ӨНДЕУ**

Тургенбаев К.А., Тамгабаева С., Шаймбетова А.К.

«Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада алдын ала шоғырландырудың нәтижелері келтірілген.

*Кілттік сөздер:* Школьникова қоректік ортасы, балау, туберкулез микобактериялары

### **Summary**

#### **DEVELOPMENT OF SPEED - UP METHOD OF BACTERIODIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS**

Turgenbaev K.A., Tamgabaeva S., Shaimbetova A.K.

LLP «Kazakh scientific-research veterinary institute»

In article are provided results of research of a method of identification of mikobakteriya of tuberculosis in initial stages of development or being in the "sleeping" state.

*Keywords:* Shkolnikova's circle, diagnostics, tuberculosis micobacter

УДК: 619:.616.922.111.640



# СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПОЛИМЕРАЗНО-ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ ТУБЕРКУЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

Тургенбаев К.А., Шаймбетова А.К., Тамгабаева С., Нурлан К.,  
Туткышбай И.

ТОО «Казахский научно – исследовательский ветеринарный институт»  
Южно - Казахстанский государственный университет им. М. Ауезова

**Резюме** В статье приводятся результаты испытания диагностической эффективности исследуемого праймера и коммерческой тест-системой, изготовленной «ДНК-Технология».

*Ключевые слова:* ПЦР, реакционная смесь, праймер

**Введение** Важным звеном в оценке благополучия стада животных при сомнительных результатах аллергических и патологоанатомических исследований, являются лабораторные методы диагностики туберкулеза. Бактериологический метод, применяемый для постановки окончательного диагноза на туберкулез, считается основным. Сокращение сроков и повышение эффективности результатов при бактериологической диагностике туберкулеза животных – один из актуальных вопросов сегодняшнего дня. Немаловажное значение в диагностике туберкулеза имеет и повышение информативности питательных сред. И.Р.Дорожкой предложена модифицированная жидкая среда Школьниковой, в которой растут не только вегетативные, но и L-формы микобактерий туберкулеза.

При использовании метода микрокультивирования микобактерии туберкулеза обнаруживают на стеклах в виде хорошо оформленных микрокультур, напоминающих тяжи, жгуты косички или скопление отдельных особей без выраженной конфигурации [1].

Наличие микрокультур следует рассматривать как доказательство жизнеспособности микобактерий, их роста и размножения в жидкой питательной среде [2].

Обнаружение их позволяет ставить диагноз сразу же после просмотра, что важно в практическом отношении. Для подтверждения правильности диагноза используют методы Л. Е. Скрыбиной (1955), А. М. Говороне, В. И. Задара (1959), М. М. Дыхно и соав. (1956) и другие, позволяющие дифференцировать истинные микобактерии туберкулеза от сапрофитов непосредственно в мазке, или методы пересева микрокультур со стекол (дублеров) на твердые питательные среды. По мнению ряда авторов, последний прием позволяет сократить время получения макрокультур возбудителя туберкулеза в 1,5—2 раза. Однако этим приемом в лабораторной практике пользуются нечасто [3]. Glennon M., Jager B., Dowdall D. et al. [4] предлагают для индикации и дифференциации культур микобактерий бычьего вида полимеразную цепную реакцию – ПЦР с использованием ПЦР-

праймеров, включающих основной полиморфный tandemный повтор и элементы встраивания JS6110 и JS986.

**Материалы и методы исследований** Нами совместно с сотрудниками Костанайской НИВС была изучена эпизоотическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота по Костанайской (в хозяйствах ТОО «Приреченское», Денисовский район) области. Наибольший процент реагирующих животных выявлен в Денисовском районе – 0,4%. При диагностическом убое реагировавших на туберкулин животных зарегистрированы видимые туберкулезные изменения во внутренних органах и лимфоузлах. С соблюдением требований асептики и антисептики нами собраны 24 пробы патологического материала (рисунок 1).



Рисунок 1 – Заглоточный лимфатический узел

На рисунке 1 показаны изменения в лимфатических узлах, свойственные при туберкулезе.

После проведения вскрытия от каждого животного были взяты лимфатические узлы, печень, легкие и почки для проведения микробиологического исследования. Посевной материал подвергали предпосевной обработке по общепринятому методу (Аликаевой) и высевали на среду Гельберга.

Для предкультивирования отмытую физиологическим раствором суспензию биоматериала после предпосевной обработки вносили по 1 см<sup>3</sup> в пробирки со средой Школьниковой, которые выдерживали в термостате при 37 °С в течение 1 сут. Затем, используя пастеровскую пипетку, посевной материал вместе с жидкой средой Школьниковой пересевали по 0,25- 0,5 см<sup>3</sup> в 3-5 пробирок на синтетической среде Школьниковой. Посевы ежедневно просматривали в проходящем свете (рисунок 2).



Рисунок 2 – Рост *M. bovis* на синтетической среде через 3 суток

Как видно из рисунка 2, на 3 сутки на синтетической среде наблюдали рост культуры в виде нежного облачка. После появления в пробирках роста, используя пастеровскую пипетку, посевной материал вместе с синтетической средой пересевали по 0,25- 0,5 см<sup>3</sup> в 3-5 пробирок со средой Гельберга. Посевы ежедневно просматривали, через 5-7 суток обнаруживали рост микобактерий на плотной питательной среде. На среде Гельберга наблюдали через 5-7 суток рост культуры в виде мелких, сухих шаровидных колоний.

В результате проведенной работы из 24 проб биоматериала, полученного от реагировавших на туберкулин животных, выделено 10 эпизоотических культур микобактерий бычьего вида.

Из 10 эпизоотических культур выделяли ДНК с применением сорбции на силикагеле с использованием набора ДНК-сорб-В (ЦНИИЭ).

ПЦР проводили с опытным праймером и коммерческой тест-системой, изготовленной «ДНК-Технология». В 20 мкл реакционной смеси, содержащей 1,0 мкл раствора праймера, разработанный праймер п-4 направлен на обнаружение области 16S-23S rRNK, которая свойственна возбудителям туберкулеза, с концентрацией 10 п/моль, 3,0 мкл раствора исследуемой ДНК и 17,0 мкл DTCS (содержит компоненты реакционного буфера, дезоксинуклеозидтрифосфаты, термофильную полимеразу). Суммарный объем реакционной смеси составлял 20 мкл. Реакцию проводили в следующем режиме: T=94 °C, 5 мин (1 цикл); T=95 °C, 1 мин; T=60 °C, 1 мин; T=72 °C, 1 мин (25 циклов); T=72 °C, 1 мин, T=72 °C, 10 мин.

Постановку ПЦР осуществляли по общепринятым методикам на амплификаторе «Eppendorf». Анализ полученных в ПЦР данных проводили методом электрофореза в 1,7 %-ном агарозном геле в присутствии бромистого этидия. В качестве маркера использовали GeneRuler 100 bp DNA Ladder. Данные электрофореза учитывали в УФ-свете на трансиллюминаторе с длиной волны 254 нм. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Сравнение методов обнаружения *M.bovis* с праймерам (п-4) и коммерческой тест-системой

№	Культуральное	ПЦР с	С коммерческой тест-системой
---	---------------	-------	------------------------------

пробы	исследование	праймером п-4	«ДНК-Технология»
2805	+	+	+
2852	+	+	+
2986	+	+	+
1261	-		
2770	-		
9391	+	+	+
9137	+	+	+
0203	-		
2820	+	+	+
2835	+	+	+
2891	-		
2848	-		
2743	+	+	+
2018	-		
2245	-		
2545	-		
2809	-		
2165	-		
2817	+	+	+
0312	+	+	+
2857	-		
2223	-		
2744	-		
0240	-		

**Заключение** Как видно из таблицы 1, ПЦР с 10-тью пробами дала положительный результат как с разработанным опытным праймером п-4, так и с контролем. На основании полученных данных можно судить о высокой активности разработанного праймера, которая не уступает коммерческой тест-системе. При этом положительный сигнал при культуральном исследовании на наличие микобактерий совпал с таковым ПЦР в 100%.

### Литература

1. Тузова Р.В. Туберкулез сельскохозяйственных животных и птицы. – Минск: Урожай, 1983. – 263 с.
2. 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.
3. Банникова В.Н. Совершенствование методов бактериологического исследования патологического материала на туберкулез: Состояние и перспективы научных исследований по диагностике и профилактике туберкулеза и бруцеллеза и мерам борьбы с этими болезнями с. – х. животных. – Омск, 1980. – С. 61 – 63.

4. Донченко Н.А., Першикова Н.Л. Использование полимеразной цепной реакции для обнаружения ДНК микобактерий туберкулеза // Вестник КрасГАУ. – 2007. – №5. – С.129 – 131.

#### **Сведения об авторах:**

Тургенбаев К.А. - доктор ветеринарных наук, заведующий отделом по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Тамгабаева С. - кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Шаймбетова А.К. - кандидат ветеринарных наук, заведующая лабораторией бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Нурлан К. – магистрант отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Туткышбай И. – Южно-Казахстанский государственный университет им. М. Ауезова, доцент

#### **Түйін**

### **МАЛ ТУБЕРКУЛЕЗІН БАЛАУДА ПОЛИМЕРАЗДЫ ТІЗБЕКТЕУ РЕАКЦИЯСЫНЫҢ САЛЫСТЫРМАЛЫ ТҮРДЕГІ ТИІМДІЛІГІ**

Тургенбаев К.А., Шаймбетова А.К., Тамгабаева С., Нұрлан К.,  
Тұтқышбай И.

«Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты» ЖШС  
М. Әуезов атындағы Оңтүстік – Қазақстан мемлекеттік университеті

Мақалада зерттелетін праймер мен «ДНК-Технология» дайындаған коммерциялық тест-жүйесінің салыстырмалы түрдегі зерттеу нәтижелері келтірілген.

*Кілттік сөздер:* ПТР, реакциялық қоспа, праймер

#### **Summary**

### **COMPARATIVE EFFECTIVENESS POLYMERASE CHAIN REACTION IN THE DIAGNOSIS OF ANIMAL TUBERCULOSIS**

Turgenbayev K.A., Shaimbetova A.K., Tamgabaeva S., Nurlan K.,  
Tutkishbay I.

LLP «Kazakh scientific-research veterinary institute»  
South - Kazakhstan state university the name of M. Auesov

The article presents the results of the test the diagnostic efficacy of the test primer and a commercial test system made «DNA Technology».

*Keywords:* PCR, reaction mixture, primer

УДК 619:616:981.42

## **СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ВОПРОСА БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ В ЗАПАДНО - КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ**

**Туяшев Е. К., Канатбаев С. Г., Аманжол Р.А., Шытырбаева З.**

Филиал «Западно - Казахстанская научно – исследовательская ветеринарная станция» ТОО «КазНИВИ»

**Резюме** В статье дана характеристика природно-климатическим и эпизоотологическим особенностям каждой зоны западного региона республики. Приведены основные направления в планировании противобруцеллезных мероприятий.

*Ключевые слова:* эпизоотия, мониторинг, исследование, профилактика

**Введение** Бруцеллез крупного и мелкого рогатого скота наносит большой экономический ущерб хозяйствам из-за снижения продуктивности, преждевременной выбраковки животных, затрат на проводимые профилактические и оздоровительные мероприятия [1,2].

Являясь основой рационального планирования специальных мероприятий по борьбе с инфекционными болезнями эпизоотологический мониторинг позволяет своевременно выявлять причины возникновения и распространения особо опасных болезней животных и проследить за их эпизоотическими и социально – экономическими последствиями, способствуя проведению комплексной и быстрой корректировки планируемых противоэпизоотических мероприятий и разработке периодических прогнозов.

Таким образом, эпизоотологический мониторинг и прогнозирование, а также реализация их результатов в государственном масштабе для успешного обеспечения профилактики инфекционных болезней и борьбы с ними являются насущными задачами ветеринарной науки и практики [3].

Целью наших исследований явилось - проведение эпизоотологического мониторинга по бруцеллезу крупного и мелкого рогатого скота в

зависимости от природно-климатических факторов области и проявления эпизоотического процесса.

**Материалы и методы** На основании данных о количестве заболевших животных и сведений о количестве и расположения неблагополучных пунктов с учетом климатических условий в разрезе административных районов изучены границы и степень эпизоотического проявления бруцеллеза животных.

Эпизоотологическое районирование Западно-Казахстанской области по бруцеллезу крупного рогатого скота проводилось в соответствии со схемой эпизоотологического районирования территории, разработанной ранее и на основании эпизоотологического анализа данных о распространении бруцеллеза крупного рогатого скота в области [4].

**Результаты исследований** Как свидетельствуют официальные статистические данные ветеринарной отчетности территория Западно-Казахстанской области на протяжении многих лет является неблагополучной по бруцеллезу крупного и мелкого рогатого скота. Так, согласно этим данным, в 2012 году по области заболело бруцеллезом 6300 голов крупного рогатого скота, в 2013 году - 4809, в 2014 году - 8209. Самая высокая заболеваемость среди крупного рогатого скота отмечена в Бокейординском (2,99%), Жангалинском (2,46%) Акжайкском (2,34%) районах.

Аналогичный анализ официальных данных диагностических исследований на бруцеллез мелкого рогатого скота позволил установить, что в 2012 году было выявлено 3442 положительно реагирующих на бруцеллез овец, в 2013 году - 2042, в 2014 году - 2077. При этом отмечено, что среди овец заболеваемость бруцеллезом наиболее часто зарегистрирована в г. Уральске (2,7%) и в Бурлинском районе (0,78%).

Необходимо отметить, что если в 2012 году 2 пункта являлись неблагополучными по бруцеллезу мелкого рогатого скота, то в 2013 г. было зарегистрировано 14 неблагополучных по бруцеллезу пунктов, из них 4 по бруцеллезу крупного рогатого скота и 10 по бруцеллезу мелкого рогатого скота.

В 2014 году было всего зафиксировано 17 неблагополучных по бруцеллезу пунктов, в т.ч. 9 пунктов по бруцеллезу крупного рогатого скота и 8 пунктов по бруцеллезу мелкого рогатого скота.

В неблагополучных хозяйствах было выделено заболевших бруцеллезом 796 голов КРС и 991 голов МРС.

Зонирование территории ЗКО по степени распространения бруцеллеза КРС показано на рисунке 1.



Рисунок 1 - Зонирование территории ЗКО по степени распространения бруцеллеза КРС

Из рисунка 1 видно, что более низкая степень проявления бруцеллеза КРС наблюдается в северной зоне области (Бурлинский, Зеленовский и Шынгирлауский районы).

Зима на севере области продолжается в течение 5-6 месяцев и характеризуется небольшим снежным покровом. На севере развиты молочное животноводство и зерновое земледелие. Для этой зоны характерна более высокая культура ведения животноводства, наибольший охват животных диагностическими исследованиями, вследствие чего показатели заболеваемости в северной зоне самые минимальные (0,2% до 0,7%).

Средняя степень проявления бруцеллеза выявлена в пустынной зоне области, где разводят в основном казахскую белоголовую породу крупного рогатого скота, куда относятся территории Каратобинского и Сырымского районов и часть Акжайкского районов.

Маточные гурты большую часть года находятся на пастбище, пользуясь естественными водоемами, где трудно избежать возможных контактов здорового скота с животными из неблагополучных по бруцеллезу хозяйств. В таких хозяйствующих субъектах зараженность скота бруцеллезом составляет от 0,91% до 1,35%.

Высокая степень проявления бруцеллеза установлена в пустынной части области, где климат сухой и континентальный. Для этой зоны характерны короткая зима и длительный пастбищный период. Скудная урожайность трав вызывает необходимость пасти скот на большой территории, что делает ее порою в течение многих лет недоступной для проведения массовых диагностических исследований. В этой зоне отмечается низкая эффективность проводимых противоэпизоотических мероприятий из-за неполного охвата животных, несвоевременной сдачи больного скота и др. причин. Именно в этой зоне находятся районы с высоким уровнем



заболеваемости бруцеллезом на протяжении всего периода изучения болезни. Так, в Бокейординском, Жанибекском и Казталовском районах заболеваемость скота бруцеллезом составляет 3,82, 3,02 и 2,55%, соответственно.

Зонирование территории ЗКО по степени распространения бруцеллеза МРС показано на рисунке 2.



Рисунок 2 - Зонирование территории ЗКО по степени распространения бруцеллеза МРС

Как видно из рисунка 2, по степени проявления бруцеллеза среди мелкого рогатого скота большую часть территории области можно отнести к зоне с низкой степенью заражения (от 0,2 до 0,87%). Таковыми являются Бокейординский, Жангалинский, Зеленовский и Таскалинский районы, в которых зарегистрированы единичные случаи заболевания животных, официально относящиеся к благополучным по бруцеллезу зонам.

Таким образом, границы эпизоотии бруцеллеза среди крупного рогатого скота в Западно-Казахстанской области имеют выраженную территориальность, которая в определенной степени связана с природно-климатическими условиями зон.

Степень заболеваемости мелкого рогатого скота носит неравномерный характер, при этом не прослеживается какая - либо связь с эпизоотологической зональностью.

Эпидемиологическая обстановка в области по бруцеллезу также остается нестабильной. Согласно статистике департамента по защите прав потребителей по области заболело бруцеллезом в 2012 году – 55 человек, в 2013 году – 52, в 2014 году – 53.

Неустойчивая эпидемиологическая ситуация по бруцеллезу людей имеет прямую коррелятивную связь с эпизоотическим неблагополучием по данному заболеванию сельскохозяйственных животных (крупного и мелкого рогатого скота). Чаше зарегистрировано больных бруцеллезом людей в 5

районах области (Акжайикский, Бурлинский, Казталовский, Сырымский, Шынгирауский), на территории которых по официальным данным за 2013-2014 годы находятся неблагополучные пункты по бруцеллезу мелкого рогатого скота. Так, например, за последние 3 года, в Акжайикском районе бруцеллезом заболело 15 человек, в основном из Караултобинского с/о Акжайикского района и только в этом году в указанном сельском хозяйстве заболело 4 человека. Караултобинский с/о с 2013 г. является неблагополучным по бруцеллезу мелкого рогатого скота и за 2 года в нем выявлено 178 голов больных овец.

Такую же прямую коррелятивную связь между заболеваемостью бруцеллезом людей и животных можно наблюдать и в неблагополучном по бруцеллезу овец с/о «Достыкский» Зеленовского района, а также неблагополучном одновременно по бруцеллезу крупного и мелкого рогатого скота в Акбулакском с/о Шынгирауского района области.

В 2014 году в Достыкском сельском округе Зеленовского района бруцеллезом заболели 3 человека. В указанном сельском округе при последующем серологическом исследовании 1706 голов мелкого рогатого скота было выделено 61 положительно реагирующих на бруцеллез особей, а округ был объявлен неблагополучным. Установлено, что больные животные были завезены из Каратобинского района при переезде жителя в пригородный поселок без соответствующей ветеринарной документации, и на новом месте ветветспециалисты не были информированы о завозе скота. Инфекция обнаружилась после выявления у людей бруцеллеза. Проводятся оздоровительные мероприятия.

В к/х «Акбота» Караобинского сельского округа Казталовского района в зимний период 2013-2014 годов отмечено около 40 случаев аборт у коров, из которых 3 абортированных плода были доставлены в ветеринарную лабораторию, где в результате бактериологических исследований были выделены бруцеллы. В последующем хозяйство было объявлено неблагополучным по бруцеллезу крупного рогатого скота, а животные подвергнуты серологическим исследованиям с целью выявления положительно реагирующих особей. В результате первичного исследования 293 голов крупного рогатого скота было выявлено 154 головы больного скота, а при вторичном исследовании 137 голов выделено 72 головы и далее при последующем исследовании 84 голов выявлено 37 голов положительно реагирующего скота. Всего выделено 514 голов заболевших бруцеллезом животных.

Установлено, что причинами распространения бруцеллеза среди животных области является бесконтрольный закуп скота, в т.ч. больного, из других хозяйств, несвоевременное выявление больных животных, низкое ветеринарно-санитарное состояние хозяйств, отсутствие у животных противобруцеллезного иммунитета.

Были установлены следующие факторы, способствующие распространению бруцеллеза среди животных:

- относительно низкий ветеринарно-санитарный уровень ведения животноводства;
- бесконтрольный ввоз животных из неблагополучных по бруцеллезу хозяйств и несвоевременная сдача больного скота на убой;
- совместный выпас на пастбищах животных из неблагополучных по бруцеллёзу подворий и здоровых животных;
- контаминация объектов внешней среды бруцелл;
- отсутствие вакцинации животных

**Заклучение** Полученные, в результате анализа эпизоотической ситуации, данные свидетельствуют о необходимости комплексного подхода к решению проблемы профилактики бруцеллёза как социально значимого заболевания путем существенного повышения охвата диагностическими исследованиями на бруцеллёз крупного и мелкого рогатого скота, вакцинопрофилактики в угрожаемых зонах, усиления ветеринарного надзора за состоянием неблагополучных пунктов и контроля над перемещением животных по области.

### **Литература**

1. Триленко П. А. Бруцеллез сельскохозяйственных животных. – М.: Колос, 1976. - 280 с.
2. Косилов И.А. Бруцеллез сельскохозяйственных животных. - Новосибирск: Сибирское отделение РАСХН, 1992. - 260 с.
3. Абуталип А. и др. Задачи эпизоотологического мониторинга РК // Наука и образование. – А., 2008. - № 2. – 32 с.
4. Туяшев Е.К., Канатбаев С. Г., Нысанов Е.С., Кайыржанов А.Ш. Меры борьбы с бруцеллёзом крупного рогатого скота в Западно-Казахстанской области // Сб. научн. тр. КазНИВИ «Проблемы теории и практики современной ветеринарной науки». – А., 2013. – Т. 59. – С. 265 - 269.

### **Сведения об авторах:**

Туяшев Е.К. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник филиала «Западно - Казахстанская НИВС» ТОО «КазНИВИ»

Канатбаев С.Г. - доктор биологических наук, главный научный сотрудник филиала «Западно - Казахстанская НИВС» ТОО «КазНИВИ»

Аманжол Р.А. - кандидат ветеринарных наук, директор филиала «Западно - Казахстанская НИВС» ТОО «КазНИВИ»

Шытырбаева З. - PhD докторант ТОО «КазНИВИ»

### **Түйін**

# БАТЫС ҚАЗАҚСТАН ОБЛЫСЫНДАҒЫ КӘЗІРГІ КЕЗДЕГІ ЖАНУАРЛАР БРУЦЕЛЛЕЗИНІҢ ЖАҒДАЙЫ

Туяшев Е. К., Канатбаев С.Г., Аманжол Р.А., Шытырбаева З .

«Батыс - Қазақстан ғылыми - зерттеу ветеринариялық станциясы» Қазақ  
ҒЗВИ ЖШС филиалы

Мақалада БҚО әрбір аймақтың табиғи-климаттық және індеттанулық ерекшеліктері және бруцеллезге қарсы шаралардың негізгі бағыттары жөнінде айтылады.

*Кілттік сөздер:* эпизоотология, мониторинг, зерттеу, алдын-алу

## Summary

### CURRENT STATE OF ANIMAL BRUCELLOSIS IN WEST KAZAKHSTAN REGION

Tuyashev E.K., Kanatbayev S.G., Amanzhol R.A., Shytyrbaeva Z.

Branch « West Kazakhstan Scientific - Research Veterinary Station»

The article describes the characteristics of natural climatic and epizootological features of each region's zone. The main directions in planning antibrucellar measures.

*Keywords:* epizootology, monitoring, research, prevention

УДК 619.24: 616.5

### КОМИССИОННО-ЛАБОРАТОРНОЕ ИСПЫТАНИЕ ОПЫТНО- ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СЕРИИ ИНАКТИВИРОВАННОЙ АССОЦИИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ТРИХОФИТИИ И МИКРОСПОРИИ ЛОШАДЕЙ

Умитжанов М., Боранбаева Р.С.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме** В статье приведены данные комисионно-лабораторного испытания опытно-экспериментальной серии инактивированной ассоциированной вакцины против трихофитии и микроспории лошадей, изготовленной из штаммов *Trichophyton equinum* F-0181 и *Microsporium equinum* F-0182, на лабораторных животных (кролики).

*Ключевые слова:* вакцина, инаktivация, ассоциация, вакцинные штаммы, иммуногенность, эффективность, кролики

**Введение** 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 и микроспория. В настоящее время для изготовления биопрепаратов против трихофитии и микроспории лошадей используются вакцинные штаммы *Trichophyton equinum* F-0181 и *Microsporum equinum* F-0182.

**Материалы и методы исследований** На инаktivированную ассоциированную вакцину против трихофитии и микроспории лошадей, а также на указанные выше вакцинные штаммы получены инновационные патенты Республики Казахстан [1, 2, 3].

Инаktivированная ассоциированная вакцина против трихофитии и микроспории лошадей, включающая антиген штамма гриба *Trichophyton equinum* F-181, который получен ресуспензированием солевого раствора натрия хлорида с добавлением геля гидроокиси алюминия, также дополнительно содержал антиген штамма гриба *Microsporum equinum* F-182, глицерин и формалин.

Накопление биологической массы и жизнеспособности макро- и микроконидий вакцинных штаммов определяли в камере Горяева по общепринятой методике.

**Результаты исследований** Для получения инаktivированной ассоциированной вакцины против трихофитии и микроспории лошадей брали 16 сут культуру штамма *Microsporum equinum* F-182 и 18 сут культуру штамма *Trichophyton equinum* F-181, которые выращивали отдельно в матровых колбах на суслоагаре при pH 7,2-7,4 и температуре 28 °С в течение 16-21 суток. Выращенную грибницу каждой культуры в условиях асептики снимали с поверхности питательной среды стеклянными грибными скребками и помещали в стерильные банки. В каждый собранный вакцинный штамм добавляли по 300,0 см<sup>3</sup> стерильного физиологического раствора. Грибковую массу каждого штамма гомогенизировали в миксерах, затем с помощью стерильного физиологического раствора полученные грибковые гомогенаты 2-х штаммов инаktivировали 3%-ным формалином и соединяли в равных объемах. Дополнительно подвергали разрушению ультразвуком на УЗДН-А частотой волн 22 кГц, интенсивностью 100 Вт/см<sup>2</sup> в течение 1 часа. После разрушения гомогенную массу помещали в холодильник при температуре 4 °С в течение 1 сут. Затем брали пробу для микроскопического анализа на наличие не разрушенных спор с

последующим посевом на питательные среды. После этого брали 3 пробы для бактериологического и микологического контроля в дозе 1,0 см<sup>3</sup>. Далее полученную гомогенную массу центрифугировали при 6000 об/мин в течение 20 мин. Гомогенная биологическая масса гомогената необходимо для изготовления ассоциированной инактивированной вакцины. С помощью фотоэлектроколориметра определяли концентрацию полученного белка в 1,0 см<sup>3</sup> полученной суспензии. После к грибковой суспензии антигена на солевом растворе NaCl добавляли гель гидрата окиси алюминия (8-12%) по сухому веществу. Смесь ставили в термостат на 1 сутки и время от времени перемешивали 3-5 раз. После этого к готовой вакцине добавляли глицерин (98° химически чистый) из расчета 8-12% от объема гомогената. Все тщательно перемешивали и разливали по флаконам объемом от 10,0 до 200,0 см<sup>3</sup> по 10,0-200,0 см<sup>3</sup>, закрывали резиновыми пробками, завальцовывали алюминиевыми колпачками и этикетировали.

Согласно приказу ТОО «КазНИВИ» №40 от 20 июня 2014 года было проведено комиссионно-лабораторное испытание опытно-экспериментальной серии инактивированной ассоциированной вакцины против трихофитии и микроспории лошадей на лабораторных животных.

В испытаниях использованы кролики породы «Шиншилла» в количестве 20 голов весом 2,5 кг. В качестве контроля - 10 голов кроликов. Вакцину вводили внутримышечно в область бедра двукратно с интервалом 14 суток в дозе 1,0 см<sup>3</sup>. Спустя 21 суток после второй иммунизации, опытных и контрольных кроликов (не вакцинированных) заражали на кожу в область левой лопатки смесью эпизоотической вирулентной культуры гриба *Trichophyton* и *Microsporum equinum*. Перед заражением эпизоотические вирулентные культуры *Trichophyton* и *Microsporum equinum* высевали в пробирки с суслоагаром и культивировали в течение 21 суток в термостате при температуре 28 °С. В пробирки с выросшей культурой грибов *Trichophyton* и *Microsporum equinum* наливали по 5,0 см<sup>3</sup> стерильного физиологического раствора, после этого пробирку с культурами встряхивали для получения споровой суспензии. Из двух пробирок с культурами отбирали по 3,0 см<sup>3</sup> споровой взвеси, одновременно смешивали в стерильной пробирке, затем подсчитывали концентрацию спор в 1,0 см<sup>3</sup> суспензии с использованием камеры Горяева, а также концентрацию споровой части для заражения доводили до 2 млн/см<sup>3</sup>.

Заражение опытных и контрольных групп кроликов проводили нанесением (втиранием) 0,5 см<sup>3</sup> споровой суспензии с концентрацией спор 2 млн/см<sup>3</sup> на поверхность скарифицированного участка кожи, подготовленной заранее размером 5x5 см<sup>2</sup> в области левой стороны лопатки. От клинически больных кроликов брали патологический материал с места заражения эпизоотическими культурами *Trichophyton* и *Microsporum equinum*. В результате культивирования патологического материала, взятого с места заражения, нами выделены субкультуры.

Результаты иммуногенной активности инактивированной ассоциированной вакцины против трихофитии и микроспории лошадей отражены в таблице 1.

Из данной таблицы 1 видно, что иммуногенная активность инактивированной ассоциированной вакцины против трихофитии и микроспории лошадей показала, что вакцина защищает кроликов, привитых двукратно с интервалом 14 суток в дозе 1,0 см<sup>3</sup>, при контрольном заражении через 21 сутки после последней иммунизации гомологичными эпизоотическими культурами *Trichophyton* и *Microsporum equinum* от заражения.

Учет результатов проводили через 10 суток после заражения. Контрольные кролики заболели с проявлением выраженных клинических признаков трихофитии и микроспории на зараженных участках кожи. У 10-ти кроликов, иммунизированных инактивированной ассоциированной вакциной против трихофитии и микроспории лошадей, не отмечались случаи грибковых заболеваний.

Таблица 1 – Иммуногенная активность инактивированной ассоциированной вакцины против трихофитии и микроспории лошадей

Наименование препарата	Кролики, голов	Профилактическая доза вакцины, см <sup>3</sup>	Кратность введения вакцины	Заражающая доза, 2 млн/см <sup>3</sup>	Заболевшие кролики, голов	Не заболевшие кролики, голов	Иммуногенность, %
Опытно-экспериментальная серия инактивированной ассоциированной вакцины против трихофитии и микроспории лошадей	10	1,0	2 раза с интервалом 14 суток	0,5 см <sup>3</sup> наочно	-	10	100
Контрольная группа (физ. рас-р.)	10	-	-	0,5 см <sup>3</sup> наочно	10	-	-

**Обсуждение результатов** Для изготовления вакцинных препаратов против трихофитии и микроспории лошадей используются вакцинные штаммы *Microsporum equinum* F-0182 и *Trichophyton equinum* F-0181, которые культивируются отдельно соответственно 16-21 суток при температуре 28 °С. Для профилактической иммунизации инактивированная

ассоциированная вакцина против трихофитии и микроспории лошадей применяется двукратно с интервалом 14 суток, больным животным вводится двукратно с интервалом 14 суток в удвоенной профилактической дозе.

Приготовленная таким образом инактивированная ассоциированная вакцина позволяет надежно профилактировать заболеваемость поголовья лошадей от трихофитии и микроспории.

**Заключение** На основании полученных данных установлено, что комиссия рекомендовала инактивированную ассоциированную вакцину из штаммов *Trichophyton equinum* F-0181 и *Microsporum equinum* F-0182 против трихофитии и микроспории лошадей, разработанную в ТОО «КазНИВИ», для широкого производственного испытания.

### **Литература**

1. Инактивированная ассоциированная вакцина против трихофитии и микроспории лошадей. Инновационный патент РК №28799 от 20.03.13.

2. Штамм гриба *Trichophyton equinum* F-0181, используемый для изготовления инактивированной вакцины против трихофитии лошадей. Инновационный патент РК №27628. - Бюл.№1. - 2013.

3. Штамм гриба *Microsporum equinum* F-0182, используемый для изготовления инактивированной вакцины против микроспории лошадей. Инновационный патент РК №28819. - Бюл. №1. - 2013.

### **Сведения об авторах:**

Умитжанов М. – доктор ветеринарных наук, ас. профессор, главный научный сотрудник отдела по научно-методическому обеспечению эпизоотического и ветеринарно-санитарного благополучия ТОО «КазНИВИ»

Боранбаева Р.С. – кандидат биологических наук, старший лаборант лаборатории бактериологии ТОО «КазНИВИ»

### **Түйін**

**ЖЫЛҚЫ ТРИХОФИТИЯСЫ МЕН МИКРОСПОРИЯСЫНА ҚАРСЫ  
ДАЙЫНДАЛҒАН ТӘЖІРИБЕЛІК ИНАКТИВТЕНДІРІЛГЕН  
АССОЦИАЛАНҒАН ВАКЦИНА СЕРИЯСЫН КОМИСИЯЛЫҚ-  
ЗЕРТХАНАЛЫҚ СЫНАҚТАН ӨТКІЗУ**

Умитжанов М., Боранбаева Р.С.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС



Мақалада *Trichophyton equinum* F-0181 және *Microsporum equinum* F-0182 жылқы вакциналық штаммдарынан дайындалған тәжірибелік инактивтендірілген ассоциаланған вакцина сериясын зертханалық жануарлар (қояндар) арқылы комиссиялық-зертханалық сынақтан өткізу кезінде алынған мәліметтер жарияланған.

*Кілттік сөздер:* вакцина, инактивтендіру, ассоциаланған, вакциналық штаммдар, иммуногендігі, тиімділігі, қояндар

### Summary

#### COMMISSION-LABORATORY TESTING OF EXPERIMENTAL SERIES ASSOCIATED INACTIVATED VACCINE AGAINST TRICHOPHYTOSIS AND MICROSPORIA HORES

Umitzhanov M., Boranbaeva R.S.

LLP «Kazakh scientific research veterinary institute»

In the article presents the date of laboratory testing of experimental series associated inactivated vaccine against trichophytosis and microsporia horses made from strain of *Trichophyton equinum* F-0181 and *Microsporum equinum* F-0182 on laboratory animals (rabbit).

*Keywords:* vaccine, inactivated, association, vaccine strains, immunogenicity, efficacy, rabbits

ӘОЖ 619.24: 616.5

#### ІРІ ҚАРА МАЛЫНЫҢ ТРИХОФИТИЯСЫНА ҚАРСЫ ДАЙЫНДАЛҒАН ИНАКТИВТЕНДІРІЛГЕН ВАКЦИНАНЫҢ АЛДЫН АЛУ ЖӘНЕ ЕМДІК ТИІМДІЛІГІ

Умитжанов М., Боранбаева Р.С., Шалабаев Б.Ә., Болат М.

«Қазақ ғылыми - зерттеу ветеринария институты» ЖШС

**Түйін** Мақалада *Trichophyton verrucosum* F-0271 штаммынан ірі қара малының трихофитиясына қарсы жасалған инактивтендірілген вакцинаны зертханалық жануарларға (қояндар) жүргізілген сынақтан кейінгі алынған мәліметтер жарияланған.

*Кілттік сөздер:* вакцина, инактивация, вакциналық штамм, иммуногендігі, алдын алу және емдік тиімділігі, қояндар

**Кіріспе** Дерматомикоздар (трихофития, микроспория, фавус) – жануарлардың тері мен жүн арасында кездесетін ең үлкен топқа жататын залалды саңырауқұлақтар арқылы пайда болатын тері аурулары. Бұл залалды саңырауқұлақ ауруларымен ондаған жылдар бойы Қазақстан ғалымдары мен шет ел ғалымдары әлі күнге дейін күресіп келеді.

Ірі қара малының залалды трихофития саңырауқұлақ ауруы кең көлемде таралған созылмалы індеттік аурулар қатарына жатады. Ірі қара шаруашылықтарында (фермерлік, шаруа және жекеменшік) трихофития індетінің тигізетін экономикалық шығыны орасан зор, атап айтқанда малдың салмағын төмендетеді (жиі жас төлдерде), құндылығы мен мал терісінің сапасын және емдеу мен мал дәрігерлік карантиндік шараларды жүргізуге кететін шығындармен сипатталады. Осы уақытқа дейін Қазақстан Республикасында аталмыш ауруға қарсы отандық биологиялық дәрмектің жоқтығы, осы мәселеге тосқауыл болалмай отыр. Қазақстанда ірі қара мал басының көбеюіне байланысты, осы залалды саңырауқұлақ ауруының жас төлдер арасында бас көтеруінің жиіленіп кетуі. Трихофития ауруының жиіленіп кетуінің бір себебі, қоражайдың ылғалды болуы, жоспарлы түрде ветеринариялық-санитариялық шаралардың уақытында орындалмауы, малдарды антисанитариялық жағдайда ұсталуы және залалсыздандыру жұмыстарын уақытында жүргізілмеуі және тағы басқалар.

Ресей елінде трихофития ауруын емдеуге арналған биологиялық дәрмек ЛТФ-130 және көпвалентті «Вермет» дәрмектері қолданылады [1].

Қазақстан Республикасында ірі қара малының басы және алыс шет елдерден сатып алынатын мал басы да жыл сайын өсіп келеді. Сондықтан да біздің еліміздегі мал шаруашылығы отандық биологиялық дәрмектерге зәру, себебі биологиялық дәрмек трихофития ауруына тосқауыл болып, алынатын сүт, тері мен ет өнімдерінің таза болуының айғағы.

Ірі қара малының трихофитиясына қарсы дайындалатын отандық инактивтендірілген вакцинаның екі қасиеті бар, ол алдын алу, емдеу және үш еселенген алдын алу мөлшері трихофития ауруының асқыну деңгейіне байланысты егіледі.

Отандық биологиялық дәрмек ең бірінші Қазақстан Республикасындағы ірі қара мал шаруашылықтарындағы трихофития індетін емдеуге бағытталады. Дайындалатын биологиялық дәрмектің әлеуметтік маңызы мал шаруашылықтарында кездесетін індеттік саңырауқұлақ ауруын бір мезгілде алдын алу және емдеу арқылы жоғары сапалы халық мүдесіне жарамды өнімдерге (сүт, ет және тері) қол жеткізуге болады.

Трихофития ауруын залалды саңырауқұлақтар тудырады, сондықтан аталмыш ауруды дәрі-дәрмектермен емдеу, әр қашанда тиімді болмайды.

**Материалдар мен әдістемелік зерттеулер** Ірі қара малының трихофития дерматофитінің өсіндісінің негізгі биологиялық қасиеті зерттелінді және жүргізілген идентификаттау жұмыстары П.Н.Кашкиннің және тағы басқалардың [1] залалды саңырауқұлақтарды идентификаттауға арналған анықтамасында «Адамдарға зиянды, уытты және залалды

саңырауқұлақтар түрлері» мен қатар, Д.Саттонның [2] берген тұжырымдамасы бойынша жүргізілді.

**Зерттеу жұмыстарының нәтижелері** Ірі қара малының трихофитиясына қарсы тәжірибелік инактивтендірілген вакцинаның дайындау технологиясы жасалды. Аталмыш инактивтендірілген вакцинаның тәжірибелік сериясының тиімділігі зертханалық қояндарға жүргізіліп оң нәтиже алынды. Ірі қара малының трихофитиясына қарсы жасалған тәжірибелік инактивтендірілген вакцинаның алдын алу және емдік тиімділігі 1-ші және 2-ші кестелерде көрсетілген.

Кесте 1 – Зертханалық жануарларға (қояндарға) жүргізілген ірі қара малының трихофитиясына қарсы жасалған тәжірибелік инактивтендірілген вакцинаның алдын алу тиімділігі

P/c	Вакцина атауы	Жануарлар саны (бас)	Вакцина мөлшері (см <sup>3</sup> )	Вакцина егу реті	Залалдау мөлшері (LD <sub>50</sub> ), 2 млн/см <sup>3</sup>	Зерттеу нәтижесі		Вакцина тиімділігі (%)
						Ауырғандары	Ауырмағандары	
1	Ірі қара малының трихофитиясына қарсы инактивтендірілген вакцина	10	1,0	2 рет арасына 14 күн салып	5LD <sub>50</sub>	-	10	100
2	Бақылау тобы (физиологиялық ерітінді)	10	1,0	2 рет арасына 14 күн салып	5LD <sub>50</sub>	10	-	-

Кесте 2 – Зертханалық жануарларға (қояндарға) жүргізілген ірі қара малының трихофитиясына қарсы жасалған тәжірибелік инактивтендірілген вакцинаның емдік тиімділігі

P/c №	Вакцина атауы	Ауырғандар саны (бас)	Вакцина мөлшері (см <sup>3</sup> )	Вакцина егу реті	Зерттеу нәтижесі		Вакцина тиімділігі (%)
					Ауырғандары	Жазылғандары	
1	Ірі қара малының трихофитиясына қарсы сұйық инактивтендірілген вакцина	10	2,0	2 рет арасына 14 күн салып	-	10	100

Көрсетілген 1-ші және 2-ші кестелерде ірі қара малының трихофитиясына қарсы дайындалған тәжірибелік инактивтендірілген вакцинаның алдын алу және емдік тиімділіктері соңғы иммундалған күннен

21 тәулік өткен соң, бақылау тобындағы қояндармен бірге, бір мезгілде арнайы дайындалған арқа үстіне (5 x 5 см<sup>2</sup>) 18 тәулік гомологиялық індеттік штаммының бес еселенген өсіндісінің (SLD<sub>50</sub>) мөлшерін үйкеп жағып жұқтыру арқылы залалдандырылды. Тәжірибелік және бақылау тобындағы қояндарды 20 тәулік бойы бақылау мерзімінде, иммундалған тәжірибелік қояндарда аталмыш аурудың клиникалық көрінісі байқалмады, ал бақылау тобындағы қояндарда трихофития ауруының клиникалық көрінісі айқын байқалды.

Ірі қара малының трихофитиясына қарсы дайындалған инактивтендірілген вакцинаның емдік тиімділігін анықтау үшін бақылау тобындағы трихофитиямен ауырған қояндарды вакцинаның алдын алу мөлшерін екі еселеп, 2 рет арасына 14 тәулік салып бұлшық етке егілді. Вакцинаның емдік тиімділігі соңғы иммундалған күннен бастап 28-30 күн өткен соң байқала бастады. Ауру ошақтары бар арнайы жұқтырылған жерлерде қабыршақтар босаңсып түсіп, олардың орнына жаңа жүндер өсе бастады.

**Қорытынды** Ғылыми-зерттеулердің нәтижесінде, ірі қара малының трихофитиясына қарсы дайындалған инактивтендірілген вакцина өндірістік жағдайда ірі қара малының трихофитиясына қарсы ауруды алдын алуға және емдік тиімділігін анықтауға ұсынылды.

Қазіргі уақытта ірі қара малының трихофития вакциналық штаммы мен отандық инактивтендірілген вакциналық дәрмекке Қазақстан Республикасының алдын ала және инновациялық патенттерін алу үшін өнертапқыштыққа тапсырыс берілді.

### Әдебиеттер

1. Саркисов А.Х., Петрович С., Никифоров Л.И., Яблочник Л.М., Королева В.П. Ірі қара малын трихофития ауруына қарсы иммундау. – Ветеринария. - М., 1971. - №2. - Б. 54 - 55.
2. Саркисов А.Х. Жануарлар дерматомикоздарына қарсы иммунитет және өзіне тән алдын алу // Бүкілресейлік малдәрігерлік тәжірибелік институтының ғылыми мақалалар жинағы. – М., 1987. – Т. 65. - Б. 13 - 15.
3. Жануарлар дерматофитоздарына қарсы «Вермет» вакцинасының инструкциясы. Ресей ауылшаруашылық қадағалау бастығының орынбасары Е.А. Непоклоновпен 26 қараша 2012 жылы бекітілген.
4. Кашкин П.Н. Адамдарға зиянды, уытты және залалды саңырауқұлақтар түрін анықтауға арналған анықтама. - Ленинград, 1979. - 262 б.
5. Саттона Д., Фотергилла А., Ринальди М. Залалды және залалдылығы орташа саңырауқұлақтар анықтамасы. – М.: Бейбітшілік, 2001. - 486 б.

### Иегерлер туралы мағлұмат:

Умитжанов М. – мал дәрігерлік ғылымдарының докторы, ас.профессор, ЖШС «ҚазҒЗВИ» індеттік және ветеринариялық-санитариялық қолайлылықты ғылыми-әдістемелік қамтамасыз ету бөлімінің бас ғылыми қызметкері

Боранбаева Р.С. – биология ғылымдарының кандидаты, ЖШС «ҚазҒЗВИ» бактериология зертханасының аға лаборанты

Шалабаев Б.Ә. – мал дәрігерлік ғылымдарының кандидаты, ЖШС «ҚазҒЗВИ» паразитология зертханасының меңгерушісі

Болат М. - ЖШС «ҚазҒЗВИ» магистранты

### **Резюме**

#### **ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ И ЛЕЧЕБНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ТРИХОФИТИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

Умитжанов М., Боранбаева Р.С., Шалабаев Б.А., Болат М.

ТОО «Казакский научно-исследовательский ветеринарный институт»

В статье приведены данные инактивированной вакцины против трихофитии крупного рогатого скота изготовленной из штамма *Trichophyton verrucosum* F-0271 на лабораторных животных (кролики).

*Ключевые слова:* вакцина, инактивация, вакцинный штамм, иммуногенность, профилактическая и лечебная эффективность, кролики

### **Summary**

#### **PREVENTIVE AND THERAPEUTIC EFFICACY OF INACTIVATED VACCINE AGAINST TRICHOPHYTOSIS OF CATTLE**

Umitzhanov M, Boranbaeva R.S., Shalabaev B.A., Bolat M.

LLP «Kazakh scientific research veterinary institute»

In the article presents the data of inactivated vaccine against the trichophytosis of cattle produced from strain of *Trichophyton verrucosum* F-0271 on laboratory (rabbit) animals.

*Keywords:* vaccine, inactivated, vaccine strains, immunogenicity, efficacy prevention and treatment, rabbits

## **МОНИТОРИНГ ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ КОРОВ ТОО «БАЙСЕРКЕ-АГРО» И ЛЕЧЕНИЕ АНЭСТРУСА ПРЕПАРАТОМ CIDR**

**Усенбеков Е.С., Еспенбет Т. Т., Калисынов Б.С., Тургумбеков А. А.**

РГП «Казахский национальный аграрный университет»  
ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»  
Племенное хозяйство ТОО «Байсерке-Агро»

**Резюме** Авторами работы проведен мониторинг воспроизводительной функции коров и телок случного возраста ТОО «Байсерке-Агро» в количестве 75 голов и по результатам исследования распространенность нарушений половой функции составила 30,6 %. Терапевтическая эффективность гормональной стимуляции половой функции у коров голштинской породы при анэструсе устройством CIDR составляет 53,8 %. Также, установлено лечебное действие прогестерона, который обостряет хронический скрытый процесс и обеспечивает эвакуацию гнойного экссудата из полости матки.

*Ключевые слова:* анэструс, гипофункция яичников, препарат CIDR, оплодотворяемость у коров

**Введение** В настоящее время молочному животноводству Республики Казахстан наносит значительный экономический ущерб – симптоматическое бесплодие у коров. При современной промышленной технологии производства молока животные поставлены в жесткие условия содержания, увеличены стрессовые нагрузки и предрасположенность к гинекологическим заболеваниям, усложнен индивидуальный контроль за состоянием функции размножения.

Причиной низкого процента оплодотворяемости у коров часто, при нынешней технологии содержания и кормления является так называемый синдром «Repeat Breeder Syndrome» (перегулы у коров). На распространенность данного синдрома влияют такие факторы, как возраст животного, гормональная дисфункция у коров, ранняя эмбриональная смертность, скрытые половые инфекции, генетические факторы, анатомические дефекты половых органов, тепловой стресс, ятрогенные аборты. В результате воздействия этих отрицательных факторов, коровы при многократном осеменении остаются бесплодными и не оплодотворяются.

Также, зарубежные ученые эмбриональную смертность рассматривают в качестве одной из основных причин репродуктивных проблем у крупного рогатого скота, приводящих в результате к снижению показателей стельности. Известно, что показатели оплодотворяемости обычно составляют 90%, а эмбриональная смертность является причиной 29-39% потерь после оплодотворения, большинство из которых (приблизительно 70-80%) происходит между 8 и 16-м днем после оплодотворения[1].

В США для стимуляции воспроизводительной функции коров используются программы «Овсинх» и «Ко-Синх», где предусмотрено применение прогестагенов/прогестерона и инъекция гормона GnRH. Предварительная синхронизация и другие модификации программы «Овсинх» направлены на повышение вероятности индуцирования овуляции после первой инъекции GnRH и обеспечение лютеолиза и синхронизированной овуляции после введения простагландина и GnRH. Одной из простейших модификаций классической программы «Овсинх» является так называемая программа «Ко-Синх» (Co-Synch). Разница заключается в том, что вторая инъекция GnRH и искусственное осеменение осуществляются в одно и то же время, т. е. через 48 часов после введения простагландина [2].

CIDR(Controlled internal drug releasing device) –это лекарственное средство в форме капсулы, предназначенное для синхронизации охоты у коров, содержащее в качестве действующего вещества 1,38 грамм прогестерона, а в качестве вспомогательных веществ силиконовый эластомер. При введении лекарственного средства CIDR во влагалище, прогестерон с постоянной скоростью проникает через слизистую влагалища в кровяное русло. Прогестерон ингибирует гипоталамо-гипофизарную систему, вследствие этого прекращается выделение гонадотропных гормонов: ФСГ и ЛГ, в результате чего не происходит созревание фолликулов и их овуляция. После извлечения CIDR из влагалища, уровень прогестерона в крови снижается в течение 4–6 часов, это в свою очередь обеспечивает созревание фолликулов и их овуляцию[3].

Анализ воспроизводительной функции коров МТФ ТОО «Байсерке-Агро» показывает, что в условиях гиподинамии и отсутствия активной стимуляции репродуктивной функции увеличивается количество коров с синдромом «Repeat Breeder Syndrome», у которых не проявляются признаки половой охоты длительное время. В связи с вышеизложенным перед нами была поставлена задача изучить форму проявления симптоматического бесплодия у коров и разработать оптимальную схему стимуляции половой функции с помощью препарата EAZI-BREEDCIDR производства компании Pfiser и проведение мониторинга.

**Материалы и методы исследования.** Мониторинг репродуктивной функции и разработка оптимальной схемы стимуляции половой функции коров с помощью американского препарата CIDR проводились в период с апреля по август 2015 года в условиях МТФ «Аркабай» ТОО «Байсерке-

Агро» в рамках реализации программы «Научно-методическое обеспечение ветеринарно-санитарного благополучия и повышения продуктивности животноводства».

Обследование коров проводилось следующими методами: анализ записи журналов отела и искусственного осеменения, выявление коров с перегулами, ректальная пальпация половых органов, в отдельных случаях для уточнения диагноза использовали вагинальное исследование и УЗИ сканирование яичников. Анализ репродуктивной функции коров и телок случного возраста в количестве 75 голов показывает, что часто у коров встречается анэструс (13 голов), на втором месте нарушения функции яичников в форме (фолликулярная и лютеиновая киста яичников - 5, персистентное желтое тело - 4 и гипофункция яичников - 1), распространенность патологии матки (острый послеродовой эндометрит -3, хронический эндометрит -5, пиометра матки -1) составила всего 9 фактов.

Лечение коров, больных хроническим эндометритом, острым послеродовым эндометритом проводилось по следующей схеме: паравагинально – ихтиоловит в дозе 20 мл, интравагинально – тампоны (АСД 3 фракция и рыбий жир) в соотношении 1:10, массаж матки, внутримышечно окситоцин в дозе 60 ЕД, при послеродовом эндометрите для подавления патогенной микрофлоры использовали антимикробный препарат О-Tetra-ЛА 20% в дозе 40 мл внутримышечно, при гипофункции яичников коровам вводили сурфагон в дозе 10 мл внутримышечно, коровам с желтым телом вводили препарат – эстрофан в дозе 2 мл внутримышечно.

Диагноз анэструс животным поставили на основании следующих клинических признаков: по результатам ректального исследования и УЗИ сканирования были выявлены признаки снижения функции яичников, уменьшение размера яичников, отсутствие созревающих фолликулов, на эхограмме структура яичника однородная, отсутствуют растущие фолликулы и желтые тела, у отдельных коров были выявлены одностороннее увеличение яйцепровода. У всех коров длительное время не было выявлено признаков половой охоты - анэструс.

Стимуляцию половой функции проводили по следующей схеме: 0 день – введение во влагалище коров препарата EAZI-BREEDCIDR с помощью аппликатора, 0 день – сурфагон в дозе 10 мл внутримышечно, 7 день – извлечение из влагалища коров устройства CIDR и введение эстрофана в дозе 2 мл внутримышечно. Через 72 часа после инъекции эстрофана, осеменение коров с признаками половой охоты ректоцервикальным способом. На 10 день из 13 обработанных животных у 7 голов были выявлены признаки половой охоты и они подвергнуты искусственному осеменению, а у 6 коров не было признаков половой охоты. Согласно схеме этим 6 коровам, у которых не были выявлены признаки половой охоты повторно вводили препарат сурфагон в дозе 10 мл внутримышечно. На 3-й день после инъекции сурфагона у коров проверяли наличие признаков течки, обратили внимание на характер влагалищной слизи, у трех коров были



выявлены катаральное гнойное выделение из половых органов, которые не подвергались искусственному осеменению.

**Закключение** По результатам гинекологического мониторинга коров и телок случного возраста МТФ ТОО «Байсерке-Агро» распространенность патологии половых органов выглядит следующим образом: анэструс - 17 %, нарушения функции яичников -13%, патология матки - 12 %.

На 7-й день лечения при извлечении устройства CIDR из влагалище у 3 коров были выявлены обильное гнойное выделение из половых органов, которые в последующем остались бесплодными. Это свидетельствует, что гормон прогестерон, который равномерно выделяется из устройства CIDR в течение 7 дней обостряет хронический процесс и обеспечивает эвакуацию гнойного экссудата из полости матки. Конечная терапевтическая эффективность препарата CIDR была у коров с признаками гипофункции яичников 53,8 % и данный способ рекомендуем в качестве симптоматического лечения коров с диагнозом анэструс.

### **Литература**

1. Sheldon M. Bovine fertility-practical implications of the maternal recognition of pregnancy. In practice 1997;Nov-Dec:546-556.
2. Cordoba MC., and Fricke PM. Initiation of the breeding season in a grazing based dairy by synchronisation of ovulation. J Dairy Sci 2002;85:1752-1763
3. Shephard R. Investigation of a whole herd controlled breeding program using GnRH and prostaglandin in commercial seasonally-calving dairy herds. AustCattle Vet 2002;23 :24-28

### **Сведения об авторах:**

Усенбеков Е.С. – кандидат биологических наук, доцент кафедры клинической ветеринарной медицины КазНАУ

Еспенбет Т.Т. – кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела по научно-методическому обеспечению эпизоотического и ветеринарно-санитарного благополучия ТОО «КазНИВИ»

Калисынов Б.С. – младший научный сотрудник отдела по научно-методическому обеспечению эпизоотического и ветеринарно-санитарного благополучия ТОО «КазНИВИ»

Тургумбеков А.А. – магистр ветеринарных наук, ветеринарный врач МТФ ТОО «Байсерке-Агро»

### **Түйін**

**«БАЙСЕРКЕ-АГРО» ЖШС СИЫРЛАРДЫҢ КӨБЕЮ ҚЫЗМЕТІНІҢ  
МОНИТОРИНГІ ЖӘНЕ CIDR ПРЕПАРАТЫМЕН АНЭСТРУСТЫ ЕМДЕУ**

Усенбеков Е.С., Еспенбет Т. Т., Калисынов Б.С., Тургумбеков А. А.

«Қазақ ұлттық аграрлық университеті» РМК  
ҚР АШМ «ҚазАгроинновация» АҚ «ҚазҒЗВИ» ЖШС  
«Байсерке-Агро» ЖШС Асыл тұқымды шаруашылығы

Жұмыс авторлары «Байсерке-Агро» ЖШС қарасты сиырлар мен құнажындарға, барлығы 75 басқа жыныстық қызметіне талдау жасаған және зерттеу нәтижелеріне сәйкес малдарда жыныстық қызметтің бұзылуының таралуы 30,6 % құраған. Голштейн тұқымдас сиырларында анэструс кезінде жыныстық қызметті қарқындалтуға қолданылған CIDRпрепаратының емдеу тиімділігі 53,8 % құрайды. Сонымен қатар, прогестерон гормонының емдеу қасиеті анықталған, аталған препарат созылмалы жасырын патологиялық үрдістерді асқындырып, жатыр қуысында жиналған іріңді экссудаттың сыртқа шығуын қамтамасыз етеді.

*Кілттік сөздер:* анэструс, жұмыртқалықтың гипофункциясы, CIDR препараты, сиырлардың ұрықтану қабылеті

### Summary

#### MONITORING OF REPRODUCTIVE FUNCTION OF COWS LLP «BAYSERKE-AGRO» AND TREATMENT OF ANESTRUS BY DRUG CIDR

Usenbekov E.S., Espenbet T.T., Kalisynov B.S., Tyrgumbekov A.A.

RSE «Kazakh national Agrarian University»  
Ministry of Agriculture RK TSE «KazAgroInnovation» LLP «KazSRVI»  
Breeding Farms LLP «Baysерке – Agro»

The authors of the work carried out monitoring of reproductive function of cows and heifers of breeding age LLP "Baysерке-Agro" in the amount of 75 goals and the results of the study the prevalence of sexual dysfunction was 30.6%. The therapeutic efficacy of hormonal stimulation of sexual function in Holstein cows during anestrus CIDR device was 53.8%. Also, it sets the therapeutic effect of progesterone, which exacerbates chronic hidden process and ensures the evacuation of purulent exudate from the uterus.

*Keywords:* anoestrus, hypovarianism, drug CIDR, fertility in cows

УДК: 619:.616.922.111.639

## ПЦР - ДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

Шаймбетова А.К., Тургенбаев К.А., Тамгабаева С.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме** В статье описаны результаты ПЦР исследований при диагностике туберкулеза животных.

*Ключевые слова:* ПЦР, амплификация, электрофорез

**Введение** По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в мире ежегодно регистрируется около 8-10 млн. новых случаев туберкулеза и 3 млн. случаев смерти от него. Туберкулез уносит больше жизней, чем любая другая инфекция.

ПЦР-это изящный метод, имитирующий естественную репликацию ДНК и позволяющий обнаружить единственную специфическую молекулу ДНК в присутствии миллионов других молекул.

Открытие метода ПЦР стало одним из наиболее выдающихся событий в области молекулярной биологии за последние десятилетия. Это позволило поднять медицинскую диагностику на качественно новый уровень [1].

Число публикаций, посвященных применению ПЦР в диагностике туберкулеза приближается к тысяче. Обзоры этого направления приведены, например, в следующих публикациях 2001г.: Kaul K.M. «Molecular detection of M.Tuberculosis: impact of patient care» Clin. Chemistry 2001,47(8), 1553-1558 ; Soini H., Musser J.M. «Molecular diagnosis of mycobacteria» Clin. Chemistry 2001,47(5), 809-814. Наиболее известные сертифицированные тест-системы крупных международных фирм - Roche «Amplicor MTB», полуавтоматизированной «Cobas Amplicor» и Gene Probe AMTD хорошо изучены. Они позволяют обнаружить возбудитель туберкулеза в мокроте в течение 1-2 дней с чувствительностью на уровне наиболее качественного культурального микробиологического анализа, т.е. в 75-80% случаев активного туберкулеза легких [2, 3, 4].

Соответствующий выбор олигонуклеотидных праймеров, в основном определяющих специфичность анализа, позволяет одновременно выявлять ДНК близкородственных микроорганизмов.

ПЦР протекает циклично, что предусматривает инкубацию образцов при трех температурах, соответствующих трем этапам цикла амплификации – денатурации (плавлению), отжигу (гибридации) и достройке (синтезу). Для лучшего осуществления отжига праймеров исследованную ДНК подвергали денатурации (расплетению двух нитей ДНК) при температуре 95°C в течение 3-4 минут. В последующих циклах это время уменьшали в 3-5 раз. Затем проводили отжиг, охлаждая образец до 40-60 ± °C, и далее

нагревали до 72-75 °С, чтобы осуществить достройку отоженных затравок с помощью Taq-полимеразы.

**Материалы и методы исследований** Разработка олигонуклеотидных праймеров для индикации и идентификации *M. bovis* выполнялась совместно с соисполнителями из ГНУ Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока Россельхозакадемии (ГНУ ИЭВС и ДВ Россельхозакадемии). Последовательность праймеров была заимствована из интернета. С помощью программы Vector NTI проведен дизайн 5 паров праймеров, а гомология праймеров выявлена с помощью программы BLAST. В результате для работы были синтезированы олигонуклеотидные праймеры, фланкирующие последовательности *mir*-гена. Для проведения достоверной амплификации ДНК варьировали температуру отжига и количество циклов ПЦР. При этом для каждой пары праймеров были подобраны оптимальные условия проведения реакции и вычислены следующие режимы амплификации:

-для выявления *M. tuberculosis* - 95°С × 5 мин (1 цикл), 95°С × 30 сек, 50°С × 30 сек, 72°С × 1 мин (40 циклов), 72°С × 5 мин. При использовании такого режима амплификации получали искомый фрагмент в 80 п.н.;

-для выявления *Mycobacterium bovis* - 94°С × 5 мин (1 цикл), 94°С × 1 мин, 60°С × 1 мин, 72°С × 1 мин (35 циклов), 72°С × 10 мин. Размеры ампликонов варьировали от 320 пн до 500 пн.

Выделение ДНК микобактерий проводили с помощью набора «GeneJET Genomic DNA Purification Kit» (Thermo Scientific, Австралия).

Амплификация целевых фрагментов проводилась в объеме 30 мкл, с конечной концентрацией праймеров 2,5 мМ ионов MgCl<sub>2</sub>, 5 М бетаина и 1Е.а. полимеразы. Реакция амплификации проводилась с матрицей – 10 ng, по следующей программе: начальная денатурация – 95°С – 4 мин., циклирование (30 циклов)– 95°С – 30 сек , 62°С – 1,5 мин, конечная элонгация при 72°С – 7 мин.

Анализ целевых амплифицированных фрагментов ДНК, а также качественный анализ выделенной ДНК проводили методом разделения фрагментов ДНК в агарозном геле. Использовался 1% агарозный гель в присутствии бромистого этидия, с электродным буфером - 1x TAE-буфером. Электрофорез проводили в камере для горизонтального электрофореза Scie-Plas, и источником тока «Consort E832», при 200W в течение 20-25 минут. Документирование полученных результатов проведено системой документации Uilber Lourmat. Размеры молекул анализируемых образцов ДНК определяли путем сопоставления их электрофоретической подвижности в геле с подвижностью маркеров – фрагмент ДНК известной молекулярной массы. В качестве маркера молекулярных масс использовали "DNA Ladder 1kb", (Fermentas, Россия).

Концентрацию ДНК определяли спектрофотометрическим методом с помощью флюориметра Qubit 2.0 , с длиной волны 254 нм.

Для амплификации ДНК использовали следующие реагенты: для выполнения реакции готовили «мастер-микс», содержащий воду, буфер с MgCl<sub>2</sub>, дезоксинуклеозидтрифосфаты и праймеры в одной пробирке, который затем аликвотируется по индивидуальным пробиркам (таблица 1).

Таблица 1 – Расчет реакционной смеси

Растворы	на 1 пробу (20 мкл)	на 10 проб (мкл)
MgCl <sub>2</sub>	1,2	12,0
dNTP	0,5	5,0
Polymerase	0,4	4,0
Buffer	2,0	20,0
Primer 1	1,0	10,0
Primer 2	1,0	10,0
DNA	3,0	3,0
H <sub>2</sub> O	10,9	109,0

Из таблицы 1 видно, что для проведения реакции в 0,5 мл пробирках смешивали по 1,0 мкл раствора праймера с концентрацией 10 п/моль, 3,0 мкл раствора исследуемой ДНК и 17,0 мкл DTCS (содержит компоненты реакционного буфера, дезоксинуклеозидтрифосфаты, термофильную полимеразу). Суммарный объем реакционной смеси составлял 20 мкл. Реакцию проводили в следующем режиме: T=94 °C, 5 мин (1 цикл); T=95 °C, 1 мин; T=60 °C, 1 мин; T=72 °C, 1 мин (25 циклов); T=72 °C, 1 мин, T=72 °C, 10 мин.

Из выделенных ДНК от 13 культур *M. bovis* ставили амплификацию с испытуемыми праймерами и параллельно с коммерческими праймерами. Результаты исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты амплификации ПЦР с праймерами

Номер в коллекции	Название штамма микобактерий	Результаты ПЦР					
		п-1	п-2	п-3	п-4	п-5	Коммер. Тест-система
В-0199	<i>Mycobacterium bovis</i> 199	-	-	-	+	-	+
В-0082	<i>Mycobacterium bovis</i> 82	-	-	-	+	-	+
В-0428	<i>Mycobacterium bovis</i> 428	-	-	-	+	-	+
В-0274	<i>Mycobacterium bovis</i> 274	-	-	-	+	-	+
В-0034	<i>Mycobacterium bovis</i> 34	-	-	-	+	-	+
В-284	<i>Mycobacterium bovis</i> 284	-	-	-	+	-	+
В-139	<i>Mycobacterium bovis</i> 139	-	-	-	+	-	+

B-176	<i>Mycobacterium bovis</i> 176	-	-	-	+	-	+
B-0048	<i>Mycobacterium bovis</i> 8	-	-	-	+	-	+
B-0022	<i>Mycobacterium bovis</i> 222	-	-	-	+	-	+
B-0091	<i>Mycobacterium bovis</i> 91	-	-	-	+	-	+
B-0555	<i>Mycobacterium bovis</i> 555	-	-	-	+	-	+
B-051	<i>Mycobacterium bovis</i> 051	-	-	-	+	-	+
B-0045	<u><i>Mycobacterium tuberculosis</i></u>	-	-	-	+	-	+
B-0049	<u><i>Mycobacterium avium</i> 780</u>	-	-	-	-	-	-
B-0050	<u><i>Mycobacterium avium</i></u>	-	-	-	-	-	-
B-0051	<u><i>Mycobacterium avium</i> «Р»</u>	-	-	-	-	-	-
B-0052	<u><i>Mycobacterium avium</i> Берлин</u>	-	-	-	-	-	-
B-0057	<u><i>Mycobacterium terrae</i></u>	-	-	-	-	-	-
B-0056	<u><i>Mycobacterium scrofulaceum</i></u>	-	-	-	-	-	-
Без номера	<i>Mycobacterium kansasii</i>	-	-	-	-	-	-

Как видно из таблицы 2, при постановки ПЦР с музейными культурами микобактерий с испытуемыми праймерами положительный результат получен только с праймером п-4, результаты которого полностью совпали с данными коммерческой тест-системы, а остальные праймеры дали отрицательный результат. На рисунке 1 приведена картина электрофореза продуктов амплификации, которая содержит специфическую светящуюся полосу, свидетельствующую о наличии ДНК *M. bovis*.

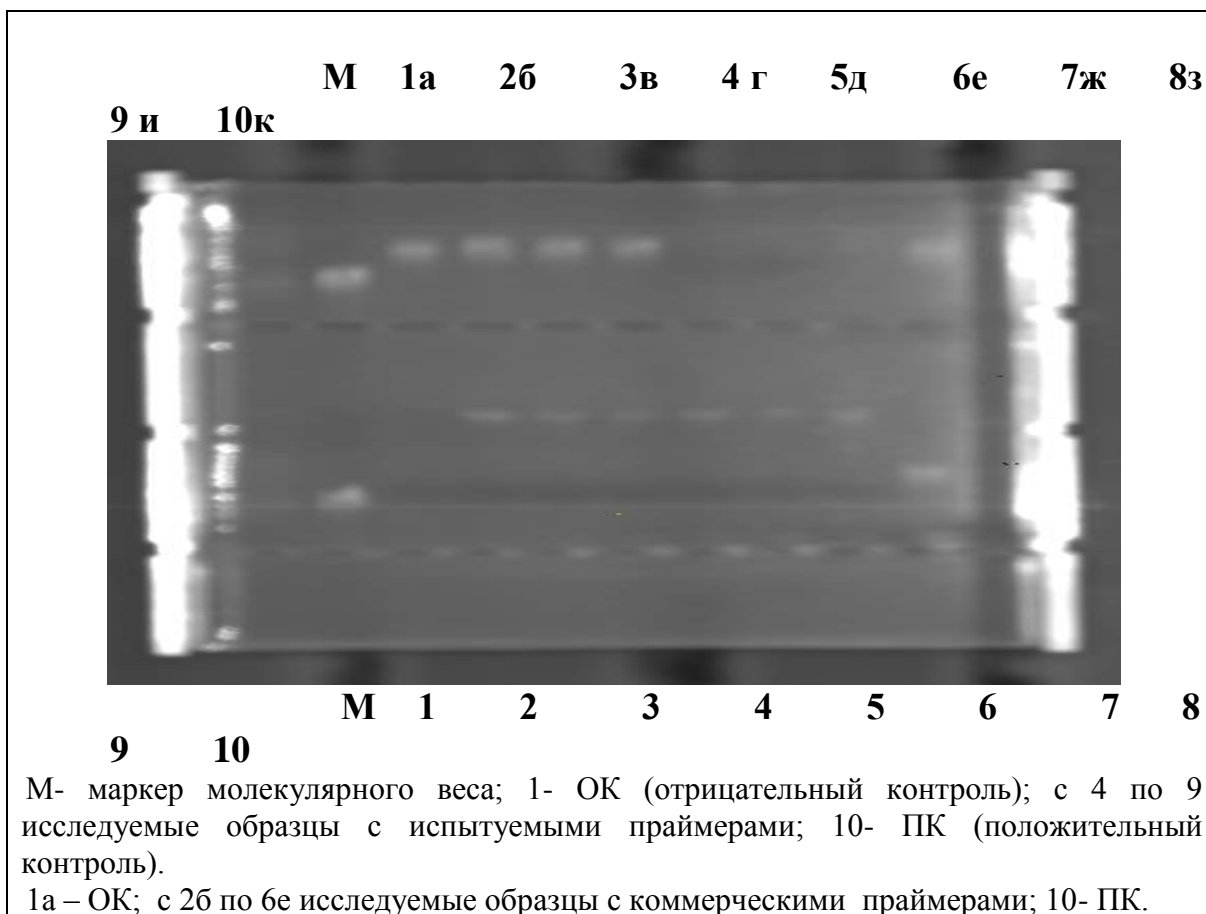


Рисунок – 1 Электрофореграмма ПЦР продуктов с разработанными и коммерческими праймерами

Как видно на рисунке 1, образец 3 показывает отрицательный результат, а с 4 по 9 пробы с применением испытуемого праймера (п-4) получены положительные результаты – видна специфическая светящаяся полоска на том же уровне, что и полоса с положительным контрольным образцом ПКО ДНК *M. bovis*, т.е. 390 п.н. меньшей интенсивности.

**Заключение** Разработанная тест-система на основе ПЦР с праймером (п-4) фланкирующий последовательностью 16S-23S rRNA (5´ GAA TTC AAA CAG CGT CCG -3´; 5´ GAA GTC CAA GCA AGA CCA-3´) выявляла ДНК *M. bovis* (13 штаммов), и результаты ПЦР-анализа совпадали с результатами, полученными с коммерческим набором фирмы ДНК-Технология (Россия). В тоже время разработанный праймер не давал положительного результата с другими видами культур микобактерий, что свидетельствует о его высокой специфичности. Разработанный праймер позволяет достоверно идентифицировать *M. bovis* от других видов микобактерий.

В результате проведенной работы отработаны режимы амплификации выбранных пар праймеров и адаптирована система постановки ПЦР к лабораторным условиям.

## Литература

1. ДНК-Технология. Некоторые теоретические основы полимеразной цепной реакции. – М.,1998. – С. 4 - 9.
2. 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.
3. Glennon M., Jager B., Dowdall D. et all. PCR-based fingerprinting of *M. bovis* isolates // *Veter. Microbiol.* – 1997. – Vol. 54.- № 3/4. – P. 235 – 245.
4. Гребенникова Т.В., Кальнов С.Л., Забережный А.Д., Алипер Т.И., Непоклонов Б.А. Молекулярные методы исследования в диагностике туберкулеза. *Ветеринарная патология.* – М., 2004. – №1 – 2. – С. 92 – 93.

### **Сведения об авторах:**

Шаймбетова А.К. - кандидат ветеринарных наук, заведующая лабораторией бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Тургенбаев К.А. - доктор ветеринарных наук, заведующий отделом по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Тамгабаева С. - кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела по разработке и внедрению биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

### **Түйін**

МАЛ ТУБЕРКУЛЕЗІН ПТР АРҚЫЛЫ БАЛАУ

Шаймбетова А.К., Тургенбаев К.А., Тамгабаева С.

«Қазақ ғылыми - зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада мал туберкулезін ПТР әдісі арқылы балаудың нәтижелері келтірілген.

*Кілттік сөздер:* ПТР, амплификация, электрофорез

### **Summary**

PCR – ANIMAL TUBERCULOSIS DIAGNOSIS

Shaimbetova A.K., Turgenbayev K.A., Tamgabaeva S.

«Kazakh scientific research veterinary institute» LLP

The article describes the results of PCR in the diagnosis of tuberculosis research animals.



*Keywords:* PCR, amplification, electrophoresis

ЭОЖ 619:616.992.28.:636

## **ЖЫЛҚЫ ТРИПАНОСОМОЗЫН БАЛАУ ЖИЫНТЫҒЫН ӨНДІРІСТЕ ҚОЛДАНУ**

**Шалабаев Б.Ә., Қадыров С.О., Бердіахметқызы С.**

«Қазақ ғылыми – зерттеу ветеринария институты» ЖШС

**Түйін** Мақалада жылқы трипаносомозын серологиялық балау жиынтығының белсенділігі, сезімталдылығы және өзіне тәнділігі жазылған.

*Кілттік сөздер:* трипаносомоз, антиген, киеңкі, су-ауру

**Кіріспе** Трипаносомоз немесе киеңкі ауруының қоздырғыштары қан паразиттеріне жататын қарапайымдылар тудырады, жіті және созылмалы түрде өтеді, жыныс мүшелерін, тері мен жүйке жүйесінің зақымдалуымен, салдануымен сипатталады, адам мен жабайы және ауылшаруашылық малдарының арасында кең тараған аса қауіпті паразит аурулары түріне жатады. Африка және оңтүстік Америка елдерінде қоныстанған үнді тайпаларының арасында трипаносомоз індетінен миллиондаған адам зардап шегеді, оны таратушы паразиттің түрі *Trypanosoma cruzi* екенін дәлелдеген Chagas болды, Америка трипаносомозы (Шағас ауруы), Африка трипаносомозы (ұйқы ауруы/сонная болезнь)-қоздырушылары *Trypanosoma gambiense*; *Tr. rhodesiense* деп аталады. Осы ауру қатты өріс алғандықтан Африкада 7-8 миллион шаршы шақырым жер мал шаруашылығы үшін пайдаланылмайды. Ауруға шалдыққан адамдар мен малдарда әлсіздік, ұйқышылдық болады. Киеңкі ауруының малдар арасында жиі кездесетін екі түрі бар олар *Trypanosoma equiperdum* тақ тұяқты жануарларда яғни жылқы, есек, қашыр және мулдарда кездеседі, көбіне шағылысқан кезде беріледі (киеңкі, шыжың, қарақаптал, орысша - случная болезнь, подседал, Dourine), ауыруға шалдыққан малдар есептен шығарылады. Аурудың алғашқы кезеңінде айғырдың жыныс мүшелері (ұмасы, қасасы, күпегі) ісінеді. Ал биенің желіні, сыртқы жыныс мүшелері, құрсағының төменгі жағы ісінеді. Ісіктер сипап көргенде салқын, жұмсақтығы камыр тәріздес, мал ауырсынбайды. Жыныс мүшелерінің терісінде алғашқыда кішкентай түйіндер пайда болып, олар кейіннен ашық жараға айналып, жазылып кетеді де, орнында ашық дақтар қалады. Айғырларда ұрық беру қабілеті төмендеп бедеулік дамыйды, бауыр аумағына жара тәрізді (толяровые бляшки) пайда болады, ерін құлақ аумағындағы жүйке тамырлары салданып ерні бір жағына қисайып, құлағы салбырап түсіп кетеді, биелерден өте әлсіз құлын туылады

немесе 2-3 айлығында түсік тастайды, қынаптан ашық сары түсті қан аралас жалқаяқ ағады, аурудың соңғы сатысында мал қатты арықтайды, тәбеті жоғалады, бел аумағындағы жүйке тамырлары салданып, артқы аяқтары ұстап тұра алмай ит сияқты отрып жатып қалады, аурудың соңы малдың өлуі мен аяқталады. Ал екінші түрі *Trypanosoma evansii*, ол түйелерде су-ауру деген атпен танымал ал жылқыларда шыжың деп аталады, әртүрлі қан сорғыш жәндіктер (кене, сона, маса т.б.) арқылы таралады, оған қарсы қолданылатын әртүрлі емдік дәрмектердің аналогтары бар.

Халықаралық індетті бақылау бюросының мәліметтерінде (МЭБ) трипаносомоз жиі тіркелетін аймақтарға Ботсвана, Лесота, Намибия, ЮАР, Эфиопия, Китай, Индия, Иран, Пәкістан, Қырғызстан және Өзбекстан кіргізілген [1, 2]. Шет мемлекеттерден жылқы сатып алынғанда міндетті түрде трипаносомозға серологиялық тест жүргізіледі. Жылқы киенкісі Ресейде Алтай, Башқұртстан, Бурятия, Новосибирскі, Омскі, Қарачай-Черкес, Чита, Краснодар, Иркутскі және Челябинскі облыстарының шаруашылықтарында тіркелген. Киенкіні анықтау үшін серологиялық балаулық тесттер КБР, КҰБР, ИФТ және РНГА қолданылуда [3, 4]. Киенкі совет одағы кезінде еліміздің оңтүстік аймақтарында тіркелсе, егемендігімізді алғаннан бері солтүстік аймақтарда да тіркеле бастады. Қазір шет елден асылдандыру үшін әкелініп жатқан таза қанды айғырлардың құндылығы жоғары. Жылқы өніміне сұраныстың артуына байланысты оның сапасының да жоғары болуы шарт. Барақ жылқы киенкісін емдеуде қолданылатын дәрмектердің тиімділігі шамалы. Індеттің созылмалы жасырын түрінде өтуіне байланысты қазіргі кезде қолданылатын оңтайлы алдын-алу әдістерінің бірі серологиялық тексерулер, малды киенкіге тексеру үшін уретральды немесе вагинальды қырындыны зерттейді. Зерттелген сынамалардан бір ғана трипаносома табылса, соның өзі трипаносомоз деп нақты диагноз қоюға жеткілікті болады. Табындық жылқы шаруашылығында киенкіге диагноз қою үшін жыныс ағзаларының кілегей қабықтарынан қырынды алып, микроскопиялық әдістермен зерттеу жүргізу өте қиынға соғады [5, 6].

**Материалдар мен зерттеу әдістері** Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институтының паразитология зертханасында сезімталдылығы мен өзіне тәнділігі жоғары трипаносомоз антигені мен оң қан сарысуын әзірлеу технологиясы жасалды. Серологиялық жиынтықтың қойылу жолдары қарапайым, ауру малдың клиникалық белгілері пайда болмай тұрып 3-5 ай бұрын анықтауға мүмкіншілік береді, жылқы трипаносомозының жасырын кезеңдік сатысы ұзақ 6-айға дейін созылуы мүмкін. Трипаносомоз антигені зертханалық ақ атжалмандарға (белые крысы) трипаносомоз паразиттерін жұқтырып, паразиттер көбейген кезде, атжалмандар қансыздандырылады, атжалмандардан алынған қан құрамынан физикалық және химиялық әдістерді қолданып трипаносом антигені бөлініп алынды.

Ұсынылып отырған антигеннің белсенділігі мен өзіне тәнділігі КБР-да сау және ауру жылқылардың қан сарысуымен тексерілген нәтижесі 1-ші кестеде берілген.

Кесте 1 - антигеннің белсенділігі мен өзіне тәнділігі КБР-да сау және ауру жылқылардың қан сарысуымен тексеру нәтижелері

Атаулары	Сарысуды сұйылту	Антигеннің сұйылту дәрежесі				
		1:5	1:10	1:20	1:30	1:40
Оң қан сарысуы	1:5	++++	++++	++++	++++	++++
	1:10	++++	++++	++++	++++	++++
Теріс қан сарысуы	1:10	-	-	-	-	-
Бақылау (физ.ертінді)	-	-	-	-	-	-

Кестеден байқағанымыздай антигеннің белсенділігі мен өзіне тәнділік қасиетті өте жоғары, оң қан сарысуымен 1:5 және 1:10 қатынаста антигеннің титрі 1:40-тан жоғары көрсетті, ал теріс және бақылау да таза реакция берді. Шахмат әдісі бойынша КБР-да антигеннің титрін анықтау нәтижелері 2-ші кестеде көрсетілген.

Кесте 2 - Шахмат әдісі бойынша КБР - да антигеннің титрін анықтау

Оң қан сарысуы	Сынақ антиген						Ф.е.
	1:5	1:10	1:20	1:30	1:40	1:50	
1:5	++++	++++	++++	++++	++++	++++	-
1:10	++++	++++	++++	++++	++++	+++	-
1:20	++++	++++	++++	++++	++++	++	-
1:40	++	+++	++++	++++	+++	-	-
1:80	-	++	+++	++++	+	-	-
1:160	-	-	+	+++	-	-	-
1:320	-	-	-	+	-	-	-
1:640	-	-	-	-	-	-	-
1:1280	-	-	-	-	-	-	-
Ф.е.	-	-	-	-	-	-	-

Зерттеу нәтижесінде сынақтағы антиген 1:20; 1:30; 1:40 езінділерінде қан сарысулардың ең жоғары титрлерінде оң нәтиже көрсетті. Трипаносомозға оң қан сарысуда бұл көрсеткіш 1:80, 1:160 езіндісіне сәйкес болды. Антиген езінділерін физиологиялық ерітіндімен әрекеттестіргенде антикомплементарлық және гемотоксикалық қасиетінің жоқтығы анықталды.

Оң қан сарысуы трипаносомоз антигенімен есекті гипериммундау арқылы бөлініп алынды. Серологиялық жиынтықтың нормативтік-техникалық құжаттары толық дайындалып ҚР АШМ қарасты

ветеринариялық бақылау және қадағалау комитетімен (Ст 89842-1910-ЖШС-036-2011 Жануарлар трипаносомозын серологиялық балауға арналған жиынтық) келісіліп 16.08.2011 бекітілген және «Қазақстан Республикасындағы ветеринарлық препараттардың мемлекеттік тіркеуін жүргізу қағидаларына» сәйкес тексеруден өткізіліп оңтайлы шешімі алынған. Тіркеу куәлігі № РК-ВП-2-2562-14 01.24.2014ж. Берілген. Республикалық ветеринарлық зертхананың сұрауы бойынша 2014 жылдан бастап тендерлік сатып алу жүйесіне қатысуда. ҚазҒЗВИ дайындаған балуалық жиынтықпен елімізде 2012-2014 ж. аралығында 4000-нан аса жылқы қан сарысуы трипаносомоз індетіне тексеріліп сезімталдылығы мен өзіне тәнділігі жоғары болғанын дәлелдеді.

**Қорытынды** Отандық балаулық дәрмектермен жылқы киенкісін серологиялық тексеруге мүмкіндік бар, дайындалған антигендік балаулық жиынтығымен комплементті байланыстыру және комплементті ұзақ байланыстыру реакциясында (КБР/КҰБР) тексеруге болады. Киенкінің алдын алу үшін күйікке салар алдында айғыр мен биені жылына 2-рет серологиялық тексерістен өткізу қажет. Тексерілген шаруашылықтан бір бас жылқы (айғыр/бие) трипаносомоз індетіне оң нәтиже берген жағдайда сол шаруашылықтағы жылқыларды тегіс серологиялық тексерістен өткізген дұрыс, сонда індеттің алдын алуға болады. Алдағы уақытта ұсынылған серологиялық антиген балаулық жиынтығымен жылқы киенкісі тіркелген аймақтардағы шаруашылықтар тексерістен өткізілсе індетті толық тоқтауға мүмкіншілік туатынына сенеміз.

### Әдебиеттер

1. Иммунология и паразитарные болезни // докл. Комитет. эксп. ВОЗ. - Ибадан, 8-15 декабря 1964. – С. 124 – 127.
2. Казанский И.И. Су-ауру животных в СССР: дис. ... докт.вет.наук. – М., 1938. – 359 с.
3. Меньшиков В.Г. Диагностика и меры борьбы с трипаносомозами лошадей в условиях России // Методические рекомендации. - М., 1996. – 30 с.
4. Коляков И.И., Петрашевская Е.Н. Материалы по диагностике лучной болезни лошадей реакцией связывания комплемента // Практическая ветеринария. – М., 1929. - № 20. – С.122 - 123.
5. Сабаншиев М.С., Сайдулдин Т.С., Ильгекбаева Г.Д. Эффективность серологических методов диагностики при трипаносомозе лошадей // Цитология. – М., 1992. - № 4. – Т. 34. – С.66 – 67.
6. Тимофеев Б.А., Убашев А.У. Трипаносомозы животных (случная болезнь и су-ауру). – Фрунзе, 1981. – С.96 - 98.

**Иегерлер туралы мағлұмат:**

Шалабаев Б. А. - ветеринария ғылымдарының кандидаты, «ҚазҒЗВИ» ЖШС паразитология зертханасының меңгерушісі

Қадыров С. О. - биология ғылымдарының кандидаты, «ҚазҒЗВИ» ЖШС паразитология зертханасының аға ғылыми қызметкері

Бердіахметқызы С. - «ҚазҒЗВИ» ЖШС паразитология зертханасының аға лаборанты

### **Резюме**

#### **ПРИМЕНЕНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО НАБОРА ПРИ ТРИПАНОСОМОЗЕ ЛОШАДЕЙ**

Шалабаев Б.А., Кадыров С.О., Бердіахметқызы С.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

В статье приведены результаты исследований активности, чувствительности и специфичности серологического набора при трипаносомозе лошадей.

*Ключевые слова:* трипаносомоз, антиген, су-ауру

### **Summary**

#### **THE USE OF A DIAGNOSTIC KIT IN THE TRYPANOSOMOSIS OF HORSES**

Shalabaev B.A., Kadyrov S.O., Berdyakhmetkyzy S.

«Kazakh scientific research veterinary institute» LLP

In The article presents the activity, the sensibility and specificity of serological typing when trypanosomosis of horse.

*Keywords:* trypanosomosis, antigen, su-auru

УДК 619:616.98

#### **ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО БЛЮТАНГУ В ЮЖНЫХ ОБЛАСТЯХ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

Шманов Г.С., Жусупов Г.К., Кутумбетов Л.Б., Султанов А.А.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

**Резюме** В статье приведены данные об эпизоотической ситуации по блютангу в Республике Казахстан, установленные на основании официальной ветеринарной отчетности, статистических показателей животноводческой отрасли и других научно-практических сведений. Установлено, что в южных регионах Республики Казахстан существует реальная угроза появления блютанга среди скота.

*Ключевые слова:* Блютанг, катаральная лихорадка овец, эпизоотология, мониторинг, диагностические исследования

**Введение** Блютанг (катаральная лихорадка овец) - острое трансмиссивное вирусное заболевание, характеризующееся лихорадкой, воспалительно-некротическими процессами слизистой рта, языка, пищеварительного тракта, эпителия венчика и основы копыт, а также дегенеративными изменениями в скелетной мускулатуре, вызываемые вирусом из рода Orbivirus, семейства Reoviridae. Заболевают от 10 до 100% овец в стаде. Летальность может достигать 90-100%. У крупного рогатого скота и коз болезнь протекает субклинически, иногда вызывая сходные симптомы. Основными переносчиками вируса блютанга являются мокрецы *Culicoides des breviararis*. Взаимосвязь динамики изменения.

Численности популяций мокрецов-переносчиков возбудителя и распространения вируса блютанга является сложным, многофакторным процессом, и поэтому трудно прогнозировать во временном и региональном масштабах вспышки болезни. Возбудитель блютанга в основном распространен на территории Африканского континента, до недавнего времени он считался заболеванием стран Средиземноморья и Южной Европы. В последние пять лет это заболевание охватило большую часть северо-западной Европы. По своему географическому расположению Республика Казахстан занимает промежуточное положение между государствами Восточной Европы и Центральной Азии, поэтому наша страна имеет ключевое значение в распространении различных инфекций, встречающихся на Евразийском пространстве, в том числе катаральной лихорадки овец. И наоборот в нашу страну могут быть занесены некоторые трансмиссивные болезни при завозе племенных животных из - за рубежа.

В последнее десятилетие из зарубежных стран, включая страны ЕС, в Казахстан активно ввозится племенной генетический материал, включая высокопродуктивных животных, эмбрионы, замороженное семя. В связи с чем возрастает опасность проникновения блютанга в нашу страну.

Исходя, из такой ситуации целью данной работы явилось изучение существующей эпизоотической ситуации по этой болезни среди животных для проведения целенаправленного мониторинга этой болезни на территории Республики Казахстан. Работа составлена на основании статических отчетных данных подведомственных структур МСХ РК.

**Материалы и методы** Географией мониторинга выбраны территории сельских округов, районов 4-х южных административных областей Республики Казахстан в которые за последние 3 года ввозился скот восприимчивый к блютангу. Объектами исследования являлись количественные показатели импортированного скота, сведения об экспортирующей стране и результаты лабораторных исследований таких животных не зависимо от периода их выполнения.

Эпизоотически опасными считали регионы (сельские округа, районы), в которых разводят скот, импортированный из стран неблагополучных по катаральный лихорадке овец или существуют факторы риска болезни, а также где обнаруживались инфицированные животные с позитивными результатами лабораторных исследований на блютанг.

**Результаты и обсуждение** Изучаемые территории Республики Казахстан находятся в зоне риска вероятного появления блютанга из-за сопредельности границ с зарубежными странами, как Республика Узбекистан, Республика Таджикистан, Республика Кыргызстан в свое время являвшихся неблагополучными по этой болезни. Мониторингу подвергались сведения как о завезенном, так и местном скоте, разводимом в южных регионах страны.

Количественные данные о скоте, подвергнутом исследованию на блютанг в южных регионах Республики Казахстан по видам и результаты лабораторного исследования их приведены в таблице 1.

Таблица 1- Количество скота подвергнутого исследованию, и результаты

№ п/п	Наименование области	Вид животных		Всего животных	Количество животных, сероположительных на блютанг в ИФА по видам		Всего
		КРС	МРС		КРС	МРС	
1	Алматинская область	2961	3977	6938	74	30	104
2	Жамбылская область	1572	2192	3764	25	217	242
3	Кызылординская область	861	1228	2089	34	55	89
4	Южно-Казахстанская область	2152	2353	4505	63	213	276
	<b>Всего:</b>	<b>7546</b>	<b>9750</b>	<b>17296</b>	<b>196</b>	<b>515</b>	<b>711</b>
Примечание: КРС - крупный рогатый скот; МРС - мелкий рогатый скот							

Как видно из данных таблицы 1, всего этим исследованиям подвергнуты на территории 4-х южных областей 17296 животных, в том числе 7546 крупного рогатого скота и 9750 мелкого рогатого скота, в том числе:

- В Алматинской области количество исследованных составило 1473 крупного рогатого скота и 3977 мелкого рогатого скота,
- В Жамбылской области количество исследованных составило 222 крупного рогатого скота и 2192 мелкого рогатого скота,
- В Кызылординской области количество исследованных составило 173 крупного рогатого скота и 1228 мелкого рогатого скота,
- В Южно-Казахстанской области количество исследованных составило 619 крупного рогатого скота и 2353 мелкого рогатого скота.

Согласно статистическим данным в изучаемые области скот импортировали из России, США, Австралии, Канады, Австрии и др. стран Европы. Согласно сведениям МЭБ ряд стран Европы, некоторые территории США, Канада неблагоприятны по блютангу. Поэтому территории выше перечисленных областей Республики Казахстан, которые импортировали скот из этих стран, могут иметь определенный уровень риска по блютангу.

Анализ результатов лабораторного тестирования животных, завезенных из за рубежа показал, что среди них присутствовали сероположительные на блютанг. Всего среди КРС выявлены 196 сероположительных на блютанг, а среди МРС – 515, общее количество которых составило 711 голов.

Сероположительные на блютанг животные регистрировались на территории всех 4-х изучаемых областей, в количестве от 30-ти голов в Алматинской области до 217 голов в Жамбылской. Известно, что КРС инфицированный блютангом может длительное время (месяцы, годы) оставаться носителем возбудителя без проявления клинических признаков болезни. Такой скот можно выявить по признаку серопозитивности или детекцией или индукцией вируса из организма в период ремиссии болезни.

Серопозитивность среди МРС без признаков болезни указывает на пост вакцинальный иммунный синдром или пост инфекционный аналогичный показатель.

Несмотря на отсутствие инфекционного процесса, нельзя исключить, что МРС серопозитивный на блютанг является свободным от возбудителя болезни, за исключением некоторых вакцинированных инактивированными вакцинами. Поэтому, анализируя данные мониторинга с учетом специфики эпизоотологии блютанга и особенностей его возбудителя, следует считать территории сельских округов и районов 4-х южных областей, где отмечены серопозитивные животные, угрожающими в появлении блютанга.

Исходя из такой обстановки для профилактики заболевания животных блютангом следует серопозитивный скот отправить на убой, в зоне риска вести тщательный серологический и вирусологический мониторинг в последующее время.

**Заключение** Существующая эпизоотическая ситуация по блютангу в нашей республике диктует необходимость проведения плановых исследований местного и импортированного скота на благополучие по этой болезни. В связи с чем, в 2015 году в рамках БП 212 сотрудники ТОО



«КазНИВИ» планируют провести мониторинг среди КРС и МРС Республики Казахстан с составлением эпизоотической карты.

### **Литература**

- 1 Сюрин В.Н. Руководство по ветеринарной вирусологии. – М.: Колос, 1966. – 358 с.
- 2 Сюрин В.Н., Самуйленко А.Я., Соловьев Б.В., Фомин Н.В. Вирусные болезни животных. – М.: ВНИТИБП, 2003. – 511 с.
- 3 Кутумбетов Л.Б., Мырзахметова Б.Ш. Некоторые эпизоотические показатели катаральной лихорадки овец в условиях эксперимента // Известия НАН РК: серия «Аграрных наук». – А., 2011. - № 5.- С.69 - 72.
- 4 Отчет о научно-исследовательской работе ТОО «КазНИВИ» по задаче «Разработка системы мероприятий по борьбе с ящуром сельскохозяйственных животных, профилактике бешенства, блютанга и болезни Шмалленберга в Республике Казахстан с учетом краевых особенностей эпизоотологии». - 2015.

### **Сведения об авторах:**

Шманов Г.С. – кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела эпизоотологического мониторинга и оценки рисков вирусных болезней животных ТОО «КазНИВИ»

Жусупов Г.К. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела эпизоотологического мониторинга и оценки рисков вирусных болезней животных ТОО «КазНИВИ»

Кутумбетов Л.Б. – доктор ветеринарных наук, доцент, заведующий отделом эпизоотологического мониторинга и оценки рисков вирусных болезней животных ТОО «КазНИВИ»

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

### **Түйін**

**ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ОҢТҮСТІК ОБЛЫСТАРЫНДАҒЫ  
ІРІ ҚАРА МЕН ҚОЙ АРАСЫНДАҒЫ БЛЮТАНГ АУРУЫНЫҢ ІНДЕТТІК  
ЖАҒДАЙЫ**

Шманов Г.С., Жүсіпов Г.Қ., Құтұмбетов Л.Б., Сұлтанов А.Ә.

Мақалада Қазақстан Республикасының оңтүстік облыстарындағы блютанг ауруының індеттік жағдайын анықтау мақсатында жүргізілген мониторингтік сараптаманың қорытындысы жарияланған. Анықталған

індеттік жағдай, мемлекетімізге сырттан келетін жануарларды (ірі қара, қой, ешкіні) міндетті түрде блютанг ауруына тексеру керек екенін айқындайды.

*Кілттік сөздер:* Блютанг, қойдың қатаральды лихорадкасы, эпизоотология, мониторинг, диагностикалық зерттеулер

### **Summary**

#### **EPIZOOTIC SITUATION ON BLUETONGUE IN THE SOUTHERN REGIONS OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN**

«Kazakh scientific research veterinary institute» LLP

Shmanov G.S., Zhusupov G.K., Kutumbetov L.B., Sultanov A.A.

The current epizootic situation on bluetongue in our country dictates the need for routine studies of local and imported cattle on welfare for the disease . In this connection, in 2015 as part of the BP 212 employees LLP " KazNIVI " plans to monitor among cattle and sheep of the Republic of Kazakhstan with the preparation of epizootic card.

*Keywords:* Bluetongue, catarrhal fever of sheep, epizootology, monitoring, diagnostic tests

### **ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ**

ӘОЖ 619:616-036-22

#### **ҚАЗАҚША ВЕТЕРИНАРИЯЛЫҚ ТЕРМИНОЛОГИЯСЫНЫҢ ҚАЛЫПТАСУ МӘСЕЛЕЛЕРІ**

Әбутәліп Ә., Әбдірахманова К. К.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті

**Түйін** Мақалада кәзіргі кезеңдегі қазақша ветеринариялық терминологияның қалыптасу мәселелері, қазақтың тіл байлығын мүмдігінше кең пайдалану қажеттігі сөз болады.

*Кілттік сөздер:* ветеринария, жануарлар, мал аурулары, ауру атауы

Республикамызда қазақ тілі мемлекеттік статусқа ие болып, ауызекі тіл дәрежесінен көтеріліп, ғылым тіліне айналу үшін оны әр түрлі ғылым салаларында (мысалы, ауыл шаруашылығы, биология, ветеринария) қолданысқа енгізу қажет [1]. Бұл реттегі мәселелердің бірі әр салада, мысалы ветеринарияда терминологиялық сөздіктер жасау. Бұл сөздіктер ветеринарияда қолданылатын негізгі ұғымдардың (ғылыми категориялардың) анықтамалығы ретінде жасалуы тиіс. Ол терминдердің аудармасы айтылатын ойды анық жеткізе білуі қажет. Мысалы, ветеринария сөзін алайық, оны біршама авторлар мал дәрігерлері деп аударып жүргені белгілі, ал ресми құжаттарда бұл сөз «ветеринария» ретінде қалған. Зерттеушілердің «ветеринария» сөзінің төркіні малды бағып-күтумен байланысты деп есептеуі кездейсоқ емес. Олардың пікірінше ол «Ветерина» жұмыс малы немесе «Ветеринус, ветеринарус» малды бағып-күтетін немесе емдейтін адам деген латын сөзінен шыққан. Бұдан басқа да пікір бар. Кейбір зерттеушілер «Ветеринария» сөзінің төркінін римдіктердің «Вее» - мал, «теерен» - ауру, «аертс» немесе «артс» - дәрігер деген сөздерінен құрастырылған деп дәлелдейді. Бұл басқаша айтқанда, «ауру малдың дәрігері» деген сөз. Ал сөздікте «ветеринария» (лат. *veterinarius* – малды емдеуші) – ветеринария, мал дәрігерлігі деп келтірілген. Әлбетте, біздің ұғымымызда көп жағдайда «мал» деген сөзді төрт түлік малға ғана қатысты қолданамыз, ал ветеринарияның – зерттеу нысаны жан-жануар, хайуанаттар, құс, балық, жәндіктер т.б. яғни кең екенін ескертсек, ветеринарияны – мал дәрігерлігі, ветеринарды - мал дәрігері деп алуымыз бұл мамандықтың қызмет аясын біршама тарылтып көрсетеді.

Мал дәрігері атқаратын қызметтің бір негізгі бөлігі – ауыл шаруашылық және кәсіптік малдардың (құстарды, терісі бағалы аңдар, балықтар мен бал араларын қоса есептегенде) денсаулығын сақтау. Мал дәрігерлігі мал ауруларына қарсы ұдайы күрес жүргізе отырып, мал басын көбейтуге жәрдемдеседі, халыққа қажетті ет, сүт, жұмыртқа, жүн және басқа өнімдерді мол өндіруге белсене ат салысады. Сондықтан да бұл қызметті ветеринариялық қызмет деп атаған жөн. Жалпы кез-келген ғылым саласындағы терминдерге қазақша балама бергенде, ғалымдар арасында екі ұдайы көзқарас орын алып отыр, Бір ғалымдар тілімізге ғылыми–техникалық прогресс нәтижесінде енген атауларға, интернационалдық терминдерге батыл түрде қазақша балама беру керек деп есептесе (Ш.Біләлов, Б.Қалиев және т.б.), келесі бір ғалымдар (Р.Сыздықова, С.Исаев және т.б.) «тілімізде кірігіп кеткен орыс немесе басқа да шетелдік атау, терминдердің дәл баламасы

болмаса қазақшалаймын деп әуре–сарсаңға түсудің жөні жоқ» - дейді [2]. Халықаралық терминдердің кейбіреулері қазақша нәрлі толық қанды баламасы болса, немесе ондай балама ұсынылса, және ол сол терминге қойылатын барлық талаптарға сай келсе, сөз жоқ өз тіліміздегі баламасын батыл қолдануымыз керек. Мысалы, тіліміздегі «індет», «лаң» деген сөздер жұқпалы аурулардың кең тарайтын түрлерін сипаттайтын ғылымдағы «эпидемия» (эпизоотия) және «панзоотия» терминдерінің өте дәл баламасы. Неге бұл сөздерді ғылымға қолданысқа енгізбеске. Сондықтан да «эпидемия» (эпизоотия) деген сөзден туындайтын ғылымның атауы «эпидемиологияны» (эпизоотологияны) қазақша «індеттану» деп қабылданғаны әбден орынды деп есептейміз. Бұл түбірден туындайтын эпимемический(эпизоотический) процесс–індет процесі, патогенез- індеттену, эпидемиологический (эпизоотологический) анализ – індеттанулық талдау, т.т. осы тектес сөздер қолданыстарының дұрыстығы дау туғызбаса керек [3,4]. Көптеген негізгі (базистік) терминдер ғылымның бірнеше саласына (мысалы, жаратылыстану, биология, медицина, ветеринария) ортақ болып келеді. Мұндай ортақ атауларға анатомия («тәнтану»), физиология терминдері жатады, сондықтан да оларды ретке келтіру биологтарымыздың міндеті. Әйтсе де бұл ғылымдардың кейбір атаулары ең алдымен ветеринарияға тиесілі. Оларға жататындар, мысалы үй жануарларына қатысты анатомиялық атаулар. Олардың көпшілігі қазақша дұрыс аталмай басқа тілден көшірме аудармамен беріліп жүр. Осы ретте Сайдулдин Т ұсынғандай ана тіліміздің мол сөздік қорына мұқият болып, ұмытыла бастаған *қаңсар* («носо-губное зеркало»), *күнтимес* («промежность»), *сүріншек* («мечевидный хрящ») т.б. сөздермізді игілімізге жаратқан жөн болар еді. Бұдан басқа, балау (диагностика), дауалау (профилактика), дәрмек (препарат), сияқты терминдер де сөздің мағынасын толық ашып тұр десе болады. Сан ғасырлар жинақталған тәжірибие нәтижесінде халқымызда мал ауруларының атауы, олардың алдын алу емдеу жөнінде сәтті қалыптасқан терминдер де баршылық. Мысалы, жануарлардағы орысша «сибирская язва» деп бір атаумен аталған ауруды қазақша ауруға шалдыққан мал түріне қарай қойда топалаң, ешкіде-шек-шек, сиырда-қараталақ (қарасан), түйеде акшелек (қарабез), жылқыда жамандат (кейде тегене) деп аталса, адамдарда аурудың клиникалық белгісіне қарай түйнеме немесе күйдіргі деп атайды. Соңғы кездері жануарлар арасындағы аурудың жалпы ортақ атауы ретінде топалаң деген сөз қолданылып жүр. Ал, повольное воспаление легких-алаөкпе. Актиномикоз – бұзау таз, чесотка- қотыр(қыршаңқы), вертячка – тентек, сапмаңқа, эпизоотический лимфангит лошадей-мандам, мыт – сақау, случная болезнь- кара қаптал (айғырларда), киенкі (биелерде), инфекционная энтеротоксемия- жыбырлақ, мокрец – күс, ящур – аусыл, чума – оба, оспа – күл, карбункул – көршиқан, абцесс – ірінді жара, некроз – өліеттену, генефонд – тектік қор, анус – айналшақ, пенис – қаса ж.т.б. Көптеген әдебиеттер мен еңбектерде терминдердің қазақша баламаларының ішінде қателіктер мен түсініксіз жайттар кездеседі. Мысалы, *организм* деген сөзді

біршама арнайы әдебиеттерде *азза* деп аударып жүрсе, кейде ол терминді *орган* сөзінің баламасы ретінде қолданып жүр. Ал *ткань* сөзі ұлпа болып қалыптасып қалса да, кейде оны *орган* сөзінің баламасы ретінде де қолданып жүр. *Клетка* – бірде *торша*, *жасуша*, ал кейде сол қалпында *клетка* деп алынады. *Торша* дегеніміз – орысшадан тура аударма, яғни калька, біздіңше, оны мағнасына қарай иненің жасуымен салыстырып, *жасуша* дегеніміз дұрыс сияқты. Сиыр малы мен қой, ешкі малдарын «крупный», «мелький рогатый скот» деген сөздерді орысшадан тура аударып, *ірі мүйізді* немесе *уақ мүйізді мал* деп жүрміз. Ал ата-бабаларымыз бұл мал түрлерін ешқашанда олай атамағаны белгілі.

Сиырдағы «эмфизематозный карбунул» деген ауруы оның нақты бір клиникалық белгісіне қарай «қарасан» деп дұрыс аударылған, бірақ мұны жоғарыда айтылған сиырдағы қараталақпен яғни «сибирская язвамен» (кейде оны қазақтар қарасан деп те атаған) шатастырмау қажет. Бұл жерде тағы бір айта кететін жайт, жануарлардың көптеген түрі мен адамдарда кездесетін «бруцеллез» ауруын медицина қызметкерлері «сарып» деп атап жүр. Сарып деген жануарлар тұяғының қабынып кейде қанды сарысу, ірің жиналып тұяқтың сөгілуіне дейін әкелетін ауру белгісі. Мұндай белгілер жануарлардың бақай құрты (некробактериоз) тұяқ шірімесі (копытная гниль), аусыл (ящур) сияқты ауруларының бір көрінісі болып есептелінеді, бірақ адамдарда мұндай симптом кездеспейді. Сондықтан да бруцеллез індетін жұқтырған адамдардағы ауру атауын «сарып» дегеніміз дұрыс емес, оны ветеринариядағыдай бруцеллез деп қалдыру керек деп есептейміз. Қазақтарда төрт түлік малдың жасы, жынысы, түр - түсіне байланысты оны дәл сипаттайтын әлі күнге дейін мағнасын жоймаған сәтті атаулар қаншама. Мысалы, *құлын, тай, қозы, лақ, бота, тайлақ, бұзау, құнажын, дөнежін, бие, айғыр, ат, саяқ, қысыр, буаз, қарагер, құла, торы, жирен, бура, буыршын, інген, атан* т.с.с. Түйеге байланысты атауларға қазақ тілі өте бай екендігін, қазақ тілінен жанашыры, атақты ғалым, жазушы, аудармашы Г. Бельгер (2009) мынандай мысалдармен дәлелдейді: әлем елдерінің көптеген тілдері түйеге қатысты тек қана «верблюд», «верблюдица», «верблюженок» деген сөздермен шектелсе, қазақтарда оның бірнеше атауы бар: нар (одногорбый), бура (двухгорбый самец-производитель), үлек (породистый верблюд), қаспақ (гидрид одногорбого самца и двугорбой самки), желмая (верблюд скакун), жалбай (с горбами в разные стороны), аруана (одногорбая), інген (дойная), атан (холощенный), арван (порода вьючных верблюдов), қайыма (первородящая), буыршын (молодой верблюд-самец), бота (верблюженок), тайлақ (годовалый), азбан (холощенный), тұмса (молодая самка), жампоз (разновидность жалбая), мая (приплод аруаны) т.с.с.

Осы ғалымның айтуынша, Иляс Жансүгіров поэзиясында кездесетін Жетісуда мекендейтін аңдар мен құстардың аттарына орысша балама табу көп жағдайда мүмкін болмады. Олар: сілеусін, ілбіс, бұлан, серек, қаракұлақ, шибөрі, қарсақ, сусар, бұлғын, жанат, таутеке, құлжа, қаракүйрық, тазқара, балтажұтар, ақбас, құмай, жұртша, саржак, су бүркіті, түйғын, тұнжар, тынар,

мықи, ителгі, бәрпі, қырғи, құр, тұрымтай, бидайық, тығанақ, үкі, ақсары, құладың, бұқпа, сіпті, шапшақай, майлық, маубас, шөже, тоқылдақ, сұр құрқылтай...т.с.с. Тек қана қазақ тілінде кездесетін бүркіт құсының жасына байланысты атауларды да Г.Бельгер былайша сипаттайды: «годовалый беркут называется у казахов балапан құс. Двухлетний-қан бүркіт. Трехлетний-тірнек. Четырехлетний-тастүлек. Пятилетний-мұзбалақ. Шестилетний-көк түбіт. Десятилетний-барқын. Одиннадцатилетний баршын. Двенадцатилетний-шөгел»[5]. Тілімізде басқа тілдерде дәл баламасы жоқ мал дәрігерлік атаулар көп кездеседі. Ондай сөздерді шартты түрде қазақы атаулар деп атадық. Мұндай қазақы атауларға жататын сөздер: *Ақтышқақ*. Жас төлдің кеселі. *Алагүлік, су ауру*. Түйенің індетті кеселі. Ішіне шалшық суда болатын құрттың кетуі салдарынан ұшырайды. *Алақарақ*. Малдың тышқаншық ауруының асқынған түрі. *Арамза*. Қыста, мезгілсіз туған төл. *Аяғына жем түсу*. Бидай, арпа, сұлы, жүгері, тары сияқты дәнді дақылдарды көп жеу салдарынан малдың аяғынан ақсап жүре алмау кеселі. *Бағлан*. Ерте көктемде туған семіз қозы. *Байтал*. Үш жасқа шығар ұрғашы жылқы. *Бесті*. Бес жасқа толған мал (жылқыға қатысты ұғым). *Ботақан*. 1-2 айлық бота. *Бұзбаша, бүлдіршін, боздақ, өндір*. Құнан шығар ұрғашы түйе. *Дөнен*. Үш жасар жылқы. *Жабағы*. Алты айдан асқан, бірақ бір жасқа толмаған құлан. *Желмая*. Араб елінде, Оман мемлекетінде өсіріліп шығарылған түйенің жүрдек тұқымы. *Қайылық кәйнік*. Қодас пен қол сиырды шағылыстыру нәтижесінде алынған будан мал. *Қанишыр*. Ұрғашы арыстан. *Қысырақ*. Құлындамаған, айғырдан шықпаған байтал, құнажын, биелердің ортақ атауы. *Таутан*. Ұрғашы барыс. *Туша*. Екі жастағы тұмса ешкі. *Тұсақ*. Екі жасқа жақындаған саулық. *Шыбыш*. Бір жастағы ұрғашы ешкі. *Ісек*. Екі жасар піштірілген қой. т.б. Бұл келтірілгендер, қазақы мал дәрігерлік атаулар қатары көп екендігін аңғартады. Сонымен, қазақ тіліндегі биологиялық терминдер құрамындағы мал ауруларының атаулары сан алуан, бұл атаулар халық санасындағы мал шаруашылық тәжірибесінен туындаған концептуалдық құрылымға ие танымдық жүйе болып табылады. Осы терминология құрамындағы әрбір атаудың өзіндік түсіндірмесінің болуы осы сала бойынша жинақталған когнитивтік білімді көрсетеді. Олар халықтық тәжірибеден өтіп, сол сала бойынша тұрақты түрде қолданатын аталымдық бірліктер, мал дәрігерлік ғылым қанша дамыса да осындай халықтық атаулар да тілімізде әлі күнге қолданылады. Ондай атаулар өз кезегінде когнитивтік тұрғыдан ойлаудың жемісі ретінде көрініс береді, себебі атаулар қалай болса солай пайда болмаған, таным, есте сақтау, тәжірибені пайдалану, тілдік тұрғыдан бейнелеу тәрізді танымдық процестер негізінде туған. Ал бұл халық тілінде қолданылатын сөздердің кәсіби сипат алуын айқындайды немесе осы процестер арқылы сөздің белгілі бір сала бойынша «мамандануы» (біздің тұрғыдан, мал дәрігерлік салада) жүзеге асады. Ветеринария саласындағы көптеген атаулар мен терминдер негізінен латын, грек тілдерінен алынып, халықаралық дәрежеде тарихи қалыптасқан. Сондықтан оларды жаппай аударудың соншама қажеттігі жоқ. Ал егер, ондай

терминдердің қазақша нәрлі толыққанды баламасы болса, немесе ондай балама ұсынылса, және ол сол терминге қойылатын барлық талаптарға сай келсе, сөз жоқ өз тіліміздегі баламасын батыл қолдануымыз керек.

### Әдебиеттер

1. Айтбаев Ө. Қазақ терминологиясының қалыптасуы мен дамуы. – А., 1988. – 117б.
2. Исақова С.С. Қазақ терминтанымының когнитивтік-прагматикалық аспектісі (қоғамдық ғылымдар терминдері негізінде): автореф.....дисс. – А., 2008. – 28 б.
3. Сайдулдин Т. және басқалары. Орысша-қазақша мал дәрігерлігі сөздігі. – А., 1993. – 268 б.
4. Әбутәліпов Ә. Индеттану терминдерінің орысша – қазақша түсіндірме сөздігі. – А., 1995. – 341 б.
5. Бельгер Г. Казахское слово. – А., 2009. – 153 с.

### Иегерлер туралы мағлұмат:

Әбутәліп Ә. – ветеринария ғылымдарының докторы, профессор, «ҚазҒЗВИ» ЖШС індеттанулық мониторинг және жануарлардың бактерия және паразиттер туындататын ауруларының пайда болу тәуекелдерін бағалау бөлімі

Әбдірахманова К.К. - Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің магистранты

### Резюме

#### ПРОБЛЕМЫ СТАНОВЛЕНИЯ КАЗАХСКОЙ ВЕТЕРИНАРНОЙ ТЕРМИНОЛОГИИ

Абуталип А.А., Абдрахманова К. К.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»  
Евразийский национальный университет им Л.Н. Гумилева

В статье приводится проблемы становления казахской ветеринарной терминологии и о необходимости использования богатства казахского языка при этом.

*Ключевые слова:* ветеринария, животные, болезни животных, название болезней

### Summary

# PROBLEMS OF FORMATION OF KAZAKH VETERINARY TERMINOLOGY

Abutalip A.A., Abdrakhmanova K.K.

«Kazakh scientific research veterinary institute» LLP

Eurasian National univertitet they L.N. Gumilyov

The article presents the problem of formation of the Kazakh veterinary terminology and need to use the wealth of the Kazakh language at the same time.

*Keywords:* veterinaryn, animal, animal diseases, the name of the disease

ӘОЖ 619.2:618

## **СИЫРДЫҢ ҚЫСЫР ҚАЛУЫН ЖОЮ УШІН ҚАҒАНАҚ СЫҒЫНДЫСЫ НЕГІЗІНДЕ ДАЙЫНДАЛҒАН ТКАНДІК ДӘРМЕКТІ ҚОЛДАНУ**

**Еспенбет Т. Т.**

«Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты» ЖШС

**Түйін** Мақалада сиырдың қысыр қалуының негізгі себептері және оны емдеу немесе алдын алу барысында қағанақ сығындысы негізінде дайындалған ткандік дәрмекті қолдану мүмкіншілігі туралы айтылады.

*Кілттік сөздер:* қағанақ, ткань, гормон, дәрмек, гипофункция, қысыр қалу

Аналық малдардың көбею ағзаларындағы патологиялық процесстердің дамуы, оның төл әкелу қабілеттілігін жоғалтып қана қоймай, олардан алынатын өнімдердің де сапалығына тікелей әсер 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 алды. Бұл төлдің туылуы және сүт пен еттің алынуы көрсеткіштеріне кері әсер етуде. Гинекологиялық аурулар және басқа да функциональді ауытқулар ағзаның ауру екендігін көрсетеді. Малдарда сондай аурулардың жиі кездесетін түрлері аналық жыныс безі қызметінің әлсіреуі, симтоматикалық бедеулік, жатыр субинволюциясы және шудың кідіруі.

*Аналық жыныс безі гипофункциясы* – аналық жыныс безі қызметінің әлсіреуі. Аналық жыныс безі қызметінің әлсіреуі себебі негізгі екі топқа бөлінеді: 1) жарақаттан немесе инфекция қоздырушысының аналық жыныс



безіне енуінен болатын аналық жыныс безі қызметінің әлсіреуі; 2) басқа ағзалардың және жүйелердің ауруға ұшырауы және малды азықтандыру, бағып-күту және оларды дұрыс бағытта қолданбау себебінен болатын аналық жыныс безі қызметінің әлсіреуі. Аналық жыныс безінде жыныс циклін реттейтін фолликулярлы және сары дене гормондары түзіледі. Фолликулярлы гормонды эстроген деп те атайды. Эстроген өз кезегінде эстрон, эстриол және эстрадиол болып үшке бөлінеді. Эстроген гормондары аналық жыныс безінен басқа бүйрекбезде және қағанақта да түзіледі. Бұл гормондардың негізгі қызметі малдың жыныс циклін реттеу және күйге келтіру.

*Симптоматикалық бедеулік* – аналық және аталық малдардың жыныс мүшелерінің және басқа да ағзалардың қызметінің бұзылуынан туындайтын бедеулік. Кей жағдайларда бұған жүрек-қан тамыр, асқорыту жүйесінің және төлдегеннен кейін кездесетін аурулар себепші болуы да мүмкін. Көбіне биологиялық факторлардың (инфекциялық және инвазиялық аурулар) әсерінен жатырдың, жатыр мойыншасының, жатырдың кілегейлі қабығының, жатырдың бұлшық ет қабығының, іш пердесінің жатырлық бөлігінің, аналық мал ұрық түтігінің және аналық жыныс безінің қабынуы көп кездеседі. Патологиялық процесстің орналасуы мен сипатына байланысты симптоматикалық бедеулікті төртке бөлуге болады: 1) шәуеттің аналық жыныс жолы ортасының қолайсыздығынан ұрықтандыру қабілетінен айырылуы немесе аналық жұмыртқа жасушасына жете алмауы; 2) аналық жұмыртқа жасушасының немесе зиготаның өлуі; 3) зиготаның жатырға ену мүмкіншілігінен айрылуы; 4) жыныс (овуляцияның, күйлеудің, жыныстық қозудың және күйіттің) циклінің бұзылуы.

*Жатыр субинволюциясы* - жатыр тартылуының кешеуілдеуі, яғни сиыр төлдегеннен кейінгі жатырдың кешігіп қалпына келуі. Бұл ауру барлық мал түрінде кездесуі мүмкін, бірақ көбіне сиырда жиі кездеседі. Субинволюция кезінде жатыр өзінің жиырылып - жазылу қасиетін жоғалтып алады, нәтижесінде бөлінген сұйықтық жатырда жиналып, бактериялардың көбеюінен бұзылып, бөлінген токсиндер ағзаны улайды. Жатыр субинволюциясының негізгі себептері: көп төлді буаздылық, төлдің шектен тыс үлкен болуы, гипофиздің артқы бөлігінің және фетоқағанақ жүйесінің функциональді қызметінің бұзылуы. Сонымен қатар малды бой жаздырудың аздығы, жем-шөптің дәрумендерге және минералды заттарға жұтаң болуы да аталмыш аурудың тууына себепші болады.

Сиырдың төлдеуі белгілі бір уақыттан кейін шудың түсуімен аяқталады. Егер шу сиыр төлдегеннен кейін 6 сағат аралығында түспесе, *шуы кідірді* деп саналып, емдік әдістер қолданылады. Шудың кідіруі толық және жартылай болып екіге бөлінеді. Шудың кідіруінің негізгі үш себебі бар: 1) толғақтың және жатыр тонусының әлсіз болуы; 2) төл хоринында және жатырдың ішкі кілегейлі қабығында патологиялық процесстердің болуынан қағанақтың төл жатқан бөлігі аналық бөлігімен тұтасып бітіп кетуі; 3) карункула ұлпасының шектен тыс серпінділігі. Малда бой жаздырудың

аздығы шудың кідіруіне негізгі себеп болуыда мүмкін. Сиырлардың буаз кезінде бой жаздыруы аз болса, бұзаулағаннан кейін мұндай малдарда шудың кідіруі жаппай жүреді [1].

Жоғарыда аталып өтілген ауруларды немесе ауытқуларды емдеуге бүгінгі таңда ткандік дәрмектерді қолдану кең өріс алуда. Соның ішінде әсіресе қағанақ сығындысы негізінде жасалынған дәрмектер. Ресейде осы қағанақ сығындысы негізінде көптеген биоүдеткіштер жасалынып (биостимульгин, микробиостим, А - плацентин, перебиостим, биостимульгин – СВЧ, ПДЭ және т.б.), ауыл шаруашылық саласында кеңінен қолданылып келеді. Сондай дәрмектердің бірі Плацентин-А дәрмегі. Дәрмек қағанақ сығындысы негізінде жасалынған. Дәрмекті сиырдың суалу кезеңінде 20 және 30 см<sup>3</sup> мөлшерінде, тері астына қолданғанда, төлдегеннен кейін болатын акушерлік - гинекологиялық қабынулар 42,8% - ға қысқарған. Ал сиыр төлдей сала қолданғанда, төлдегеннен кейін болатын қабынулар 31,7 % - ға азайған. Плацентин-А дәрмегін қолданғанда жатырдың кілегейлі қабығының қабынуы 10-25 % - ға, ал аналық жыныс безі гипофункциясы 10-40 % - ға төмендеген. Дәрмектің малдың жалпы резистентілігін жақсы көтеретіндігіде анықталған. Мысалы дәрметі қолданғансоң фагоцитарлы белсенділік 1,4-1,5 есе жоғарлаған [2].

Келесі қағанақ сығындысы негізінде жасалынған дәрмектің бірі Микробиостим. Дәрмекті шаруашылық жағдайында қолданғанда оның залалсыз, еш кері әсерінің жоқтығы белгілі болған. Сонымен қатар оның сиырдың күйге келуін күшейтіп, жатыр тонусын үдететіні анықталған. Мысалы аталмыш препаратты қолданғанда аналық жыныс безі гипофункциясы 76,6 % - ға төмендеп, алғашқы екі рет ұрықтандырғанда, сиырдың ұрықтану көрсеткіші 86,6 % - ды құраған. Сиырлардың жыныс ағзасында кездесетін аурулардың алдын алу үшін қолданғанда, шудың кідіруі 16 % - ға төмендеп, жатыр субинволюциясы 2,6 есеге, ал жатырдың кілегейлі қабығының қабынуы 6 есеге азайған [3].

Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институтында осыған дейін мүйізді ірі қара малының иммунитетін жоғарлататын және өсіп-өну қаблеттілігін көтеретін ткандік биоүдеткіш қағанақ сығындысы дәрмегі жасалынып, шаруашылыққа ұсынылған болатын. Қазіргі уақытта аталмыш дәрмектің сапасын арттыру және қолдану мерзімін ұзарту мақсатында жұмыстар жүргізілуде. Жасалынатын дәрмек қағанақ және аталық без қосындысынан тұратын болады. Дәрмек жасау барысында стабилизатор қолданылады, соның арқасында дәрмектің биологиялық белсенділігі жоғарылап, жарамдылығы бір жылға ұлғаяды. Аталмыш дәрмек болашақта мүйізді ірі қара малының иммунитетін және өсіп-өну қаблеттілігін көтеруінен басқа акушерлік – гинекологиялық, атап айтқанда аналық жыныс безі гипофункциясын, жатыр субинволюциясын, шудың кідіруін және жатырдың қабынуы сияқты ауруларды алдын алуға және емдеуге қолданылатын болады. Ткандік дәрмектің тағы бір ерекшелігі, біріншіден малдан алынатын тағамдардың сапасына залалы болмайды, себебі дәрмек сүтпен бөлінбейді, ағзада

жиналмайды, екіншіден бұл дәрмек тағамдық құны жоқ мал ткандерінен (қағанақ, аталық без) жасалынады, сондықтанда алынуы, дайындалуы, қолданылуы жағынан жеңіл және өзіндік құны арзан болмақ.

### **Әдебиеттер**

1. Студенцов А.П., Шипилов Л.Г., Субботина Л.Г., Преображенский О.Н. Ветеринарное акушерство и гинекология. - М., 1986. – 479 с.

2. Лиэпа В.Л. Влияние применения «Плацентина-А» в сочетании с биологически активными веществами на сроки инволюции матки у коров: автореф. ...дисс. канд. биол.наук. – Дубров, 2011. – 28 с.

3. Горпинченко Е.А. Фармакокоррекция воспроизводительной способности у коров при гипофункции яичников: автореф. .... дисс. канд. вет.наук. – Краснодар, 2008. - 26 с.

### **Иегер туралы мағлұмат:**

Еспенбет Т.Т. - ветеринария ғылымдарының кандидаты, «ҚазҒЗВИ» ЖШС індеттік және ветеринариялық-санитариялық қолайлылықты ғылыми-әдістемелік қамтамасыз ету бөлімінің жетекші ғылыми қызметкері

### **Резюме**

#### **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТКАНЕВОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ЭКСТРАКТА ПЛАЦЕНТЫ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ БЕСПЛОДИЯ КОРОВЫ**

Еспенбет Т.Т.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

В статье показана актуальность борьбы с бесплодием коров. Использование в животноводстве тканевого препарата на основе экстракта плаценты резко снижает яловость коров.

*Ключевые слова:* плацента, ткань, гормон, препарат, гипофункция, бесплодие

### **Summary**

#### **USING A TISSUE PREPARATIONS BASED PLACENTA EXTRACTS TO REDUCE INFERTILITY COWS**

Espenbet T.T.

«Kazakh scientific research veterinary institute» LLP

The article shows the relevance of the struggle with infertility cows. The use in animal tissue preparation on the basis of placenta extract dramatically reduces heifers.

*Keywords:* placenta, tissue, hormone, drug, hypoactivity, infertility

## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

ӘОЖ 619:616-036-22

### СИЫР БРУЦЕЛЛЕЗИНІҢ «ЖАСЫРЫН» ТҮРІН АНЫҚТАУ ТӘСІЛІ

**Аманжол Р., Канатбаев С.Г., Әбутәліп Ә.Ә., Исалдаева Р.**

«Қазақ ғылыми –зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Жануарларды бруцеллез індетінен сауықтыру жұмыстарын тиімді жүргізуге кедергі болатын мәселенің бірі, қолданыстағы серологиялық әдістердің (АР, КБР, РБС) табындағы індет жұқтырған барлық малды бір мезгілде анықтай алмайтындығы. Осы жағдайды ескере отырып зерттеуімізде бруцеллездің «жасырын» (латентті) түрін анықтауды мақсат еттік.

Зерттеу жұмыстары жүргізілген БҚО Жалпақтал ауданы «Ақбота» ШҚ 141 сиыры 2014 жылдың 15 наурыз-18 маусым аралығында 3 рет бруцеллезге тексерілгенде, сәйкесінше 7, 4, 2 бас оң нәтиже берді, яғни бұл табында бруцеллез созылмалы түрде өтіп жатқандығы байқалды.

Соңғы зерттеуден кейін анықталған 2 басты оқшаулағаннан кейін, қалған 129 басқа, бруцеллездің «жасырын» түрін айқындау мақсатында ҚазҒЗВИ өлі вакцинасының 1/100 мөлшерін 3,0 см<sup>3</sup> мөлшерінде еттік. 15 күннен кейін барлық мал серологиялық әдістермен тексергенде 4 бас оң нәтиже берді, яғни қосымша оң нәтиже берген ауру малдар анықталды. АР-мен тексергенде реакция титрі 3 баста 1:100, ал төртіншісінде 1:200 тең болды. Оң нәтиже берген 4 бас етке тапсырылып, ішкі ағзаларын бактериологиялық жолмен тексергенімізде жоғары титр берген сиырдан бруцелла өсіндісі бөлініп алынды, бұның өзі табында бруцеллез індетінің бар екендігінің дәлелі. Осыдан кейін табындағы теріс нәтиже берген қалған 127 бас сиырды ҚазҒЗВИ-ның бруцеллезді дауалау және емдеу дәрмектерімен арасына 6-7 күн салып 4 рет еттік. Дәрмек әр басқа 5 см<sup>3</sup> мөлшерінде мойынның төменгі бөлігінің тері астына жіберілді. Дәрмекті соңғы рет егілгеннен кейін 7 күннен кейін барлық малдардан қан алынып, серологиялық әдістермен (КБР, РБС) тексерілгенде оң нәтиже бергендер болған жоқ.

Осыдан 25 күннен кейін қайталап жүргізілген серологиялық зерттеулер теріс нәтиже беріп, табынның бруцеллезден тазарғанын көрсетті.

Соныменен, бруцеллезді тиімді сапалы дауалау үшін «ҚазҒЗВИ бруцеллезді дауалау және емдеу препаратын» қолданар алдында бруцеллезбен «жасырын» ауыратын жекелеген жануарларды анықтап, бөліп алу үшін өлі вакцинаның 1/100 мөлшерінің қолданып, 15 күннен кейін серологиялық зерттеулер жүргізу қажет.

Ұсынылған әдісті қолдану бруцеллезден таза емес шаруашылықтарды сауықтыру мерзімін анағұрлым қысқартып, бруцеллезге қарсы шаралар тиімділігін арттырады.

### **Иегерлер туралы мағлұмат:**

Аманжол Р. – ветеринария ғылымдарының кандидаты, «ҚазҒЗВИ» ЖШС «Батыс Қазақстан ҒЗВС» филиалының директоры

Канатбаев С.Г. – биология ғылымдарының докторы, «ҚазҒЗВИ» ЖШС «Батыс Қазақстан ҒЗВС» филиалының бас ғылыми қызметкері

Әбутәліп Ә. – ветеринария ғылымдарының докторы, профессор, «ҚазҒЗВИ» ЖШС індеттанулық мониторинг және жануарлардың бактерия және паразиттер туындататын ауруларының пайда болу тәуекелдерін бағалау бөлімінің бас ғылыми қызметкері

Исалдаева Р. – «ҚазҒЗВИ» ЖШС магистранты

ӘОЖ 619 :616-036-22

## **ЖАНУАРЛАР БРУЦЕЛЛЕЗІНЕ ҚАРСЫ RB-51 ВАКЦИНАСЫН ҚОЛДАНУ МӘСЕЛЕЛЕРІ**

**Мырзалиев А.Ж., Әбутәліп Ә., Матихан Н., Семжанова Л.**

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Ірі қара мал бруцеллезінің алдын алу және оны жою мақсатында жүргізіліп жатқан арнайы ветеринариялық шаралардың қарқындылығына қарамастан бүгінгі күнде бруцеллез Республика аумағында кең таралған, эпизоотологиялық және эпидемиологиялық мәселе болып отырған инфекциялардың бірі.

2007 жылы Қазақстан аумағында ауыл шаруашылық малдарын бруцеллезге қарсы спецификалық дәрмектермен иммундеу (вакцинация) тоқтатылғалы бруцеллездің таралуы деңгейі жоғарылады. Осыны ескере отырып, республика ветеринария басшылығы 2014 жылдан бастап мал бруцеллезіне қарсы Қазақстан Республикасында және Кеден одағы елдерінде тіркеуден өткен (B.abortus 82, 19, RB-51, B.melitensis Рев-1) вакциналарды қолдануға рұқсат берді.

*V. abortus* 82,19 және *V. melitensis* Рев-1 вакциналары Қазақстан республикасы мал шаруашылықтарында 1975-2007 жылдары кеңінен қолданылғанына байланысты бұл вакциналардың иммуногендігі мен оларды қолданудың тиімділігі толық зерттелген. Ал, *V. abortus* РВ-51 вакцинасына келетін болсақ бұл препарат АҚШ-да бруцеллалардың R-түрінен дайындалған, сондықтан да оның ең басты жетістігі біздің елде малды бруцеллезге тексеруге пайдаланылатын бруцеллездің S-түрінен дайындалынатын антигенімен серологиялық реакция қойған кезде оң нәтиже бермейді. Яғни бұл вакцинамен егілген малды бруцеллез жұқтырған малды анықтау мақсатында иммунделгеннен кейін кез келген уақытта тексере беруге болады. Бірақ та бұл вакцинаның елімізде тек 2014 жылы ғана тіркелуіне байланысты, оны қолданудың көптеген тұстары (поствакциналық антидене динамикасы, иммуногенділігі, иммунитет ұзақтығы т.с.с) қосымша зерттеулерді қажет етеді.

Осы себепті ҚазҒЗВИ-да бруцеллезге қарсы *V. abortus* РВ-51 вакцинасымен егілген ірі қара малының поствакциналық антиденелер динамикасын зерттеу нәтижесінде иммунитет ұзақтығын және ревакцинациялау мерзімін анықтау сияқты ҒЗЖ жүргізілуде. Қазіргі таңда осы вакцинадан гомологиялық антиген дайындалынып, оның ҚҰБР және АР пайдалануға жарамды екендігі анықталынды. Қарағанды және БҚО шаруашықтарында осы вакцинамен егілген жануарлардың қан сарысуын гомологиялық антигенді пайдаланып зерттегенде жақсы нәтижелер берді. Аталған вакцинамен иммунделген жануарлардың қан сарысуын серологиялық реакцияларда тексеру арқылы иммунитет ұзақтығын және ревакцинациялау мерзімін белгілеу сияқты практикалық маңызы бар мәселелерді анықтауға болады.

#### **Иегерлер туралы мағлұмат:**

Мырзалиев А.Ж - ветеринария ғылымдарының кандидаты,  
«ҚазҒЗВИ» ЖШС бруцеллез зертханасының меңгерушісі

Әбутәліп Ә. – ветеринария ғылымдарының докторы, профессор,  
«ҚазҒЗВИ» ЖШС індеттанулық мониторинг және жануарлардың бактерия және паразиттер туындататын ауруларының пайда болу тәуекелдерін бағалау бөлімінің бас ғылыми қызметкері

Матихан Н. - «ҚазҒЗВИ» ЖШС PhD докторанты

Семжанова Л. – «ҚазҒЗВИ» ЖШС магистранты

УДК 578.832.1:578.4

### **ЭПИЗООТИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ВОДОЕМОВ КАЗАХСТАНА ПО АКТУАЛЬНЫМ ВИРУСНЫМ ИНФЕКЦИЯМ РЫБ**

**Сулейменова С.А., Касымбеков Е.Т., Сейдалина А.Б., Хожамжарова М.О., Карамендин К.О., Нуршин К.А., Кыдырманов А.И.**

РГП на ПХВ «Институт микробиологии и вирусологии КН МОН РК»

Вирусные болезни рыб в отличие от инфекционных заболеваний теплокровных животных и человека остаются мало изученными. В настоящее время список заболеваний водных животных составленный международное эпизоотическое бюро (МЭБ), включает две инфекции амфибий, девять - рыб, семь - моллюсков, восемь - ракообразных. [1].

Вирусные болезни гидробионтов, возникающие в процессе интенсивного развития аквакультуры, наносят большой ущерб этой отрасли. Наибольший урон мировому производству рыбы наносят вирусы инфекционный гемопозитический некроз (ИГН), и весенняя геморрагическая септиция (ВГС) поражающие лососевые породы [2, 3].

В странах СНГ и Восточной Европы основной вирусной болезнью рыб является весенняя вирусия карповых (ВВК). Эта высококонтагиозная инфекция проявляется в виде экссудативно-геморрагического синдрома, вызывается вирусом *Rhabdovirus carpio* рода *Vesiculovirus*, протекает по типу эпизоотии и характеризуется развитием септического процесса и массовой гибелью рыб.

В 2014 г. в водоемах Северного, Западного, Восточного и Юго-Восточного Казахстана в период нереста и нагула от 74 особей 12 видов рыб из семейств карповых, щуковых, лососевых и кефальевых для вирусологических и гистологических исследований были собраны 343 биопробы в виде кусочков внутренних органов, жабер, половых продуктов и крови.

С использованием молекулярно-генетических методов впервые проведён вирусологический мониторинг за циркуляцией вирусных патогенов среди рыб в водоемах РК. Результаты исследований показывают благополучный эпизоотический статус ихтиофауны по отношению к таким особо опасным вирусным заболеваниям рыб, как ВВК, ИГН, ВГС, входящим в список болезней А МЭБ для водных животных. В пяти пробах от карповых рыб, отловленных в водоемах Юго-Восточного Казахстана в 2013 г, выявлено бессимптомное носительство герпесвирусного заболевание карпов. Материалы, собранные в Восточно-Казахстанской области от 11 особей маркакольского ленка (сем. Лососевые), были исследованы на присутствия нуклеиновых кислот возбудителей ВГС и ИГН. В результате ПЦР анализа РНК указанных вирусов в пробах не были обнаружены, несмотря на наличия у рыб клинко-морфологических проявлений ВГС или ИГН инфекций.

Проведены исследования биопроб, взятых от кефалевых рыб во время их массовой гибели в мангистауской части Каспийского моря в августе 2014 г. Известно, что повышение температуры воды способствует возникновению вспышек «летних болезней» - вирусной энцефалопатии и ретинопатии (ВЭР),

вызываемой представителями рода *Betanodavirus* семейства *Nodaviridae*. Кефалевые рыбы наиболее восприимчивы к указанным инфекциям, потери от которых могут варьировать от 5 до 100% в зависимости от возраста. Имеется сообщение о выявлении ВЭР у больных рыб из семейства кефалевых в иранской части Каспийского моря [4]. Особенности плавания пораженных рыб, аномальная высокая температура воды и гибель в основном только представителей одного вида ихтиофауны Каспия указывают на возможную вспышку ВЭР. В результате ПЦР и электрофоретического анализа, ожидаемые продукты в 255 или 341 паре оснований в исследованных пробах не выявлены.

При гистологическом исследовании выявили в организме лососевых рыб ряд патологических изменений, которые проявлялись в сильной гиперемии органов и гиперплазиях лимфоидно – клеточных элементов. Такие морфологические сдвиги могут происходить, по-видимому, у рыб находящихся в состоянии экзо- и эндогенного токсикозов, а также при иммунодефицитных состояниях, вызванных некоторыми инфекционными агентами, или другими неблагоприятными факторами окружающей среды.

В настоящее время эпизоотическое состояние по вирусным инфекциям рыб в естественных водоемах и прудовых хозяйствах РК остается недостаточно изученной и актуальной проблемой. Широкий обмен высокопродуктивными породами рыб, часто проводимый без учета эпизоотической ситуации в отдельных регионах и странах, обуславливает необходимость проведения постоянного вирусологического мониторинга за популяциями рыб в водоемах республики.

### Литература

1. OIE guide for Aquatic Animal Health surveillance. - 2009. – 91 p.
2. Meyers T.R., Winton J.R. Viral hemorrhagic septicemia virus in North America // Ann. Rev. Fish Dis. – 1995. - №5(3). – 24 p.
3. Skall H.F., Olesen N.J., Mellergaard S. Prevalence of viral haemorrhagic septicaemia virus in Danish marine fishes and its occurrence in new host species // Dis. Aquat. Org. - 2005. – Vol. 66 - P. 145–151.
4. Zorriehzahra M.J., Nakai T., Sharifpour I., Gomez D.R., Shau-Chi Ch., Soltani M, Daud H.Hj. M., Rohani M.S., Saidi A.A. Mortality of wild golden grey mullet (*Liza auratus*) in Iranian waters of the Caspian Sea, associated with viral nervous necrosis-like agent // Iranian Journal Fisheries Science (IJFS) 2005. - № 1. - Vol.4. - P.:43 - 58.

### Сведения об авторах:

Сулейменова С. А. - РГП на ПХВ «Институт микробиологии и вирусологи КН МОН РК»



Касымбеков Е. Т. - магистр ветеринарных наук, РГП на ПХВ «Институт микробиологии и вирусологии КН МОН РК»

Карамендин К. О. – кандидат ветеринарных наук, РГП на ПХВ «Институт микробиологии и вирусологии КН МОН РК»

Кыдырманов А. И. – доктор ветеринарных наук, РГП на ПХВ «Институт микробиологии и вирусологии КН МОН РК»

Сейдалина А. Б. - магистр биологических наук, РГП на ПХВ «Институт микробиологии и вирусологии КН МОН РК»

Хожамжарова М. О. - РГП на ПХВ «Институт микробиологии и вирусологии КН МОН РК»

Нуршин К. А. - кандидат ветеринарных наук, РГП на ПХВ «Институт микробиологии и вирусологии КН МОН РК»

ӘОЖ 619:616-036-22

## **БАТЫС ҚАЗАҚСТАН ШАРУАШЫЛЫҚТАРЫНДА ҚазҒЗВИ БРУЦЕЛЛЕЗГЕ ҚАРСЫ ӨЛІ ВАКЦИНАСЫН ҚОЛДАНУ НӘТИЖЕЛЕРІ**

**Тен В.Б., Әбутәліп Ә.Ә., Канатбаев С.Г., Ғұсманов М.Ғ., Матихан Н.**

«Қазақ ғылыми – зерттеу ветеринария институты» ЖШС  
Батыс Қазақстан агротехникалық университеті

ҚазҒЗВИ-да жасалынған жануарлар бруцеллезіне қарсы өлі вакцинамен БҚО-да түрлі жануарлар иммунделді: ірі және ұсақ қара мал және түйелер. Алдын ала тәжірибеде түрлі жануарларға егілетін вакцина мөлшері анықталынды: ол ірі қара малға 3,0 мл, ұсақ қара малға 1,0 мл және түйелерге ол 4,0 мл-ді құрады.

Бруцеллезден таза емес Ақжайық ауданының Қабыршақты елді-мекенінде 2002 жылдың көктемінде 5 сиырда іш тастау жағдайы кездескен. 2002 жылы барлық ірі қараны бруцеллезге зерттегенде 95 бас мал оң нәтиже берді, яғни бруцеллезбен залалдану 10 % құрайды. Ауру малдардан арылған соң 943 бас ірі қара өлі вакцинамен иммунделді. Буаз сиырларда іш тастаулар болған жоқ. 2003 жылғы зерттеулерде бруцеллезге 58 бас мал оң нәтиже көрсетті, яғни өлі вакцинаны қолдану барысында ауру 3,9% - ға кеміді.

2013 жылы Бөрлі ауданының «Нұр» шаруа қожалығында бруцеллезбен залалдануы 12% болған 117 бас сиыр өлі вакцинамен иммунделініп, 2014 жылғы зерттеулерде залалдану пайызы 1,1% -ке дейін төмендеді.

Ақжайық ауданы Алғабас елді – мекенінде 2002 жылы өлі вакцинаны қолданбай тұрғандағы қойдың бруцеллезбен залалдану көрсеткіші 3,5 %-ды құрады. Ауруларды жойғаннан соң қалған 579 бас ұсақ мал өлі

вакцинасымен иммунделді. Бұл отарда 2003 көктемінде қой қоздауы қалыпты өтті, серологиялық зерттеулер теріс нәтиже берді. Яғни, өлі вакцинаны бір рет қолдану қой бруцеллезінен залалдану деңгейін 3,5% - ға төмендетуге мүмкіндік берді.

Тайпақ елді – мекенінде өлі вакцинамен бруцеллезге залалдану деңгейі 3,2 % болған табындағы түйелер егілді (50 бас). Иммунделген түйелер 2003 жылы бруцеллезге зерттеген кезде теріс нәтижелер көрсетті, боталау қалыпты өтті. Сонымен, жүргізілген зерттеу жұмыстары бұл вакцинаның әр түлік малдың бруцеллезінің алдын алуда тиімді препарат екендігін көрсетті.

### **Иегерлер туралы мағлұмат:**

Тен В.Б. - ветеринария ғылымдарының докторы, профессор, «ҚазҒЗВИ» ЖШС індеттанулық мониторинг және жануарлардың бактерия және паразиттер туындататын ауруларының пайда болу тәуекелдерін бағалау бөлімінің бас ғылыми қызметкері

Әбутәліп Ә.Ә. – ветеринария ғылымдарының докторы, профессор, «ҚазҒЗВИ» ЖШС індеттанулық мониторинг және жануарлардың бактерия және паразиттер туындататын ауруларының пайда болу тәуекелдерін бағалау бөлімінің бас ғылыми қызметкері

Қанатбаев С.Г. - биология ғылымдарының докторы, «ҚазҒЗВИ» ЖШС «Батыс Қазақстан ҒЗВС» филиалының бас ғылыми қызметкері

Ғұсманов М.Ғ. – ветеринария ғылымдарының кандидаты, БҚАТУ аға оқытушысы

Матихан Н. - «ҚазҒЗВИ» ЖШС PhD докторанты

**СВЕТЛОЙ ПАМЯТИ ДИКОВА ГЕННАДИЯ ИВАНОВИЧА**



**Диков Геннадий Иванович - доктор ветеринарных наук, профессор  
21.11.1928 – 17.01.2014 гг.**

Диков Геннадий Иванович родился 21 ноября 1928 года в Семипалатинской области (ныне Восточно - Казахстанская область) Бородулихинском районе.

После окончания института Г.И. Диков с 1953 по 1961 г. работал в гельминтологической лаборатории КазНИВИ в должности младшего научного сотрудника, а в 1961 г. защитив кандидатскую диссертацию, становится старшим научным сотрудником. В 1967 году Г.И. Диков избирается по конкурсу заведующим гельминтологическим отделом КазНИВИ. В 1983 году во Всесоюзном научно-исследовательском институте гельминтологии имени академика К.И. Скрябина защитил докторскую диссертацию «Химиофилактика гельминтозов овец в Казахстане» (в форме научного доклада).

Профессор Г.И. Диков – был высококвалифицированным специалистом в области гельминтологии, хорошо известен не только в кругах отечественных ученых, но и за рубежом. Под его руководством и при его непосредственном участии разработан метод химиофилактики желудочно-кишечных стронгилятозов и кишечных цестодозов овец и дано его теоретическое обоснование. Предложенные методы химиофилактики гельминтозов путем вольного скармливания меднокупоросо – фенотиазино - солевой смеси применялись с 1961 г. на поголовье 18-24 млн. овец ежегодно, что снизило заболеваемость и гибель животных по республике от мониезиоза на 85-90%, диктиокаулеза – 95-97, гемонхоза -94 - 96, нематодироза – 93 - 96%, совершенно не регистрировался заболеваемость хабертиозом. В 1981 году метод вошел во Всесоюзную инструкцию. Внедрение в овцеводческих хозяйствах разработанного им же метода вольного скармливания медно –

купоросо – фенотиазино - солевой смеси позволило сократить заболеваемость и гибель овец в республике от гельминтозов до единичных случаев.

Будучи в течение 26 лет заведующим лабораторией гельминтологии КазНИВИ (1967-1993 гг.), Г.И. Диков вложил немало сил и труда в повышение качества и эффективности научно-исследовательских работ в институте. За почти 50 - летний период работы в институте он опубликовал более 150 научных работ, в том числе 7 книг, 15 рекомендаций, является автором трех изобретений. Диков Г.И. особое внимание уделял творческому росту талантливой молодежи, под его руководством защищено 10 кандидатских диссертаций. Ему были присущи такие замечательные качества как простота, деликатность, объективность, врожденная доброжелательность, умение работать с людьми, в особенности способствовать созданию творческой атмосферы в коллективе. С 1953 г. до конца жизни научная деятельность Г.И. Дикова связана с КазНИВИ, где 26 лет он руководил лабораторией гельминтологии, а затем продолжал работать в качестве научного консультанта. В коллективе лаборатории, возглавляемой Геннадием Ивановичем, царил дух сотрудничества, взаимопонимания, доброжелательности, среди сотрудников постоянно работали аспиранты, стажеры. Была такая творческая атмосфера, где нет старших и младших, а есть коллеги, живущие одними общими интересами.

Геннадий Иванович совместно с Р.С. Шульцем выпустили книгу объемом 35 п. л. «Гельминты и гельминтозы сельскохозяйственных животных Казахстана», он соавтор справочников «Гельминтозы сельскохозяйственных животных» (1982г.), «Паразитозы сельскохозяйственных животных в Республике Казахстан» (1994 г.).

Основополагающие работы, проведенные в свое время Г.И. Диковым, продолжают и развиваются в лаборатории паразитологии КазНИВИ по химической защите животных от паразитозов на традиционных для республики сельскохозяйственных животных (верблюды, крупный рогатый скот, лошади, овцы); проводятся дальнейшие изыскания эффективных, с широким спектром действия антигельминтных препаратов против трематодозов, цестодозов, нематодозов с применением различных наполнителей; совершенствуются иммунодиагностика и специфическая профилактика, а также профилактика смешанных паразитарных болезней, сочетанное применение системных препаратов и научное обоснование профилактики паразитоценозов. Трудолюбие, интерес к науке позволили ему добиться профессиональных высот. Защитил кандидатскую, затем докторскую диссертации, стал профессором. Ему были свойственны дисциплинированность, справедливость, честность, ответственность и удивительная скромность. На таких принципах он воспитывал молодежь и своих сотрудников лаборатории гельминтологии Казахского НИВИ.

Геннадий Иванович с большим уважением вспоминал о своих учителях, академике АН КазССР С.Н. Боеве и академике КазАСХН Р.С.

Шульце, которые создали в лаборатории подлинно научную творческую атмосферу. Имя Геннадия Ивановича прочно вошло в историю паразитологической науки, он являлся пропагандистом гельминтологической науки и автором издания крупных руководств, рекомендаций и монографий. Сотрудники лаборатории паразитологии КазНИВИ под руководством профессора Г.И. Дикова изучили видовой состав гельминтов сельскохозяйственных животных, особенно овец, краевая эпизоотология наиболее значимых гельминтозов, разработаны и предложены производству эффективные средства и методы их профилактики и терапии. Благодаря этим разработкам в Казахстане снижены заболеваемость животных многими гельминтозами, тем самым сокращены экономические потери, наносимые ими животноводству. Целый ряд научных исследований проведен по изысканию новых средств и методов терапии наиболее распространенных и причиняющих экономический ущерб животноводству гельминтозов. Под его непосредственным влиянием в лаборатории паразитологии КазНИВИ активно развиваются исследования по разработке новых лекарственных форм противопаразитарных средств. Его разработки нашли отражение в инструкциях, наставлениях, методических рекомендациях по целому ряду заболеваний гельминтозной этиологии. Значительные успехи достигнуты в лаборатории гельминтологии по подготовке кадров. За годы, когда он заведовал лабораторией всего защищено 5 диссертации на соискание ученой степени доктора наук, подготовлено около 60 кандидатов наук. Разработано 57 рекомендаций, получено 12 авторских свидетельств СССР и 2 ноу-хау. Издано 16 книг, 35 брошюр, сняты 2 кинофильма, изданы 15 плакатов, опубликовано более 1000 статей. Помимо научно-исследовательской работы сотрудники лаборатории гельминтологии оказывают научно-методическую помощь хозяйствам республики по борьбе с гельминтозами сельскохозяйственных животных, внедряют достижения науки в народное хозяйство.

Г.И. Диков всегда вел научно - общественную работу: являлся членом Специализированного совета по защите докторских и кандидатских диссертаций при Институте зоологии и генофонда животных, диссертационного совета по защите докторских и кандидатских диссертации при ДГП «НИВИ», членом экспертного совета ГАК, долгое время был членом секции инвазионных болезней Отделения ветеринарной медицины РосАСХН, секции паразитологии Казахстанско - Среднеазиатского зоологического общества, Ученого и методического советов КазНИВИ. За трудовые заслуги и научные достижения он награжден медалями «За доблестный труд», «Ветеран труда» и Почетными грамотами.

Хотелось бы привести слова известного казахского писателя Ильяса Есенберлина: «Каких только мы не встречали в жизни людей, хороших и плохих! Многих мы потом забываем, лишь немногие остаются в нашей памяти навсегда. Облик таких людей точно отлит из золота, и не потому, что

золото драгоценный металл, а потому что оно не тускнеет. Оно теплое и точно живое», эти слова относятся к Геннадию Ивановичу.

Чуть больше года прошло, как Геннадий Иванович ушел из жизни, но память о нем хранится в нашем коллективе и его помнят благодарные коллеги и ученики как человека скромного, порядочного, высокой внутренней культуры, преданного гельминтологической науке.

Паразитологи Казахского научно-исследовательского ветеринарного института продолжают развивать идеи и дело своего учителя. Для многих общение с Геннадием Ивановичем, было профессиональным уроком, память о прекрасном человеке сохранится в нашей памяти на долгие годы.

**Заместитель генерального директора по науке  
РГП «Институт зоологии» КН МОН РК**

**Сулейменов М.Ж.**

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>Султанов А.А.</b> Роль ветеринарной науки в обеспечении эпизоотического благополучия.....	4
<b>Аутелеева Л.Т., Майканов Б.С.</b> Распределение и накопление 1,1 диметилгидразина в органах и тканях кролика.....	8
<b>Базарбаев М., Сулейменов М.Ж., Абуталип А., Дюсенов С.</b> Эффективность разработанного средства против эктопаразитов и саркоптоидозов животных в производственных условиях.....	13
<b>Горелов Ю.М., Телелева М.В.</b> Мониторинг эндометритов у коров в условиях молочно товарных ферм Алматинской области.....	18
<b>Горелов Ю.М., Телелева М.В.</b> Результаты испытаний препарата «Энодомет-стимул».....	24
<b>Горелов Ю.М., Телелева М.В.</b> Сопоставление микробного пейзажа содержимого матки и секрета молочной железы коров при послеродовой патологии.....	30
<b>Горелов Ю.М., Телелева М.В.</b> Эффективность ветеринарно - санитарных мероприятий при получении и выращивании телят.....	34
<b>Даугалиева А.Т., Барамова Ш.А., Адамбаева А.А., Тусипкан О., Шытырбаева З.А., Мырзекеева А.А.</b> Дифференциация полевых штаммов бруцелл методом ПЦР в сравнении с бактериологическим методом лабораторной диагностики.....	41
<b>Даугалиева А.Т., Егорова Н.Н., Мусаева А. К.</b> Молекулярно - генетическая характеристика штамма <i>Salmonella abortus –equi</i> E 841.....	49
<b>Даутпаева З. Ж., Мырзахметова Б.Ш.</b> Құс тұмауы мен Ньюкасл ауруларына қарсы инактивтелген қоспарлы вакцина дайындауға белсенді вирус жиынтығын алу тәсілі.....	55
<b>Жантелиева Л.О., Мырзахметова Б.Ш.</b> Жұқпалы Бурсал ауруының вакциналық вирусының антигендік белсенділігі.....	61
<b>Иванов Н.П., Арысбекова А.Т., Саримбекова С.Н., Бакиева Ф.А.</b> Анализ эпизоотической ситуации по бруцеллезу в Республике Казахстан и результаты серологических исследований молока коз на бруцеллез в Алматинской области.....	64
<b>Искаков М.Ш., Егорова Н.Н., Жумаш А.С., Косаев Д., Султанбай Д., Байгоболов Н.О., Тургунбеков А.А., Ержума Д.</b> Дезинфекция объектов ветеринарного надзора в ТОО «Байсерке-Агро».....	69
<b>Канатов Б., Сущих В.Ю., Горелов Ю. М., Егорова Н.Н.</b> Әр түрлі	

аймақта орналасқан ірі қара мал кешеніндегі некробактериоз ауруының таралуы.....	75
<b>Касымбеков Е.Т., Карамендин К.О., Кыдырманов А.И., Даулбаева К.Д., Асанова С.Е., Хан Е.Я., Сейдалина А.Б., Хожамжарова М.О., Сулейменова С. А., Жуматов К.Х., Саятов М.Х.</b> Выделение парамиксовируса серотипа 1 (ПМВ-1) от огаря в 2013 году в Южном Казахстане.....	79
<b>Кожабаяев М., Лесов Б., Калаубаев А., Тохтарова Г.К., Алтаева К.</b> Қазақстанның Оңтүстік өңірінде қойлардың аралас гельминтозына қарсы кең көлемді әсері бар «ГРЕТЫКОЛ» дәрісін жасау.....	84
<b>Мусаева А.К., Егорова Н. Н.</b> Бактериологическая диагностика листериоза крупного рогатого скота.....	88
<b>Мусаева А. К., Егорова Н. Н., Канатов Б. К., Даугалиева А. Т.</b> Биологические свойства и генетические особенности вакцинного штамма <i>Salmonella</i> Dublin 13-20 NS.....	95
<b>Мусаева А. К., Егорова Н. Н., Канатов Б.К., Утегенова М. Е., Нугуманов А. А.</b> Биологические свойства вакцинного штамма <i>Salmonella</i> Dublin 13-20 NS и контрольного штамма <i>Salmonella</i> Dublin 373 после хранения.....	105
<b>Мусаева А. К., Егорова Н. Н., Утегенова М. К.</b> Диагностика и профилактика сальмонеллезного аборта кобыл.....	111
<b>Мустафин Б.М., Чужебаева Г.Д., Ульянов В.А.</b> Разработка праймеров и зондов для идентификации <i>Yersinia Enterocolitica</i> методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени.....	117
<b>Мырзахметова Б.Ш., Кутумбетов Л.Б.</b> Культивирование штамма «КазНИВИ» вируса бешенства в культуре клеток.....	124
<b>Нәугиєв Н.И., Мырзалиев А.Ж., Иванов Н.П., Базарбаев М.М.</b> Қара малдың бруцеллезінің алдын алу жолдарын қарастыру.....	131
<b>Нугуманов А. А., Утегенова М. Е.</b> Диагностика сальмонеллеза телят.....	135
<b>Сарбаканова Ш.Т., Аубекерова Л.С., Минаев М.Ю., Касымова К.Т.</b> Дизайн олегонуклеотидных праймеров для ПЦР идентификации ДНК лошади ( <i>Equus caballus</i> ).....	141
<b>Сарбаканова Ш.Т., Латыпова З.А., Аубекерова Л.С., Кенжебаева М. Ж., Касымова К.Т., Муналбаева А.А.</b> Определение диоксинов в продуктах животноводства с использованием биOLUMИнесцентного анализа.....	146
<b>Сарбаканова Ш.Т., Латыпова З.А., Касымова К.Т., Муналбаева</b>	



<b>А.А., Кенжебаева М.Ж., Кенесхан Ж.Н.</b> Люминесценттік бактерияларды тағам қауіпсіздік саласында пайдалану.....	153
<b>Сарбаканова Ш.Т., Минаев М.Ю., Аубекерова Л.С.</b> Идентификация ДНК курицы и свиньи в мясных продуктах методом РТ-ПЦР.....	158
<b>Сарбаканова Ш.Т., Муналбаева А.А., Шалгимбаева Г.М., Кенжебаева М.Ж., Кенесхан Ж.Н.</b> Полиморфизм микрососательных локусов карпа <i>Cyprinus carpio carpio</i> (Linnaeus, 1758).....	164
<b>Сарбаканова Ш.Т., Шалгимбаева Г.М., Касымова К.Т.</b> Молекулярно-генетические исследования судака и берша.....	170
<b>Сарбаканова Ш.Т., Латыпова З.А., Аубекерова Л.С.</b> Отработка схемы изучения аллельного полиморфизма гена <i>bola-drb3</i> у КРС....	175
<b>Sembina F.E., Bizhanov A.B., Namet A.M., Karataev B.Sh., Tugambayev T.I.</b> The Study of Post-Vaccination Immunity In Lab Animals Immunized With EB Strain Plague Live Vaccine.....	180
<b>Султанов А.А., Барамова Ш.А., Абуталип А.А., Оспанов Е.К.</b> Эпизоотическая ситуация по бруцеллезу животных в Республике Казахстан.....	186
<b>Сущих В.Ю., Канатов Б.</b> Результаты пассажирования культуры <i>Fusobacterium Necrophorum</i> и <i>Fusififormis Nodosus</i> .....	197
<b>Тажбаева Д.Т., Аманжол Р.А., Мурзабаев К.Е., Тулегенова Г.И.</b> Батыс Қазақстан облысы бойынша ларвальды эхинококкоздың таралуы.....	201
<b>Телелева М.В.</b> Эпизоотологический мониторинг сибирской язвы животных в ЮКО.....	206
<b>Тен В.Б., Абуталип А., Матихан Н.</b> Характеристика противобруцеллезных вакцин для животных.....	210
<b>Тоганаев Ж.К., Кожабаяев М., Есиркепов М.М., Жанбырбаев М.</b> О биологическом методе борьбы с Конго-Крымской геморрагической лихорадкой в условиях Южно-Казахстанской области.....	216
<b>Тулегенова Г.И., Аманжол Р.А.</b> Орал қаласындағы иттердің гельминттермен залалдану деңгейі.....	220
<b>Тургенбаев К.А., Жумаш А.С., Борсынбаева А.М., Хайруллаев М.</b> Эффективность аллергенов при диагностике туберкулеза крупного рогатого скота.....	225
<b>Тургенбаев К.А., Тамгабаева С., Шаймбетова А.К.</b> Применение экспресс - метода иммунохроматографического анализа для диагностики туберкулеза животных.....	232

<b>Тургенбаев К.А., Тамгабаева С., Шаймбетова А.К.</b> Разработка ускоренного метода бактериологической диагностики туберкулеза.....	240
<b>Тургенбаев К.А., Шаймбетова А.К., Тамгабаева С., Нурлан К., Туткышбай И.</b> Сравнительная эффективность полимеразно-цепной реакции при диагностике туберкулеза животных.....	247
<b>Туяшев Е. К., Канатбаев С. Г., Аманжол Р.А., Шытырбаева З.</b> Современное состояние вопроса бруцеллеза животных в Западно - Казахстанской области.....	253
<b>Умитжанов М., Боранбаева Р.С.</b> Комиссионно-лабораторное испытание опытно-экспериментальной серии инактивированной ассоциированной вакцины против трихофитии и микроспории лошадей.....	259
<b>Умитжанов М., Боранбаева Р.С., Шалабаев Б.Ә., Болат М.</b> Ірі кара малының трихофитиясына қарсы дайындалған инактивтендірілген вакцинаның алдын алу және емдік тиімділігі.....	264
<b>Усенбеков Е.С., Еспенбет Т. Т., Калисынов Б.С., Тургумбеков А. А.</b> Мониторинг воспроизводительной функции коров ТОО «Байсерке-Агро» и лечение анэструса препаратом cidr.....	268
<b>Шаймбетова А.К., Тургенбаев К.А., Тамгабаева С.</b> ПЦР - диагностика туберкулеза животных.....	273
<b>Шалабаев Б.Ә., Қадыров С.О., Бердіахметқызы С.</b> Жылқы трипаносомозын балау жиынтығын өндірісте қолдану.....	279
<b>Шманов Г.С., Жусупов Г.К., Кутумбетов Л.Б., Султанов А.А.</b> Эпизоотическая ситуация по блютангу в Южных областях Республики Казахстан.....	284
<b>ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ</b>	
<b>Әбутәліп Ә., Әбдірахманова К. К.</b> Қазақша ветеринариялық терминологиясының қалыптасу мәселелері.....	288
<b>Еспенбет Т. Т.</b> Сиырдың қысыр қалуын жою үшін қағанак сығындысы негізінде дайындалған ткандік дәрмекті қолдану.....	294
<b>КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ</b>	
<b>Аманжол Р., Канатбаев С.Г., Әбутәліп Ә.Ә., Исалдаева Р.</b> Сиыр бруцеллезінің «ЖАСЫРЫН» түрін анықтау тәсілі.....	298
<b>Мырзалиев А.Ж., Әбутәліп Ә., Матихан Н., Семжанова Л.</b> Жануарлар бруцеллезіне қарсы RB-51 вакцинасын қолдану мәселелері.....	299
<b>Сулейменова С.А., Касымбеков Е.Т., Сейдалина А.Б., Хожамжарова М.О., Карамендин К.О., Нуршин К.А., Кыдырманов А.И.</b> Эпизоотическое состояние водоемов Казахстана	

по актуальным вирусным инфекциям рыб.....	300
<b>Тен В.Б., Әбутәліп Ә.Ә., Канатбаев С.Г., Ғұсманов М.Ғ., Матихан Н.</b> Батыс Қазақстан шаруашылықтарында ҚазҒЗВИ бруцеллезге қарсы өлі вакцинасын қолдану нәтижелері.....	303
<b>Сулейменов М.Ж.</b> Светлой памяти Дикова Геннадия Ивановича.....	305