

**«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**

Том LXII

**«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 LXII**

Алматы 2016

УДК 619 (062.552)

В 39

Рекомендовано к изданию ученым советом ТОО «Казахский
научно-исследовательский ветеринарный институт»
(протокол № 3 от 05.05.2016 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)
Сарсенова Г.Т., канд. вет. наук (ответственный за выпуск)

Члены редколлегии:

Иванов Н.П., докт. вет. наук, академик НАН РК
Абуталип А.А., докт. вет. наук, профессор
Барамова Ш.А., докт. биол. наук, профессор
Каратаев Б.Ш., докт. вет. наук
Кутумбетов Л.Б., докт. вет. наук
Намет А.М., докт. вет. наук
Тургенбаев К.А., докт. вет. наук, профессор

Ветеринария ғылымының заманауи теориялық және практикалық мәселелері:
В 39 ғыл. еңбектер жинағы.
Проблемы теории и практики современной ветеринарной науки: Сб. науч. тр. –
Алматы, 2016. - 217 б. – қазақша, орысша.

ISBN 978-601-7437-66-4

В сборнике настоящих трудов опубликована 31 научная статья 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 (062.552)

ISBN 978-601-7437-66-4

© ТОО «КазНИВИ», 2016

ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ ОПАСНОСТЬ ПОЧВЕННЫХ ОЧАГОВ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ, ВЫЯВЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ КАЗАХСТАНА

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

Сибирская язва (*Anthrax*) – острое инфекционное заболевание животных и человека, относящееся к группе особо опасных инфекций. Общая обстановка в мире по сибирской язве за последние 30 лет с точки зрения географии этой болезни претерпела мало изменений. Как и ранее, современный ареал сибирской язвы охватывает почти все континенты. Это связано с тем, что основной естественной средой обитания возбудителя сибирской язвы *Bacillus anthracis* служит живой теплокровный организм и субстраты окружающей среды, прежде всего почва. Обсемененность почвы возбудителем сибирской язвы встречается по всей планете, но характеризуется ограниченностью определенной территории. Почва является зоной инкубации и концентрации *B. anthracis*. Сибирская язва относится к так называемым «почвенным инфекциям», к сапронозам.

Сельскохозяйственные животные заражаются при попадании возбудителя сибирской язвы с кормом, через обсемененную почву и другие предметы внешней среды. Особенно большую опасность в возникновении заболевания представляют старые, заброшенные скотомогильники, где были зарыты трупы животных, павших от сибирской язвы, и к настоящему времени попадали в сферу хозяйственной деятельности человека, или подвергаются природным ландшафтными изменениям.

При производстве земельных мелиоративных работ или во время разлива весенних ливневых дождевых вод споры возбудителя сибирской язвы распространяются по течению рек и оврагам на значительные расстояния, загрязняя пастбищные угодья. Сено, собранное с таких лугов, при скармливании животным также является фактором передачи возбудителя болезни.

В Казахстане заболеваемость сибирской язвой не имеет широкого распространения, ее уровень в последнее десятилетие ежегодно не превышает 5-10 случаев среди животных, но риск возникновения спорадических случаев и вспышек заболеваний, по – прежнему, сохраняется. Между тем, индикаторами существующих почвенных очагов служат стационарно неблагополучные населенные пункты по сибирской язве и расположенные в них сибиреязвенные захоронения.

Слабо налаженный учет и контроль состояния почвенных очагов сибирской язвы, повышают риск заражения животных и людей. Интенсивное развитие экономики страны, сопровождающееся освоением новых территорий, увеличивает опасность активизации почвенных очагов сибирской язвы.

В связи с этим, в настоящее время создалась наиболее острая необходимость выявления и ветеринарно-санитарной паспортизации всех, в т.ч. известных почвенных захоронений животных, павших от сибирской язвы, с целью их более четкого обозначения, обеззараживания (при необходимости) и ограничения доступа к ним животных и людей.

Достоверно известно, что уже в XIX веке сибирская язва в Казахстане была одной из числа наиболее распространенных инфекций. В конце XIX века вспышки сибирской язвы регистрировали в Петропавловском, Кокшетауском и Акмолинском уездах. Заболевали преимущественно лошади, крупный рогатый скот. В 1892 году вспышки сибирской язвы возникли в 25 пунктах Уральского, в 14 пунктах Калмыковского уездов. По сообщению В. С. Анисимова в 1922-1947 годах сибирскую язву регистрировали в Казахстане ежегодно, с наибольшим подъемом эпизоотии в 1929 году, когда отмечен падеж более 20000 сельскохозяйственных животных.

Эти данные свидетельствуют о том, что на территории Казахстана имеются многочисленные участки почвы обсемененные возбудителем сибирской язвы. Такие участки, как правило, расположены на пастбищах, возникли в результате попадания в почву возбудителя сибирской язвы от больных животных, при вскрытии их трупов. Это, как правило, очень обширные и не выявленные территории, определение границ которых весьма затруднительно. На этих участках почвы в настоящее время регистрируются случаи заражения животных возбудителем сибирской язвы.

Почвенные очаги* сибирской язвы - это места гибели, убоя разделки и захоронения в почву, в т.ч. биотермические ямы трупов (туш и отдельных органов) животных, павших от сибиреязвенной инфекции (без сжигания, со сжиганием). Эти участки территории площадью в среднем 0,01 км², необходимо содержать в надлежащем ветеринарно-санитарном состоянии, т.к. они имеют существенное значение в эпизоотологии (эпидемиологии) сибирской язвы.

Санитарные правила «Санитарно – эпидемиологические требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий по предупреждению особо опасных инфекционных заболеваний № 136 от 25 февраля 2015 г. – Астана. – 39 с.

Причинами наличия множественных сибиреязвенных почвенных очагов являются:

– высокая обсемененность почвы, в результате множественных случаев закапывания сибиреязвенных трупов без предварительного их

сжигания (в нарушение принятого решения Научно-технического совета МСХ СССР от 1953 года);

– высокая устойчивость спор возбудителя сибирской язвы в объектах внешней среды (способность возбудителя сохранять жизнеспособность и вирулентность десятилетиями);

– способность спор при попадании в благоприятные условия внешней среды, либо в организм восприимчивого животного или человека, прорастать (размножаться);

– способность вызвать заболевание с летальным исходом многих видов животных и человека и, тем самым, создавать новые почвенные очаги;

– отсутствие полных данных о местах захоронения трупов животных, павших от сибирской язвы;

– отсутствие должных работ (на законодательном уровне) по ликвидации почвенных сибиреязвенных скотомогильников в местах захоронения трупов.

Специалисты ТОО «КазНИВИ» по заданию Правительства Республики Казахстан и при выполнении научного проекта «Эпизоотологический мониторинг сибирской язвы на территории Республики Казахстан» проводят сбор данных по местонахождению почвенных очагов сибирской язвы для формирования кадастра и организации контроля за их состоянием, содержанием и устройству.

Сведения о почвенных очагах сибирской язвы составляются по разработанной нами схеме, включающей географические координаты, год, способ захоронения, ветеринарно-санитарное состояние и требуемый объем реконструкции. Такая работа проводится впервые.

Главной характеристикой почвенных очагов сибирской язвы, позволяющей судить о его потенциальной опасности, является способ уничтожения трупа животного. Нами проведена классификация почвенных очагов сибирской язвы в Казахстане по степени их опасности.

До 50-х годов двадцатого столетия требования к захоронению трупов животных, павших от сибирской язвы, отсутствовали, это были преимущественно стихийные захоронения. Трупы павших животных оставляли на пастбищах, или, в лучшем случае, зарывали в землю. Захоронения устраивали, как правило, на месте гибели животного или в непосредственной близости от него – вдоль скотопроезжих трасс, в местах выпаса или убоя животного. Сведения о дезинфекционных мероприятиях во время захоронения трупов животных, павших от сибирской язвы отсутствуют. Захоронения, проведенные в указанный период, представляют большую опасность с эпизоотологической и эпидемиологической точки зрения.

В настоящее время на территории республики зарегистрировано и паспортизировано 1772 стационарно неблагополучных по сибирской язве населенных пунктов (СНП), 2426 эпизоотических и эпидемических очагов.

Согласно Кадастру стационарно-неблагополучных по сибирской язве пунктов Республики Казахстан 1948-2002 гг. на территории Казахстана в период с 1935 по 1950 годы официально зарегистрировано 555 вспышек сибирской язвы среди сельскохозяйственных животных.

До 1950 года была недостаточно налажена официальная регистрация вспышек сибирской язвы. Можно предполагать, что их было значительно больше, чем официально зарегистрировано.

В период с 1951 по 1995 годы требования по уничтожению павших от сибирской язвы сельскохозяйственных животных были изложены в «Ветеринарно-санитарных правилах по утилизации, уборке и уничтожению трупов животных и отходов, получаемых при переработке сырых животных продуктов», утвержденных Министерством сельского хозяйства СССР 6 апреля 1951 года.

Документ определял следующие способы уничтожения павших от сибирской язвы животных: 1) сжигание на утильзаводах; 2) захоронение в ямах Беккари; 3) захоронение в почву; 4) сжигание, с образованием зольного остатка.

Самым надежным способом уничтожения павших от сибирской язвы животных, является сжигание на утильзаводах. Но в тот период в стране было недостаточное количество утилизационных заводов. В связи с этим, сжигание трупов животных проводилось на месте в траншеях или ямах. Обнаружение в местах захоронения трупов животных костей говорит о том, что сжигание проводилось не до зольного остатка. Неполное сжигание не дает гарантии, что в почве отсутствует возбудитель сибирской язвы.

Захоронение трупов животных в биотермические ямы Беккари регламентируется без сжигания. Правильное устройство биотермических ям обеспечивает быструю гибель микроорганизмов за счет анаэробного разложения трупов и невозможности проникновения в почву возбудителя. В действительности же устройство биотермических ям не всегда соответствовало предъявляемым требованиям. Таким образом, большую опасность представляют захоронения трупов животных в почву без сжигания.

По данным, проведенных нами исследований, в период с 1951 по 1995 годы на территории Казахстана зарегистрировано 4008 вспышек сибирской язвы. Проблема уничтожения трупов животных была по прежнему актуальной. В рассматриваемый период было образовано значительное количество почвенных очагов сибирской язвы.

В 1996 году были введены в действие новые ветеринарно-санитарные правила по профилактике сибирской язвы человека и животных (СП 3.1.089-96 и ВП 13.3. 1320-96) и в 2002 году вышел Закон Республики Казахстан «О ветеринарии», где определена необходимость сжигания животных, павших от сибирской язвы, с образованием зольного остатка.

В период с 1996 по 2015 годы на территории Казахстана зарегистрировано 92 вспышки сибирской язвы, что свидетельствует о значительном сокращении новых почвенных очагов сибирской язвы.

В период с 2002 по 2015 годы на урбанизированных территориях Казахстана от сибирской язвы пало 85 сельскохозяйственных животных, заражение которых произошло на пастбищах и на территории населенных пунктов.

В 2014 году ветеринарная служба Республики Казахстан была оснащена современными инсенираторами для сжигания трупов животных, павших от сибирской язвы.

Способ захоронения трупов животных, павших от сибирской язвы, во многом определяет сохранение возбудителя в почве.

В зависимости от категории опасности нами определены разные требования к обустройству и содержанию почвенных очагов сибирской язвы.

Первая категория - почвенные захоронения, расположенные на территории далеко за пределами населенных пунктов. В этом случае почвенный очаг сибирской язвы подлежит ограждению по всему периметру канавами и изгородью (металлическая или бетонная) высотой не менее 1,5 метра и диаметром не менее 5 кв.м., с выставлением табличек с надписью: «сибирская язва».

Вторая категория - почвенные очаги сибирской язвы, расположенные:

- в зоне вероятного затопления;
- на территории, препятствующей перспективному развитию района (прокладка трубопроводов, строительство магистралей, добыча полезных ископаемых и др.). Почва сибирезвонного захоронения и останки животных, могут быть извлечены (согласование с ветеринарной, санитарной службами Республики Казахстан, администрацией области) и перенесены в другое место с захоронением в ямах Беккари.

Третья категория – почвенные захоронения, расположенные на территории (или вблизи территорий) населенных пунктов. В этом случае можно поступить двояко:

- если почвенный очаг не мешает хозяйственной деятельности, то его обустраивают, как описано выше.
- в случае необходимости переноса почвы из скотомогильника, останки животных могут быть извлечены и перенесены в другое место с захоронением в ямах Беккари.

Таким образом, проведенный анализ свидетельствует, что на территории Казахстана имеются и скотомогильники с захоронением сибирезвонных трупов, и пастбища с участками почвы, обсемененные возбудителем сибирской язвы. Об этом свидетельствуют возникающие вспышки заболевания среди животных. На территории республики имеются почвенные очаги сибирской язвы с захоронением трупов

животных. Наибольшую опасность представляют почвенные очаги сибирской язвы, где трупы животных зарывали в землю.

Изучение активности почвенных очагов сибирской язвы имеет особую значимость к настоящему времени, в период интенсивного развития экономики страны, сопровождающееся строительством, в т.ч. на территориях, прилегающих к почвенным очагам, и требующее оценки их эпидемиологического риска. Почвенные очаги сибирской язвы могут представлять потенциальную угрозу в случае попадания их территории в зону возможного саморазрушения (обрушение берегов рек и оврагов, затопление, подтопление, мелиорация и т.д.), добычи полезных ископаемых, освоения ранее неиспользуемых земель для государственного и коммерческого строительства при расширении границ городов и населенных пунктов.

Отсутствие сведений о местоположении инфицированных возбудителем сибирской язвы пастбищ, скотопрогонных трасс, сибиреязвенных захоронений, урбанизированных территорий приводит к напряжению ситуации по возможному появлению сибирской язвы. В Казахстане почвенные очаги неоднократно служили объектом появления ситуаций: Акмолинская область, 2010 г., с. Тайтобе (при добыче щебня из карьеров); Северо - Казахстанская область, 2012 г., с. Дайынлык (при проведении Булаевского водопровода); Акмолинская область, 2014 г., г. Щучинск (при строительстве лыжной базы), при добыче полезных ископаемых (Костанайская область, Соколовско-Сарбайское месторождение).

В этой связи безотлагательного решения, по нашему мнению, требуют следующие вопросы:

- выявление и учет всех почвенных очагов сибирской язвы (определение географических координат границ, площади) с нанесением на карту местности. Внесение данных в ветеринарно-санитарную карту;

- оценка ветеринарно-санитарного состояния (определение требуемого объема реконструкции) и биологической опасности мест захоронения трупов животных, павших от сибирской язвы, мест выпаса и прогона животных;

- составление кадастра почвенных очагов сибирской язвы;

- обустройство и содержание почвенных очагов сибирской язвы;

- разработка ветеринарно-санитарных правил по учету и содержанию сибиреязвенных скотомогильников, создание государственной программы по обеспечению безопасности сибиреязвенных захоронений и координации деятельности многих заинтересованных служб и ведомств.

ЭХИНОКОККОЗ ІНДЕТІНІҢ ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ АЙМАҚТАРЫНДА ТАРАЛУЫ

Абдыбекова А.М, Джусупбекова Н.М., Абдибаева А.А., Жақсылықова
А.А., Керимбаева Р.А.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Түйін Мақалада эхинококкоз індетінің Қазақстан Республикасы аймақтарында таралуы туралы мәліметтер келтірілге

Кілттік сөздер: эхинококкоз, инвазия экстенсивтілігі, инвазия интенсивтілігі, залалдану

Бүгінгі ауыл шаруашылығы өнімінің ішінде, негізінен, одан алынатын экологиялық тұрғыдан өте таза болып саналатын және халықаралық нарықта да өте жоғары бағаланып отырған мал өнімін өндірумен айналысуға халықтың көпшілігінің бет бұрған заманында, шаруашылық иелері жоғары өнімді, жалпы өсіп-жетілуі, еттілік, майлылық көрсеткіштері, тез жетілгіштігі, ортаның өзгеру жағдайларына бейімделгіштігі жақсы, әрі арзан, әрі жылдам өнім беретін, денсаулығы мықты, ауруларға бой алдырмайтын мал өсіруге көп пейіл танытуда. Осы тұрғыдан, бүгінде Қазақстанда өсіріліп отырған мал ауруларының негізгі түрлерінің бірі болып табылатын эхинококкоз ауруының эпизоотологиясы республикамыздың өңірлерінде эхинококкоз бойынша эпидемиялық жағдайын, эхинококкоз ауруының алдын алу шараларын зерттеу нәтижелерінің өндірістік маңызы өте үлкен.

Соңғы жылдары Қазақстан Республикасының территориясында ауылшаруашылық малдары мен адамдар арасында эхинококкоз індетінің таралу жағдайы өршуде. Көптеген ғалымдардың зерттеулері бойынша, ларвалды эхинококкоз көбінесе таулы, мал шаруашылығы көп дамыған аймақтарда кездеседі. Бірақ, мал шаруашылықтарының басым көпшілігі жеке меншікте болғандықтан жазық далалы аймақтада орналасқан. Сол себептен, індеттің бұл аймақтарда таралмайды деп айту мүмкін емес. Сонымен қатар, республикамызда жазда жайлауда, қыста қора-жайда ұстау жүйесі сақталған [1, 2].

Адамдардың эхинококкозға шалдығу көрсеткішінің жоғары болуының, бірден бір себебі ауылшаруашылық жануарлары мен иттердің инвазиялануы. Республикамызда ауылшаруашылық малдарының әр облыстардағы (Алматы, Жамбыл, Оңтүстік Қазақстан, Қызылорда, Ақмола, Қостанай, Павлодар, Шығыс Қазақстан, Солтүстік Қазақстан, Қарағанды, Ақтөбе, Маңғыстау, Атырау және Батыс Қазақстан облыстары)

мал сою пунктерінде 2015 жылы толық емес гельминтологиялық сойып зерттеу арқылы инвазиялануы зерттелді.

«Алтын Орда» базарының мал сою пунктінде Алматы облысының әртүрлі аудандарынан келіп түскен 150 бас қой, 25 бас ірі қара және 13 бас жылқы зерттелінді [1 кесте].

Кесте 1 - Алматы облысы бойынша ауылшаруашылық жануарларының эхинококкозбен инвазиялану көрсеткіші

Жануар түрі	Зерттелінді (бас)	Зарарданған (бас)	ИЭ, %	ИИ	Орналасу орны
Қой	150	6	3,5	2-4	бауыр
Ірі қара	25	7	28	1-3	өкпе, бауыр
Жылқы	18	-	-	-	-

Жамбыл облысы бойынша эхинококкозбен инвазиялану қойларда инвазия экстенсивтілігі 14,4 % инвазия интенсивтілігі бауырда, өкпеде 2-4 циста, ешкілерде 13,8 % ИИ 1-3 бауыр мен өкпеде, ірі қарада 33% ИИ 1 ден 6-ға дейін циста бауырда [2 кесте].

Кесте 2 - Жамбыл облысы бойынша ауылшаруашылық жануарларының эхинококкозбен инвазиялану көрсеткіші

Жануар түрі	Зерттелінді (бас)	Зарарданған (бас)	ИЭ, %	ИИ	Орналасу орны
Қой	264	38	14,4	2-4	өкпе, бауыр
Ешкі	276	38	13,8	1-3	өкпе, бауыр
Ірі қара	264	87	33	1-6	бауыр

Оңтүстік Қазақстан облысы мал сою пунктерінде 90 бас қой, 91 бас ірі қара және 7 бас жылқы зерттелінді [3 кесте].

Кесте 3 - Оңтүстік Қазақстан облысы бойынша ауылшаруашылық жануарларының эхинококкозбен инвазиялану көрсеткіші

Жануар түрі	Зерттелінді (бас)	Зарарданған (бас)	ИЭ, %	ИИ	Орналасу орны
Қой	90	40	44,4	2-4	бауыр
Ірі қара	91	80	87,9	2-5	бауыр
Жылқы	7	-	-	-	-

Қызылорда облысы мал сою пунктерінде 113 бас ірі қара, оның ішінде 39 бас Ақтөбе облысынан, 20 - Атырау, 34 – Оңтүстік Қазақстан және 20 бас Россиядан; 127 бас ұсақ мал, соның ішінде 61 – Оңтүстік Қазақстан

облысы, 48 – Батыс Қазақстан облысы, 18 бас Қостанай облысынан және 3 бас жылқы 1 бас Атырау облысынан және 2 бас Батыс Қазақстан облысынан зерттелінді [4 кесте].

Кесте 4 - Қызылорда облысы бойынша ауылшаруашылық жануарларының эхинококкозбен инвазиялану көрсеткіші

Жануар түрі	Зерттелінді (бас)	Зарарданған (бас)	ИЭ, %	ИИ	Орналасу орны
Қой	18	1	5,55	3-15	өкпе
Ірі қара	34	2	5,9	2-15	өкпе, бауыр

Ақтөбе облысы мал сою пунктерінен 301 бас ірі қара, 29 бас ұсақ мала, 14 бас жылқы зерттелінді [5 кесте].

Кесте 5 - Ақтөбе облысы бойынша ауылшаруашылық жануарларының эхинококкозбен инвазиялану көрсеткіші

Жануар түрі	Зерттелінді (бас)	Зарарданған (бас)	ИЭ, %	ИИ	Орналасу орны
Ірі қара	301	33	10,9	4-6	өкпе, бауыр
Қой	29	24	82,7	1-5	өкпе, бауыр
Жылқы	14	-	-	-	-

Маңғыстау облысы мал сою пунктерінде барлығы 900 бас қой, соның ішінде 837 бас Батыс Қазақстан облысынан, 63 Россиядан (Дагестан); 230 бас ұсақ мал Батыс Қазақстан облысынан; 43 ешкі Батыс Қазақстан облысы; 38 жылқы Мұнайлы ауданы Маңғыстау облысынан, 40 бас шошқа РФ Орынбор облысынан және 4 түйе Маңғыстау облысы Шетпі ауданынан зерттелінді [6 кесте].

Кесте 6 - Маңғыстау облысы бойынша ауылшаруашылық жануарларының эхинококкозбен инвазиялану көрсеткіші

Жануар түрі	Зерттелінді (бас)	Зарарданған (бас)	ИЭ, %	ИИ	Орналасу орны
Қой (Батыс Қазақстан обл.)	837	9	1,07	2-4	өкпе
Қой (РФ, Дагестан)	63	17	29,9	2-6	өкпе, бауыр
Ірі қара (Батыс Қазақстан обл.)	230	8	3,47	3-6	өкпе, бауыр
Шошқа (РФ, Орынбор обл.)	40	3	7,5	1-2	өкпе

Атырау және Атырау облысының 4 мал сою пунктерінде 573 бас ірі қара, соның ішінде 570 бас Батыс Қазақстан облысынан және 3 – Атырау облысынан; 160 бас қой, 140 бас Батыс Қазақстан облысынан және 20 бас Атырау облысының Құрманғазы және Қызылкөк аудандарынан; 15 бас жылқы, Батыс Қазақстан облысынан әкелінген [7 кесте].

Кесте 7 – Атырау облысы бойынша ауылшаруашылық жануарларының эхинококкозбен инвазиялану көрсеткіші

Жануар түрі	Зерттелінді (бас)	Зарарданған (бас)	ИЭ, %	ИИ
Ірі қара (Батыс Қазақстан обл.)	570	21	3,68	4-6
Ірі қара (Атырау обл.)	3	3	100	3-8
Ұсақ малдар (Батыс Қазақстан обл.)	140	-	-	-
Қой (Атырау обл.)	20	1	5	1-3
Жылқы (Батыс Қазақстан обл.)	15	-	-	-

Батыс Қазақстан облысынан (Жанғали, Сырым, Тайпақ, Казталов аудандары) 351 бас ірі қара, 46 қой, 28 шошқа және 14 жылқы зерттелді [8 кесте].

Кесте 8 – Батыс Қазақстан облысы бойынша ауылшаруашылық жануарларының эхинококкозбен инвазиялану көрсеткіші

Жануар түрі	Зерттелінді (бас)	Зарарданған (бас)	ИЭ, %	ИИ	Орналасу орны
Ірі қара	351	63	17,9	3-5	өкпе
Қой	46	23	50	1-4	өкпе, бауыр
Шошқа	28	4	14,3	2-3	өкпе
Жылқы	14	-	-	-	-

Қостанай облысының 3 мал сою пунктерінде эхинококкозға 98 бас ірі қара, 75 қой және 193 шошқа тексерілді [9 кесте].

Кесте 9 – Қостанай облысы бойынша ауылшаруашылық жануарларының эхинококкозбен инвазиялану көрсеткіші

Жануар түрі	Зерттелінді (бас)	Зарарданған (бас)	ИЭ, %	ИИ	Орналасу орны
Ірі қара	98	18	18,36	2-5	өкпе
Қой	75	3	4	1-2	өкпе, бауыр
Шошқа	193	11	5,69	1-4	өкпе

Солтүстік Қазақстан облысының барлық аудандарында жануарлардың эхинококкозбен залалдануы анықталған. Толық емес гельминтологиялық сойып зерттеу арқылы 374 бас қой, 140 бас ірі қара зерттелінді [10 кесте].

Кесте 10 – Солтүстік Қазақстан облысы бойынша ауылшаруашылық жануарларының эхинококкозбен инвазиялану көрсеткіші

Жануар түрі	Зерттелінді (бас)	Зарарданған (бас)	ИЭ, %	ИИ	Орналасу орны
Ірі қара	140	14	10	3-5	өкпе
Қой	374	22	5,88	1-4	өкпе, бауыр

Ақмола облысында жүргізілген мониторингтік талдаулар нәтижесі бойынша әр түрлі мал сою пунктерінен 22 бас ірі қара және 70 бас қой [11 кесте].

Кесте 11 – Ақмола облысы бойынша ауылшаруашылық жануарларының эхинококкозбен инвазиялану көрсеткіші

Жануар түрі	Зерттелінді (бас)	Зарарданған (бас)	ИЭ, %	ИИ	Орналасу орны
Ірі қара	22	1	4,5	2-6	өкпе
Ұсақ мал	70	2	2,8	1-3	өкпе, бауыр

Қарағанды облысының мал сою пунктерінде 165 бас ірі қара және 159 қой зерттелді [12 кесте].

Кесте 12 – Қарағанды облысы бойынша ауылшаруашылық жануарларының эхинококкозбен инвазиялану көрсеткіші

Жануар түрі	Зерттелінді (бас)	Зарарданған (бас)	ИЭ, %	ИИ	Орналасу орны
Ірі қара	165	20	12,12	3-6	өкпе
Қой	159	7	4,0	1-4	өкпе, бауыр

Павлодар облысының мал сою пунктерінде 58 бас ірі қара және 159 бас қой зерттелді [13 кесте].

Кесте 13 – Павлодар облысы бойынша ауылшаруашылық жануарларының эхинококкозбен инвазиялану көрсеткіші

Жануар түрі	Зерттелінді (бас)	Зарарданған (бас)	ИЭ, %	ИИ	Орналасу орны
Ірі қара	58	6	10,34	2-7	өкпе, бауыр
Қой	-	-	-	-	-

Шығыс Қазақстан облысы Семей қаласының мал сою пунктінде толық емес гельминтологиялық сойып зерттеу арқылы 138 ірі қара зерттелінді [14 кесте].

Кесте 14 – Шығыс Қазақстан облысы бойынша ауылшаруашылық жануарларының эхинококкозбен инвазиялану көрсеткіші

Жануар түрі	Зерттелінді (бас)	Зарарданған (бас)	ИЭ, %	ИИ	Орналасу орны
Ірі қара	138	8	5,79	2-6	өкпе, бауыр

Қорытынды Ауылшаруашылық жануарларын толық емес гельминтологиялық сойып зерттеулердің нәтижесі бойынша эхинококкозбен залалданудың жоғарғы көрсеткіші ірі қара малында (4,5%-дан 100%-ға дейін), қойларда (2,8%-дан 82,7%-ға дейін), шошқаларда (5,69%-дан 14,3%-ға дейін) және ешкілерде (13,8 %) тіркелді. Жылқыларда эхинококк цисталары анықталмады.

Жалпы ауылшаруашылық жануарларының жоғарғы инвазиялану дәрежесі Республика бойынша Оңтүстік Қазақстан облысында (63,83%), Батыс Қазақстан (20,50%), Жамбыл (20,27%), Солтүстік Қазақстан (18,81%) және Ақтөбе облысында (16,56%) тіркелгені анықталды. Ауылшаруашылық жануарларының эхинококкозбен залалдануының төмен көрсеткіштері Қостанай (8,88%), Қарағанды (8,33%), Атырау (6,95%), Алматы (6,67%) және Ақмола облысында (3,26%) байқалды.

Әдебиеттер тізімі:

1. Котельников Г.А. Диагностика гельминтозов животных. – Москва, 1974. - С.163-172.
2. Гаврилов А.А. Распространение гельминтов собак в ряде областей Казахстана // Тр. Казахского НИВИ. – Алма-Ата, 1973. – Т. 15. – С.383-388.

Иегерлер туралы мағлұмат:

Абдыбекова А.М.- «ҚазҒЗВИ» ЖШС бас директорының орынбасары, ветеринария ғылымдарының докторы, профессор

Джусупбекова Н.М.- аға ғылыми қызметкер, ветеринария ғылымдарының кандидаты

Абдибаева А.А.- ғылыми қызметкер

Жақсылықова А.А.- кіші ғылыми қызметкер

Керимбаева Р.А.- кіші ғылыми қызметкер

Резюме

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЭХИНОКОККОЗА НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Абдыбекова А.М, Джусупбекова Н.М., Абдибаева А.А., Жақсылықова А.А., Керимбаева Р.А.

ТОО «Казакский научно- исследовательский ветеринарный институт»

В статье приведены материалы о распространении эхинококкоза на территории Республики Казахстан

Ключевые слова: эхинококкоз, экстенсивность инвазии, интенсивность инвазии, зараженность

Summary

ECHINOCOCCOSIS DISSEMINATION IN THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

Abdybekova A.M., Dzhusupbekova N.M., Abdibaeva A.A., Zhaksylykova A.A.,
Kerimbaeva R.A.

LLP «Kazakh Scientific Research Veterinary Institute»

The article presents the materials about the spread of echinococcosis in Kazakhstan

Keywords: hydatid disease, extent of infestation, the intensity of the infestation, infestation

ӘОЖ 619.616.98

ҚР ОБЛЫСТАРЫ АУМАҒЫНДАҒЫ СОҢҒЫ ЖЫЛДАРДАҒЫ МАЛ БРУЦЕЛЛЕЗІНІҢ ИНДЕТТАНУЛЫҚ ЖАҒДАЙЫ

Әбутәліп Ә., Базарбаев М.Б., Қанатбаев С.Г., Аманжол Р.,
Мәтіхан Н., Шытырбаева З.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Түйін Мақалада ҚР аумағында ірі және ұсақ мүйізді малдар арасындағы 2012-2014 жылдардағы бруцеллез ауруы жөніндегі індеттанулық мониторинг нәтижелері туралы сөз болады.

Кілттік сөздер: бруцеллез, эпизоотологиялық ахуал, бруцеллездің таралу деңгейі

Тақырыптың өзектілігі Жануарлар бруцеллезі одан сауықтыру жөніндегі қол жеткен біршама жетістіктерге қарамастан кейбір ТМД елдерінде, оның ішінде ҚР әлі де өте маңызды эпизоотологиялық және эпидемиологиялық мәселелердің бірі болып қалуда.

Қазіргі уақытта ҚР мал шаруашылығы негізінен жеке, фермерлік, кооперативтік шаруашылықтар негізінде дамуда, ал мұндай құрылымдар мал шаруашылығының технологиясының өзгеруіне әкелді, осыған байланысты бруцеллезге қарсы жүргізілетін іс-шаралар сипаты мен мазмұнын да қайта қарастыру қажеттігі туындады. Осы айтылғандарға байланысты республика облыстарының мал шаруашылығында бруцеллезден қазіргі қалыптасқан эпизоотиялық жағдайға мониторинг жасап, бруцеллез таралуының негізгі себептерін анықтау өзекті мәселелердің бірі болып табылады.

Зерттеудің мақсаты мен материалдары ҚР жануарлар арасындағы бруцеллез ауруы жөніндегі індеттанулық ахуалды және бруцеллез таралуының басты себептерін нақтылау. Зерттеу материалдары ретінде ҚР ветеринария қызметінің, облыстық, аудандық ветеринария органдарының бруцеллез жөніндегі мәліметтері және арнайы іс-сапар кезінде жинақтаған өзіндік зерттеу нәтижелері пайдаланылды.

Зерттеу нәтижелері ҚР мал бруцеллезі жөніндегі індеттік ахуал әлі де өте күрделі жағдайда, мысалы, 2013 жылы республика аумағында тіркелген барлық инфекциялық аурулардың 44,7% бруцеллез үлесінде, яғни індет аурулардың нозологиялық профилінде мал бруцеллезі бірінші орынды алып тұр.

2012-2014 жылдардағы ҚР сиыр және қой бруцеллезі ошақтарының саны 1 суретте көрсетілген.

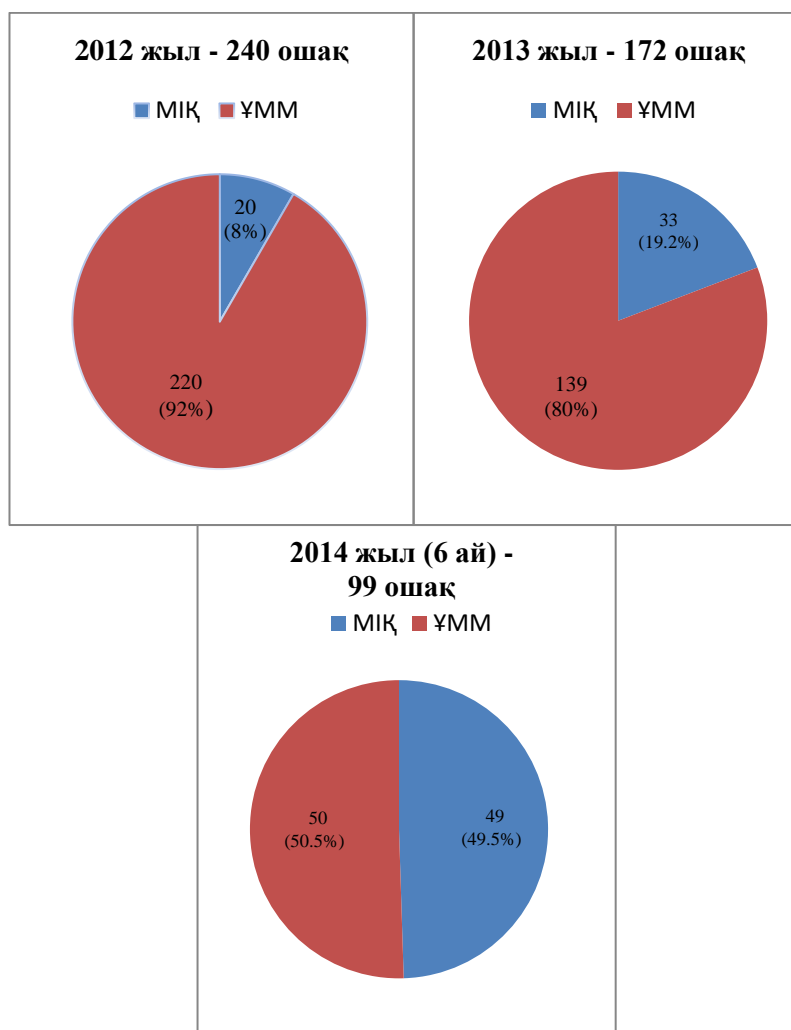
1 суреттен көрінгендей, 2012 жылдан бері жалпы бруцеллездің ошақтарының саны төмендегенімен, қой бруцеллезі ошақтары саны өскені байқалады. Қой бруцеллеі ошақтары 8% (2012ж) 49,5% (2014ж) жетті.

"РВЗ"РМК 2012-2013 жылдардағы сиыр бруцеллездің эпизоотиялық жағдайы жөніндегі ресми статистикалық деректерін талдау республика бойынша бруцеллезбен аурудың ең жоғары пайызы БҚО - 1,28., одан кейін Ақтөбе, Қостанай және Павлодар облыстарында - 0,6% астам болғандығын көрсетті.

2013 жылы сиырдың бруцеллезбен ауруының ең жоғары пайызы тағы да БҚО - 1,5, одан кейін Ақтөбеде - 0,9 және Қарағандыда - 1,2 % болды.

2013 жылдың 6 айында сиыр бруцеллезі таралуының ең жоғары пайызы БҚО - 1,69, одан кейін Қарағандыда - 1,4 және Ақтөбеде - 1,1% болса, 2014 жылдың 6 айында бруцеллезбен аурудың жоғарғы деңгейі тағы да осы облыстарда сақталынып, сәйкесінше - 1,7, 1,7, 1,4 % тең болды.

Жалпы республика бойынша бруцеллезбен сиырлардың ауру деңгейі - 0,7% көтерілді.

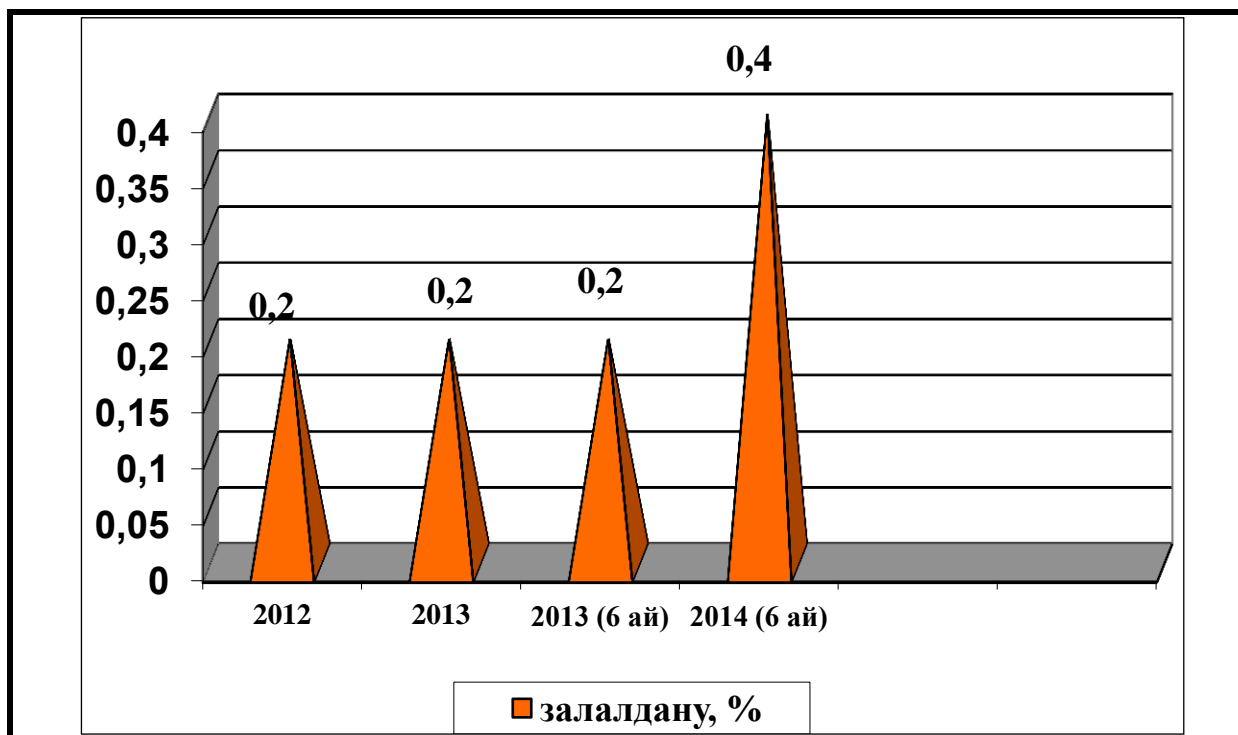


1 сурет - 2012-2014 жылдардағы ҚР сиыр және қой бруцеллезі ошақтарының саны

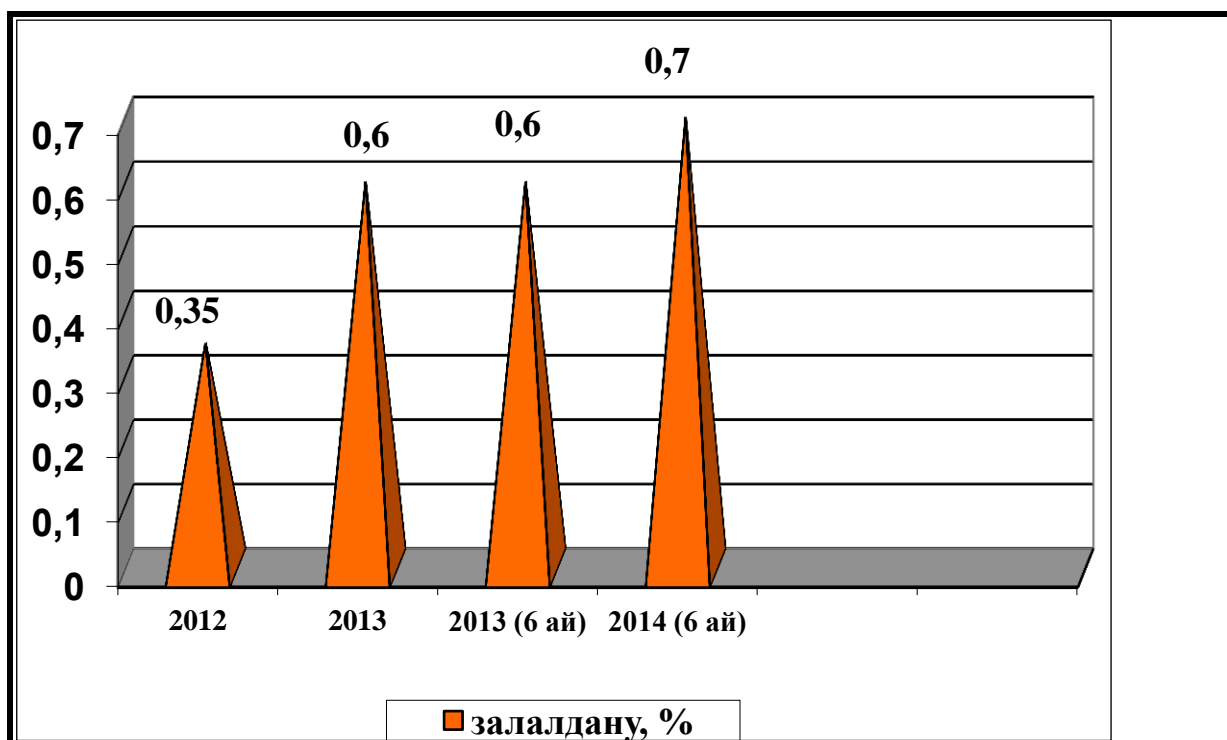
2012-2013 жылдардағы ҚР бойынша диагностикалық зерттеу нәтижелері қой бруцеллезінің таралуының ең биік көрсеткіштері 2012 жылы Ақмола, ШҚО және Жамбыл облыстарында екендігін көрсетті - 0,3%. 2013 жылы бұл көрсеткіш екі есеге жуық жоғарылап ШҚО - 0,6, Жамбылда - 0,5% болды.

2014 жылдың 6 айында қой бруцеллезінің таралу деңгейі республика бойынша (0,4%), 2013 жылдың сәйкес кезеңімен салыстырғанда (0,2%) екі есе өскендігі байқалады.

2012-2014 жылдардағы жануарлардың бруцеллезбен ауру денгейінің динамикасы 2, 3 суреттерде бейнеленді.



2 сурет - 2012 - 2014 жылдардағы қойдың бруцеллезбен ауру денгейі



3 сурет- 2012 - 2014 жылдардағы сиырдың бруцеллезбен ауру денгейі

2 суреттен қой бруцеллезінің таралудеңгейі 2012 -2013 жылдары 0,2% шамасында болып, ал, 2014 жылы 0,4%-ға жоғарылағанын көреміз.

3 суреттен сиыр бруцеллезінің таралу деңгейі жыл сайын біртіндеп көтерілгенін байқаймыз: 2012 жылы – 0,35%, 2013 жылы-0,6%, 2013 жылдың 6 айында – 0,6%, ал 2014 жылдың 6 айында- 0,7%.

Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде республиканың аумағында 2012-2014 жылдардағы сиыр және қой бруцеллезінің таралуының аумақтық және популяциялық шекаралары анықталынды.

2012 жылы барлық облыстар ішінде сиыр бруцеллезінің таралу деңгейі бойынша ең бірінші орында БҚО, содан кейін Ақтөбе, Павлодар, Қостанай облыстары болды.

2013 жылы сиыр бруцеллезінің таралу аумағы кеңейіп, бруцеллездің кең және орташа деңгейде таралған аумақтарына аталған облыстардан басқа Атырау, Ақмола, Қарағанды облыстары да кірді.

2014 жылдың 6 айында кейбір облыстарда бруцеллезбен ауру деңгейі былтырғыдан да жоғары болды. Мысалы, Ақтөбе, Қарағанды, Павлодар облыстарда бруцеллезбен залалдану пайызы - 1,3% болып, олар ауру жұқтыр- биік дәрежесі жоғары зонаға ауысты.

2012 жылы қой бруцеллезінің жоғары деңгейде таралуы БҚО, ШҚО, одан кейін Ақмола, Жамбыл облыстарда тіркелді.

2013 жылы Ақмола, ШҚО, Жамбыл облыстары бруцеллез таралуы жөнінен төмен аймақтан жоғары аймаққа өтті, ал Ақтөбе облысы бруцеллезден таза есептелінетін аймақтан бруцеллез таралуы орташа аймаққа жатқызылды.

2014 жылдың 6 айында қой бруцеллезінің таралуының ең жоғары деңгейі - 0,9% ШҚО сақталды, ал Қостанай, Қызылорда, Қарағанды, Павлодар, Алматы облыстары бруцеллезден таза есептелінетін аймақтан бруцеллез таралуы орташа немесе төмен аймаққа ауысты.

Облыстың аумағын мұндай зоналарға бөлу бруцеллездің пайда болу және таралу тәуекелділігін ескере отырып, бруцеллездің алдын алу немесе одан сауықтыру шараларын жоспарлау және өткізуге көмегін тигізеді.

Қорытынды Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде, республика аумағындағы соңғы жылдардағы бруцеллез індеті жөнінен эпизоотологиялық ахуалды сараптай келе, кейбір облыстардағы бруцеллез жөніндегі эпизоотикалық жағдайдың нашарлауына әкеліп соғатын себептер анықталынды, олар:

- кейбір облыстарда жануарларды бруцеллезге зерттеу жоспарының барлық мал басын қамтымауына байланысты, бруцеллезге барлық мал басының түгелдей тексерілмеуі;

- мал шаруашылығы фермасының немесе мал ұстау орындарының ветеринарлық-санитариялық жағдайының нашарлығы;

- бруцеллезбен ауырған малдың шаруашылық, аудан немесе облыстар арасындағы бақылаусыз миграциясы;

Бруцеллез ауруы анықталынған малдың уақытында оқшауланын, союға жіберілмей табында қалуы;

- бір ферма, аулаларда жануарлардың әр түрлерін немесе ауру және сау малдарды бірге ұстап-бағу;

Ауру шыққан немесе іш тастаған малдар анықталынған жерлерде ветеринариялық-санитариялық ережелердің, бруцеллез ошақтарындағы дезинфекция шараларының уақытында және толыққанды орындалмауы;

Сиыр және қой бруцеллезіне қарсы спецификалық алдын алу шараларының қолданылмауы ж.т.б.

Жалпы, жүргізілген зерттеулер нәтижелері мен қорытындылары бруцеллезді алдын алу немесе одан сауықтыру іс-шараларын жүргізгенде ескерілуі тиіс.

Әдебиеттер

1. Иванов Н.П. Бруцеллез животных и меры борьбы с ним / Н.П.Иванов // Алматы, 2007. - 617с.

2. Фомин А.М. Этапы оздоровления Самарской области от бруцеллеза крупного рогатого скота / А.М.Фомин, г. М. Сафина и др. // Матер. Международной конф., посвящ. 80-летию Самарской НИВС.-2009. - С.516-520.

3. Абдрахманов С.К., Абуталип А., Барамова Ш.А. Оценка эпизоотического процесса и прогнозирование географического распространения бруцеллеза сельскохозяйственных животных / С.К.Абдрахманов //Материалы МНПК, ЗКАТУ им. Жангирхана. Уралск, 2012. - С. 141-146.

4. Султанов А.А., Абуталип А.А. Задачи эпизоотологического мониторинга в Республике Казахстан /А.А.Султанов// Мат. выездной заседаний Ком-та по аграрным вопросам Мажилиса Парламента РК «Проблемы и перспективы обеспечения ветеринарной безопасности животноводства в РК». - Алматы, 2013. - С. 123-127.

Иегерлер туралы мағлұмат:

Әбутәліп Ә. – Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институтының бас ғылыми қызметкері, ветеринария ғылымдарының докторы, профессор

Базарбаев М.Б. – «Қарағанды ғылыми-зерттеу ветеринария станциясы» бас ғылыми қызметкері, ветеринария ғылымдарының докторы

Канатбаев С.Г. – «Батыс Қазақстан ғылыми-зерттеу ветеринария станциясы» филиалының бас ғылыми қызметкері, биология ғылымдарының докторы

Аманжол Р. - індеттанулық мониторинг және жануарлардың бактерия және паразиттер туындататын ауруларының пайда болу тәуекелдерін бағалау бөлімінің аға ғылыми қызметкері

Мәтіхан Н. - докторант

Шытырбаева З. – докторант

Резюме

ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ В ОБЛАСТЯХ РК ЗА ПОСЛЕДНИЕ ГОДЫ

Абуталип А., Базарбаев М.Б., Канатбаев С.Г., Аманжол Р.,
Матихан Н., Шытырбаева З.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

В статье приводятся результаты мониторинговых исследований по бруцеллезу крупного и мелкого рогатого скота на территории республики за 2012-2014 годы.

Ключевые слова: бруцеллез, эпизоотологическая ситуация, степень распространения бруцеллеза

Summary

EPIZOOTOLOGICHESKY MONITORING BRUCellosIS ANIMAL RC FIELD IN RECENT YEARS

Abutalip A., Bazarbaev M.B., Kanatbayev S.G., Amanzhol R., Matihan N.,
Shytyrbayeva S.

LLP “Kazakh scientific research veterinary institute”

The article presents the results of monitoring research on brucellosis of cattle and small ruminants in the country for 2012-2014.

Keywords: brucellosis, the epidemiological situation, the extent of the spread of brucellosis

ӘӨЖ 619:616* 615

БРУЦЕЛЛАНЫҢ S- ЖӘНЕ R- ПІШІНДЕРІНЕ ГИПЕРИММУНДЫ ҚАН САРЫСУЫН АЛУ ЖОЛДАРЫ

Барамова Ш.А., Аманжол Р., Түсіпқанұлы О., Шманова Б.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Түйін Мақалада *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis*, *Brucella ovis* түрлерінен дайындалған, антигендерден өзіне тән және жоғары белсенді гипериммунды қан сарысуын алу жолдарын жасауға арналған.

Кілттік сөздер: бруцеллез, қан сарысуы, антидене, антигендер, бруцелла өсіндісі

Кіріспе Адамдар мен жан-жануарлардың денсаулығының қауіпсіздігін қамтамасыз ету, мал шаруашылығының қарқынды дамуы және жұқпалы аурулардың эпидемиясының пайда болуын болдырмау көп жағдайда, ветеринариялық тәжірибеде қолданатын диагностикалық дәрімектердің тиімділігіне байланысты [1,2]. Мысалы, шаруашылық жүргізетін субъектілерді бруцеллезден сауықтыруға бірден-бір әсер ететін факторлардың бірі, ветеринариялық тәжірибеде қолданатын диагностикалық дәрімектердің ресми жеткілікті жарияланбаған балаулық әдістері және қолданылатын дәрімектердің соның ішінде, қан сарысуынның сезімталдығының мен өзіне тәнділігінің төмен болуы [3].

Зертханалық жағдайда, қазіргі уақытта пайдаланылатын балаулық позитивті қан сарысулары төмен белсенділік көрсетеді, кейде қан сарысуы араларында, сонымен қатар, антигеннің бір пішінінен алынған қан сарысуы басқа пішінінен алынған (мысалы, S- қан сарысуы R-антигенмен, және керісінше) антигенмен қарама-қайшы реакциялар жүреді. Осыған байланысты, біздің зерттеуіміздің мақсаты зертханалық тәжірибеде малдарды бруцеллезге жаппай зерттегенде бақылау ретінде қолданатын және бактериологиялық зерттеу үшін де, титрі жоғары өзіне тәнді антидене мен теріс қан сарысуын алу болатын.

Зерттеудің мақсаты бруцелланың әртүрлі түрлерін және пішіндерінен антигендерді дайындау болатын: S-пішіндері (*B.melitensis*; *B.abortus*, *B. Suis*), R-пішіні (*B.ovis*, *B.melitensis*) зертханалық жануарларды кейін иммундау үшін қан сарысуын алу болатын.

Материалдар және зерттеу әдістері Біз тәжірибе жүзінде, бруцеллез антигендерін алу үшін бруцеллез бөлімінің мұражайында сақталған R - және S-пішіндердегі штаммдарды қолдандық: *B. abortus* 19, 82, 54, 544; *B.melitensis* Рев-1, 565; *B. suis* 1330,64; *B.ovis* 10/2; 424 және *B.melitensis* B-0286 (R-пішіні). Осы штаммдардың биологиялық қасиеттері зерттелініп, келесі ғылыми жұмыстар үшін олардың ішінен ең жарамдысы іріктеліп алынды, антигендер дайындау үшін, ең қою бактериалды қоймалжың алынды. Комитеттің ұсынған бруцеллездің таксономиясы бойынша БДҰ/ААҰ Халықаралық комитеттің сарапшыларының әдісімен бруцеллездің биологиялық қасиеттері анықталды.

Бруцеллез антигендерін дайындаудың ең тиімді әдісін анықтау мақсатында микробтық сұйықтықты инактивациялаудың түрлі жолдары сыналды, оны жиналған бактериалды қоймалжың дайындау кезінде

қолданатын болады. Осылайша оларға, жылу және химиялық ультрадыбыстық залалсыздандыру әдістері пайдаланылды.

Жоғарыда аталған барлық бруцелла түрлері мен пішіндері жылумен залалсыздандыруға ұшырады. Су моншасында залалсыздандыру түрлі температурада 50° ден - 100°C дейін аралықтарындағы режим қолданылды және экспозиция уақыты - 20 минуттан 3 сағатқа дейін сыналды. Антигендер алу үшін бруцелланы залалсыздандырудың ең оңтайлы уақыты 60 мин - 70°C екендігі анықталды.

Бруцелланы залалсыздандырудың толықтығы, пробиркадағы коректік ортаға залалсыздандырылған сұйықтықты себу арқылы тексерілді, термостатта $37-38^{\circ}\text{C}$ температурада 10 күн өсірілгеннен кейін, бруцелланың өсуі және басқа да бөтен микрофлораның болмауы байқалды.

Ультрадыбыстық залалсыздандыру, сондай-ақ жоғарыда аталған бруцеллездің штамдарының барлығына қатысты болды. Осылайша S-пішіндегі 100 млрд. бруцелл сұйықтығы рН 9-10,0 буферлік ерітіндіде, ультрадыбыстық толқындар арқылы бұзылды, жиілігі 22 Кгц және күші 100 Вт/см^3 болды. Тәжірибелер бірінші ретте 15-20 мин бойына 70°C суытпай микробты сұйықтық ағарғанша, содан кейін 10 минут бойы 35°C бактериалды сұйықтықты салқындату арқылы жүзеге асырылды. Одан кейін центрифугда 6 мың. айн/мин 20 мин. бойына айналдырғанда бұзылмаған бруцелланы бөліп алу үшін жүргізілді. Тұнба сұйықтығын құйып алып, ол антиген ретінде қолданылды. Бруцелланың барлық түрін R-пішіндегі сондай-ақ кейбір режимдерге өзгерістер енгізіп ультрадыбыспен өңделді. 100 млрд бруцелла сұйықтығына дистилденген суға 0,05 М трис-тұз қышқылы қосылды буфердің көрсеткіші рН 8-10, және 15 минут салқындатпай ультрадыбыстық әсерге ұшырады, температура бақылауға алынып отырылды, температура – 80°C жоғары болмауы керек. Содан кейін, қайтадан 10 мин 30°C суытылды. Алынған суспензия центрифугадан 20 мың айн/мин -30 мин. бойына айналдырылды. Тұнба түбіндегі сұйықтық антиген ретінде қолданылды.

Химиялық инактивациялау бруцелланы барлық түрін және пішіндерін формалин ерітінділерімен әртүрлі концентрацияда -0,1; 0,15; 0,2; 0,25; 0,3; 0,35; 0,4; 0,45; 0,5; 0,55; 0,6; 0,65; 0,70; 0,75; 0,8; 0,85; 0,9; 1,0 қолданып жүргізілді. Толық инактивация бруцелл 0,25-0,5% формалин ерітіндісін қосқанда байқалды. Инактивтелген микробты сұйықтықты қатты коректік ортаға сеуіп $37-38^{\circ}\text{C}$ температурда 10 күн экспозицияда ұстау арқылы тексерілді. Бруцелланың өсуі барлық зерттелетін үлгілерде байқалған жоқ. Агглютинацияға қабілеттілігі мен белсенділігі аралас антигендердің S- және R-позитивті, сондай-ақ негативті қан сарысуымен титрация жасау жолымен анықталынды.

Инактивтендірілген микробтық суспензиялар қатты коректік ортаға сеуіп $37-38^{\circ}\text{C}$ температурада 10 күн экспозицияда ұстау арқылы тексерілді. Барлық зерттелетін үлгілерде бруцелла өсуі байқалмады.

Осылайша араластырылған R-позитивті және S- позитивті антигендермен титрация жасалды, сондай-ақ негативті қан сарысуымен белсенділігін және агглютинацияға қабілетілігі анықталды.

Агглютинация және комплементті байланыстыру реакциясында жылу әсерінен алынған антигендер белсенді болды. Барлық антигендер, гомологенді бруцеллезді қан сарысуына өзіне тәнділігі жағынан басым болды, иерсиниоз, пастереллез, вибриоз, туляремия сияқты бөгде және негативті қан сарысуларымен реакцияға түспеді.

Осылайша, алынған бруцеллезді антигендер жеткілікті жоғарғы дәрежедегі сезімталдыққа және өзіне тәнділікке ие болды, одан кейін гипериммунды қан сарысуын алғанда пайдаланатын болады.

Зерттеудің келесі кезеңінде бруцелланың S- пішінді және R пішінді белсенділігі жоғары және өзіне тәнді қан сарысуын алуға қояндарды антигендермен иммундаудың оңтайлы үлгісін анықталды. Біз жоғарғы белсенді және өзіне тән қан сарысуын алу мақсатында бруцеллез антигенімен қояндарды иммундаудың 2 үлгісін зерттедік. Барлығы тәжірибеге 20 қоян алынды.

Үлгі 1. Дайындалған антигендерді қояндарға үш рет енгіздік (әрбір штаммға 2 қояннан) қан тамырына және тері астына 7 күн аралықпен, егу мөлшері көбейтіліп отырылды. Бірінші кезеңнің бірінші курсына жануарларды иммундау, қояндарға тек қан тамырына инактивтелген антигендерді бірдей көп емес мөлшерде $0,5 \text{ см}^3$ сұйықтық $0,5$ млрд. м.д. егілді. Иммунизацияның екінші кезеңнің бірінші курсына өлтірілген бруцелланы тері астына егу жолын қолдану арқылы жүзеге асырылды, $1,0 \text{ см}^3$ сұйықтықта $0,5$ млрд. мөлшерде м.д. антигенді әрбір 7 күн сайын 3 реттен егілді. Үшінші кезеңнің бірінші курсына жануарларға тек тірі бруцелланы тері астына көп мөлшерде енгізу арқылы жүргізілді. Қояндар иммундағаннан кейін 7 күн өткен соң, өзіне тән антидененің титрін қалыптастыру үшін олардан қан алынып серологиялық зерттеу жүргізілді. Қан сарысуы жоғарғы серологиялық белсенділікке ие жануарлардың жүрегінен қан алынды, содан кейін толық қансыздандырылды. AP бруцеллезді антидене титрін төмен анықтаған жағдайда, дайындалған штаммдардан *V.melitensis* Рев-1, *V.abortus* 19, *V. suis* 1330 және КҰБР - *V.ovis* 10/2, *V.melitensis* В-0286 штамм антигендерімен соңғы инъекциядан соң қояндардан 14, 21 күнен кейін қан алынды. Осы мерзімде иммундалған жануарлардың, жоғарғы антидене титрін көрсетпегендері қайталап 21 күннен кейін иммундалды. Қосымша екінші иммунизацияға дейін жануарлардың өлуін ескерту мақсатында жоғарыда аталған штаммдарды (0,1 мл) 30-60 мин шағын мөлшерде енгіздік. Осыған байланысты, бірінші үлгіде жоғарғы белсенді қан сарысуын алу бірнеше ұзақтау болғандықтан, біз иммуностимулятор - левомизолмен қояндарды иммундаудың қысқа үлгісінде зерттедік. Сондықтан тәжірибеге 10 қоян алынды, оларға сол антигендер енгізілді, иммунизацияның бірінші үлгісін қолданып, барлық жануарларға 1 млрд. инактивтелген бруцелла

сұйықтығын тері астына 4 аяғының табан астына 0,25 мл мөлшерде 1,0-2,0 мм. тереңдікте енгізілді. Қояндарға қосымша левомизолмен тері астына 0,1 мл иммундалды. 7 күнен кейін жануарлардан қан алдық және серологиялық АР және КҰБР зерттелді.

Үлгі 2. Екінші үлгіде жануарларды иммундау үшін бірдей мөлшерде және өлтірілген бруцелл антигендерін енгізу әдісі қолданылды. Бірінші курс иммунизациядан кейін және 2 айдан соң тәжірибедегі барлық қояндардан қан алынды, қан сарысуын АР және КҰБР бірыңғай бруцеллезді және овисті антигендерді қолданып зерттелінді.

Жүргізілген зерттеулердің нәтижесінде, берілген қояндарды гипериммунизациялау үлгісі қолданудың тиімділігін көрсетті жоғарғы белсенді қан сарысуы алу үшін, АР-да және КҰБР -да бруцеллезді антигендер қатынасында: S-пішін (*B.melitensis* Рев-1; *B.abortus* 19, *B. suis* 1330) және R-пішін (*B.ovis* 10/2, *B.melitensis* В-0286). Сондықтан, атап өту керек, жоғарғы титрда (АР-да) агглютинацияға түсетін қан сарысуын алу үшін және комплементі байланыстыратын антидене (КҰБР-да) *B.melitensis* Рев-1 және *B.abortus* 19 штаммдарына бірінші курс иммунизациясын қолданған жеткілікті, ендеше *B. suis* 1330 штаммына толық курс үлгіні қолдану қажет, яғни дайындалған антигенді енгізу оны 3-рет 7 күн аралықпен жүргіледі. Зерттеу нәтижелері, өзіне тән антидене АР (1:1600) жоғары титрлі қан сарысуына ие болды, 14 күнен кейін алынған антигенге шт. *B.abortus* 19 ие болды және 1 курс 21 күнен кейінгі иммунизация (1:3200) болды. КҰБР бұл қан сарысуы ең жоғары белсенділік көрсетті, қан алғаннан кейін 21 күн өткен соң, антидене титрі 1:320 теңелді. Штамм *B.melitensis* Рев-1 антигендерімен иммундалған, қояндардың қан сарысуы, АР-да әсіресе 21 күнен кейін белсенді болды, бірінші курс иммунизациядан кейін ең жоғары титр 1:1600 жетті. Көрсетілген мерзімде аталған штаммның комплементті байланыстырушы антидене титрі антигенге КҰБР-да 1:160 теңелді. Бруцеллез жануарлардың антидене титрі жеткілікті жоғары болуына байланысты қояндар толық қансыздандырылды, алынған қан сарысуы консервленіп, келесі тәжірибелерде қолданылатын болады.

Қояндардың қан сарысуының белсенділігі, *B. suis* 1330 штамман алынған кезде жоғары болмады. Қан сарысуы сол штаммға екінші курс иммунизациясы біткеннен кейін агглютинирлеуші антидененің титрінің көтерілгені байқалды: 7 күнен кейін олар 1:400 теңелді, 14 күнен кейін 1:1600 жетті. Комплементті байланыстырушы антидененің жоғарғы деңгейі *B. suis* 1330 жоғары болмады бірінші курс иммунизациядан кейін, 14 күн дегенде 1:640 дейін көтерілді, екінші мерзім аяқталғанда да сол деңгейде қалды. Қояндардың қан сарысуының белсенділігін КҰБР-да зерттегенде, алынған R-пішінді -*B.ovis* 10/2 және *B.melitensis* В-0286, комплементті байланыстырушы антидененің титрлері тек қана екінші курстан кейін байқалды, антигендерді енгізу: зерттеудің 21 күні олардың деңгейі бірдей болды және 1:640 жетті .

Осылайша, зерттеудің нәтижелері бруцеллезді антигенге жоғарғы серологиялық белсенді гипериммунды қан сарысуын алу үшін қояндарды иммундаудың бірінші үлгісі жарамды екенін көрсетті. Бұл қан сарсуларын жалпы мал бруцеллезін зерттегенде, ғылыми -зерттеу жұмыстарын жүргізгенде және диагностикалық дәрмектерді дайындау кезінде бақылау ретінде қолдануға болады.

Серологиялық зерттеулер қан сарысуын алудың екінші үлгі бойынша, иммундалған қояндардың өзіне тән антидене титрі қан сарысуларын серологиялық зерттегенде тестер көреткіштері бірнеше рет жоғары болды, бірінші үлгі бойынша алынған: AP антигендермен (S -пішінді) микросерия № 1 - 1: 12800, № 2 – 1:6400, № 3- 1: 3200; КҰБР-1:1280, 1:640, 1:640, тиісінше).

Антигендерге R–пішінді бруцелла: № 4 (B.ovis 10/2 штамман) және №5 (B.melitensis B-0286 штамман) комплементті байланыстырушы антидене титрі бірдей болды және 1:640 тең келді. Тәжірибе барысында, екі әртүрлі үлгіні қолдану нәтижелері, қояндарды иммундаудың бруцелланың әртүрлі штамдарымен және пішіндерін қолданғанда олардан жоғарғы белсенді бруцеллезді гипериммунды қан сарысуын алу үшін тиімді екенін көрсетті.

Иммунизацияның екінші үлгісінің артықшылығы, иммуностимулятор қолданған кезде, бұл ең алдымен жоғары белсенді қан сарысуын алуда уақыттың айтарлықтай қысқаруы ең бастысы болды-иммунизацияның бірінші үлгісінде жоғары деңгейде өзіне тән антидене бруцеллезді қан сарысуын алу 21-ден 63 күн уақыт кетсе, екінші үлгіні қолданғанда ұзақтығы бар болғаны 7 күнге теңелді. Атап айтқанда, екінші үлгіде (иммуностимулятормен), жануарларды ұзақ күтіп-бағуға, азықтандыруға кететін шығын азаяды.

Қорытынды Алынған жоғары белсенді позитивті қан сарысуы тек бақылау компоненттері ретінде ғана қолданылып қоймай серологиялық реакцияларда және бактериологиялық балау үшін қолданылады, сондай-ақ диагностикалық дәрмектерді дайындағанда оның негізі құрамының сапасын тексергенде және бруцеллез жұқтырған малдарды тексергенде ТЕГАР, ИФТ т.б әдістерге қолданылады.

Әдебиеттер

1. Димов С.К. Теория и практика управления эпизоотическим процессом бруцеллеза /Дисс. докт. вет. наук: 16.00.03.: защищена 1993: утв. 1993/ Димов С.К.-Новосибирск,1993.-326 с.

2. Игнатов П.Е. Изыскание протективных антигенов против инфекции, вызываемой B.ovis. / дис. ...канд. вет. наук: 16.00.03/ Новосибирск,1981.-145 с.

3. Студенцов К.П. Заразные болезни животных, Алма-Ата / Алма-Ата: 1975.- 243 с.

Иегерлер туралы мағлұмат:

Барамова Ш.А.- биология ғылымдарының докторы, профессор, індеттанулық мониторинг және жануарлардың бактерия және паразиттер туындататын ауруларының пайда болу тәуекелдерін бағалау бөлімінің бас ғылыми қызметкері

Түсіпқанұлы О. – індеттанулық мониторинг және жануарлардың бактерия және паразиттер туындататын ауруларының пайда болу тәуекелдерін бағалау бөлімінің ғылыми қызметкері

Аманжол Р. - індеттанулық мониторинг және жануарлардың бактерия және паразиттер туындататын ауруларының пайда болу тәуекелдерін бағалау бөлімінің аға ғылыми қызметкері

Шманова Б.- індеттанулық мониторинг және жануарлардың бактерия және паразиттер туындататын ауруларының пайда болу тәуекелдерін бағалау бөлімінің ғылыми қызметкері

Резюме

СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ ГИПЕРИММУННЫХ СЫВОРОТОК К S- И R- ФОРМАМ БРУЦЕЛЛ

Барамова Ш.А., Түсіпқанұлы О., Аманжол Р., Шманова Б.

ТОО «Казакский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Статья посвящена разработке способов получения гипериммунных сывороток с высокой активностью и специфичностью к антигенам, изготовленным из видов *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis*, *Brucella ovis*.

Ключевые слова: бруцеллез, сыворотки, антитела, антигены, культуры бруцелл

Summary

WAYS OF RECEIVING HYPERIMMUNE SERUMS FOR S-and R- FORMS OF BRUCELLAS

Baramova Sh. A., Tussipkanuly O., Amanzhol R., Shmanova B.

«Kazakh Scientific Research Veterinary Institute» LLP

Article is showed to development of receiving methods of hyperimmune serums with high activity and specificity to the antigenes which is prepared of: *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis* , *Brucella ovis*.

Keywords: Brucellosis, serums, antibodies, antigenes, cultures of brucellas

УДК 619:576. 8.078:616.981.42

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

Барамова Ш.А., Даугалиева А.Т., Адамбаева А.А., Усербаев Б.С.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приводятся результаты исследования возбудителей бруцеллеза при помощи молекулярно-генетических методов диагностики, а именно ПЦР с разработанными праймерами на виды *B. abortus* и *B. melitensis* и мультилокусного анализа варьируемого числа tandemных повторов (MLVA).

Ключевые слова: ПЦР, бруцеллы, MLVA, праймеры

Введение Бруцеллез является зоонозной инфекцией, поражающей животных и создающей угрозу для здоровья людей. Бруцеллез может вызывать репродуктивные проблемы, такие как аборт, мертворождение или бесплодие у сельскохозяйственных и диких животных [1,2]. *Brucella melitensis* является эпидемическим, а *Brucella abortus* - эндемическим заболеванием в Казахстане, которое характеризуется высоким уровнем инфицирования у людей и животных. Текущая эпизоотическая ситуация по бруцеллезу сельскохозяйственных животных является напряженной и заболевание распространено среди крупного и мелкого рогатого скота в хозяйствах всех регионов страны. Зараженные сельскохозяйственные и дикие животные служат резервуаром и источником инфекции. Инфицирование происходит в результате прямого контакта, при вдыхании инфицированных аэрозолей [3] или потребление зараженного мяса и других продуктов животного происхождения [4], например, непастеризованного молока или сыра [5]. Как следствие, Казахстан входит в десятку стран с самым высоким уровнем заболеваемости людей бруцеллезом в мире [6].

Возбудитель бруцеллеза является грамтрицательной бактерией, принадлежащей к роду *Brucella*. Род представлен десятью известными видами, четыре из которых были хорошо охарактеризованы в последнее десятилетие, а именно, *Brucella ceti*, *Brucella pinnipedialis*, *Brucella microti*

и *Brucella papionis* [7-9]. Среди всех видов *Brucella*, *Brucella melitensis*, *Brucella abortus* и *Brucella suis* имеют длительное воздействие на здоровье человека и животных [10]. Самыми распространёнными видами бруцелл, циркулирующими на территории РК, являются *B. melitensis* и *B. abortus*. В Казахстане существует Программа борьбы с бруцеллезом, которая заключается в проведении диагностических исследований всего восприимчивого скота и убой серопозитивных животных. Несмотря на эффективность данной программы, бруцеллез остается серьезной проблемой в сельском хозяйстве. Заболеваемость бруцеллезом КРС возросла с 0,3% в 2012 году до 0,6% в 2013, и оставалась на этом уровне в 2014 и 2015 годах. Согласно статистическим данным РГП «РВЛ», показатель заболеваемости бруцеллезом МРС повысился с 0,13% в 2012 году до 0,5% в 2013 году и снизился до 0,3% в 2014 году, и до 0,2% в 2015 году. Заболеваемость людей составляла 9% в 2012 году, 8.5% в 2013 году, 8.07% в 2014 году и 7.17% в 2015 году. По данным санитарно - эпидемиологической службы республики Казахстан, отмечается незначительное последовательное снижение числа заболевших бруцеллезом людей за последние годы, что коррелирует со снижением напряженности эпизоотической ситуации по бруцеллезу КРС и МРС. Однако эпидемиологическая обстановка по бруцеллезу людей всё еще сегодня остается напряженной. Это обстоятельство подтверждается показателями заболеваемости людей в 2015 году, который ещё достаточно высок (1239 чел./7,17%) .

Одной из причин широкого распространения бруцеллеза является плохо контролируемая торговля скота в Казахстане [11]. В связи с этим, более подробная информация о генотипировании циркулирующих *Brucella spp.* может оказаться полезной при разработке антибруцеллезной стратегии на фермах и может быть добавлена к специфике описаний вспышек. Данные генотипирования также будут способствовать повышению эффективности программ по ликвидации бруцеллеза [12,13]. С точки зрения диагностики бруцеллеза животных, в Казахстане в основном используют серологические тесты и бактериологические исследования. На сегодняшний день широко используются следующие серологические тесты: Роз Бенгал проба (РБП), реакция агглютинации (РА), реакция связывания комплемента (РСК), иммуноферментный анализ (ИФА). Вышеперечисленные реакции являются очень чувствительными и быстрыми методами, но иногда могут происходить ложноположительные реакции с перекрестно реагирующими бактериями, такими как *Yersinia enterocolitica* O: 9, в связи с аналогичной структурой O-цепи в гладкой части липополисахарида [14, 15]. Так в лабораторию ТОО «КазНИВИ» поступили сыворотки крови от 5 голов лошадей из ТОО «Байсерке Агро» на серологическое исследование. В результате проведения серологических тестов были получены следующие результаты: 2 головы положительно реагировали по РБП и по РА. Данных лошадей забили и из

паренхиматозных органов произвели высеив на питательные среды. В результате проведения бактериологических исследований получили рост культуры *Salmonella*. Отсорбировали выделенной культурой сыворотку. Переставили серологические реакции после отсорбции, результаты на бруцеллез получены отрицательные.

Золотым стандартом диагностики бруцеллеза животных является выделение бактерий *Brucella* на питательных средах. Тем не менее, чтобы изолировать бактерию *Brucella*, требуются большие затраты времени и ресурсов: оборудование 2-го уровня биологической защиты, высококвалифицированные технические кадры. Обращение с живыми бактериями *Brucella* сопряжено с риском лабораторной инфекции и необходимостью соблюдать строгие правила биобезопасности. Для того, чтобы избежать эти недостатки, методы, основанные на полимеразной цепной реакции (ПЦР), становятся очень полезными и в последнее время был достигнут значительный прогресс в улучшении их чувствительности, специфичности, в сочетании с простотой проведения реакции и доступной ценой. Однако диагностика бруцеллеза у животных в Казахстане по-прежнему базируется на классическом бактериологическом методе, виды *Brucella* определяются фенотипическими методами (оценка морфологических и метаболических характеристик).

Таким образом, разработка праймеров для молекулярного обнаружения и определения видов возбудителя бруцеллеза является актуальной задачей. Несмотря на то, что были разработаны несколько *Brucella* родо- и видоспецифичных ПЦР-наборов, с использованием в качестве мишени участка гена 16S рРНК, *bcs31*, *IS711*, *omp2* [15-18], в настоящее время, на территории Республики Казахстан официально зарегистрирован только набор «БРУ-КОМ» (Россия), который может идентифицировать возбудителя бруцеллеза лишь до рода. *Bruce-ladder* ПЦР-набор (Испания), который в состоянии дифференцировать *Brucella* на уровне видов [19-21], является дорогостоящим (коммерческая стоимость в Казахстане составляет 1000 \$ на 24 реакции) и не доступен региональным лабораториям.

Исследование посвящено разработке праймеров для идентификации и дифференциации *B. abortus* и *B. melitensis* при помощи классической ПЦР. Разработанная тест-система, будет доступна для казахстанских региональных лабораторий, а также будет осуществлять быстрое обнаружение возбудителя бруцеллеза видов *B. abortus* и *B. melitensis* с высокой чувствительностью и улучшенной диагностической точностью. Также целью данного исследования был анализ штаммов, выделенных из регионов с высокой распространенностью бруцеллеза. Наш подход включал анализ 16 переменных чисел тандемных повторов (VNTR) для оценки генетического разнообразия циркулирующих штаммов *Brucella* в Казахстане.

Материалы и методы: Бактериальные штаммы и образцы ДНК. В данном исследовании была использована панель из 17 эталонных штаммов, принадлежащих к *Proteobacteria*, а именно: *B. melitensis* 16 M; *B. melitensis* 565; *B. melitensis* H-12; *B. abortus* 544; *B. abortus* S 19; *B. abortus* 100; *B. abortus* 960; *B. ovis* 8; *B. ovis* 63/290; *B. suis* 1330; *B. canis* 1066; *Salmonella abortus equi* E 841; *Salmonella typhimurium* 371; *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* 25922; *Escherichia coli* 0-15, *Pasteurella multocida bovis* 216. Эталонные штаммы представлены Национальным референтным центром по ветеринарии, г. Астана. Кроме того, панель была дополнена 20 полевыми штаммами *Brucella*, выделенными от 13 голов крупного и 7 голов мелкого рогатого скота (Западно-Казахстанская область), а также 6 штаммами от трех голов крупного и трех голов мелкого рогатого скота (Алматинская область) при помощи рутинных бактериологических исследований. Все полевые штаммы были выделены от положительно реагирующих по серологическим тестам животных, у которых отбирались кусочки паренхиматозных органов (печень, селезенка), лимфатические узлы и цельная кровь. Все штаммы были определены как виды рода *Brucella* на основе классических процедур идентификации: морфология колоний, потребность к CO₂, выделение H₂S в процессе усвоения серосодержащих аминокислот, ингибиция роста основным фуксином и тионином, активности оксидазы, каталазы и уреазы, лизис фагом и агглютинация с моноспецифическими сыворотками (анти-А и анти-М), согласно международным рекомендациям [22].

Индексацию возбудителя бруцеллеза осуществлялась на основе изучения последовательности участка гена 16S рРНК универсальными праймерами 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') и 806R (5'-GGACTACCAGGGTATCTAAT-3') [23]. Секвенирование также использовалось для выявления возможного бактериального загрязнения в образцах [24]. Видовую дифференциацию возбудителя бруцеллеза осуществляли набором «ООМ-Screen- Бруцеллез-RT» фирмы Синтол (Россия) при помощи ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Общую геномную ДНК экстрагировали с помощью набора Pure Link Genomic DNA, в соответствии с инструкциями производителя (Invitrogen).

Дизайн праймеров и протокол ПЦР. Эталонные последовательности *Brucella* spp. были получены из GenBank с использованием международной базы данных RefSeq и приведены в соответствие программным обеспечением BioEdit. Дизайн праймеров был осуществлен с использованием программы Primer 3 (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/primer3/>). Вновь разработанные праймеры были в дальнейшем оптимизированы (выбор T_m, отсутствие образования створчатых петель и самоотжига) с использованием Oligonucleotide Properties Calculator (www.basic.northwestern.edu/biotools/oligocalc.html). Для каждого набора праймеров была оптимизирована температура отжига путем проведения ПЦР с помощью градиента температуры отжига в интервале от 53 до 63°C.

ПЦР проводили с использованием 10,0 мкл 2.5x реакционной смеси (Синтол, Россия), 0,5 мкл каждого праймера (5 пмоль) и 1,0 мкл ДНК в 25 мкл общего объема. Амплификацию проводили с использованием термоциклера Master cycler PCR (Eppendorf, Германия). Первоначально ПЦР-амплификацию проводили с начальной стадией денатурации при 95°C в течение 3 мин., затем 40 циклов при 63°C в течение 40 с, и 95°C в течение 15 с. Затем количество циклов уменьшили до 30, в то время как остальные параметры оставались неизменными. Амплифицированный продукт разделяли в 2% агарозном геле, полосы окрашивали бромистым этидием и визуализировали в УФ-трансиллюминаторе.

Специфичность и чувствительность ПЦР анализа. Специфичность ПЦР анализа оценивали с использованием эталонных и полевых штаммов бруцелл и другими близкородственными бактериями, включенными в панель. Чувствительность праймеров была определена путем последовательного 5-кратного разведения, начиная с 200,000 до 12.8 геномных копий эталонных штаммов *B. abortus* 100, *B. melitensis* H-12, *B. suis* 1330. Концентрацию ДНК измеряли с использованием спектрофотометра Dynamica Halo DNA master (Швейцария) для расчета количества геномных копий бруцелл. Результаты, полученные с помощью разработанных праймеров, сравнивали с результатами генотипирования участка гена 16S-rРНК [23] и ПЦР в режиме реального времени набором «OOM-Screen-Бруцеллез-RT», который был использован для дифференциации видов бруцелл до видов *abortus*, *melitensis*, *suis*, *ovis*.

Мультиплексную ПЦР и капиллярный электрофорез (СЕ) осуществляли с использованием алгоритма с незначительными изменениями [25]. Пары 16 праймеров были разделены на 6 мультиплексов. В реакционную смесь 2 x (Thermo Scientific) добавляли 10 пмоль каждого праймера и 10 нг ДНК. Капиллярное разделение проводилось с использованием ABI 3500 и стандартами размеров LIZ 1200 для мультиплексов 1, 3, 4, и LIZ 500 для мультиплексов 2, 5, 6. Размеры VNTR фрагментов были идентифицированы с помощью программного обеспечения GeneMapper 4.1. Штамм *B. abortus* 544 был использован в качестве эталонного штамма для проверки размеров фрагмента с базой данных MLVA. Данные были проанализированы программным обеспечением BioNumerics 7.5 (Applied Maths, Бельгия). Кластерный анализ был проведен на основе категорического коэффициента и метода невзвешенной пары групп с использованием средних арифметических (UPGMA). Стандартные охватывающие деревья (MST_S) были получены с использованием категорических коэффициентов. Результаты генотипирования сравнивали с генотипами в банке данных MLVA.

Результаты и обсуждение: Для разработки праймеров были выбраны две геномные области после выравнивания последовательностей всех видов бруцелл и выискивались межвидовые нуклеотидные различия. В частности, были разработаны праймеры для бактериального ABC

транспортера АТФ-связывающего белка вида *B. abortus* и сульфата АВС транспортера пермеазы белковых генов *CysW* вида *B. melitensis*. В результате проделанной работы, набор праймеров для *B. abortus* охватывает фрагмент гена размером 102 п.о., в то время как набор праймеров для *B. melitensis* амплифицирует регион размером 65 п.о. (таблица 1). Для оценки специфичности праймеров *in silico*, они были проверены с помощью программы Blast.

Таблица 1 – Видоспецифические праймеры для обнаружения *B. abortus* и *B. melitensis*

Вид микроорганизма	Праймер	Последовательность (5' - 3')	Примечание
<i>Brucella abortus</i>	Прямой Ва	5' ТССААТААТGGCGCTGTGCAAGA 3'	размер 102 п.о.
	Обратный Ва-г	5' TCGAGCCAGGCTGTGGTTTCC 3'	
<i>Brucella melitensis</i>	Прямой Вm	5' ТССАААСGCTTTCCC GGACGA 3'	размер 65 п.о.
	Обратный Вm-г	GGCGAAACGGAAAAAGGTATCTCCAC 3'	

Первоначально, ПЦР проводили с использованием 40 циклов амплификации. Этот эксперимент показал, что у выбранных наборов праймеров отсутствует специфичность, скорее всего в связи с большим количеством циклов ПЦР.

Видоспецифичная амплификация была получена в результате уменьшения количества циклов до 30 (рисунки 1, 2).

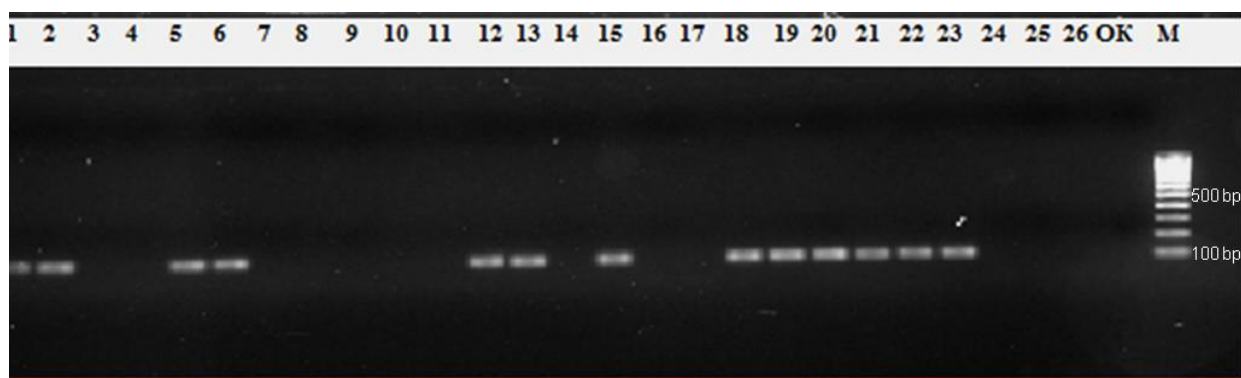


Рисунок 1 – Продукты ПЦР с использованием праймеров Ва и Ва-г в течение 30 циклов

Как следует из рисунка 1, положительные результаты были при: 1– *B. melitensis* 16 М; 2 – *B. abortus* 544; 5 – *B. abortus* 100; 6 – *B. abortus* 960; 12 – *B. abortus* 19; 13 – *B. ovis* 63/280; 15 – *B. ovis* 00134; 18 – *B. ovis* 00192; 19

– *B. ovis* 0044; 20 – *B. ovis* 0013; 21 – *B. ovis* 0011; 22 – *B. ovis* 00194; 23 – *B. ovis* 0037; Отрицательные результаты: 3 – *B. melitensis* 565; 4 – *B. melitensis* H-12; 7 – *B. ovis* 8; 8 – *B. canis* 1066; 9 – *B. suis* 1330; 10 – *Salmonella abortus-egui* E841; 11 – *E. coli* 25922; 14 – 0041; 16 – *E. coli* 0-15; 17 – *Pasteurella multocida bovis* 216; 24 – 0055; 25 – *Salmonella typhimurium* 371; 26 – *Salmonella enteritidis*; ОК – отрицательный контроль; М – 100 п.о. ДНК маркер Gene Ruler.

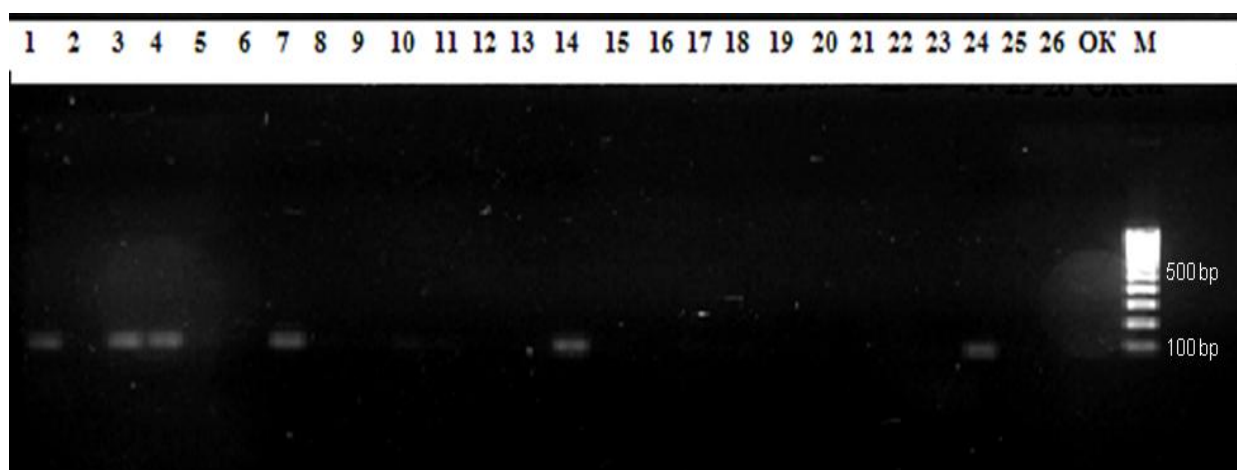


Рисунок 2 – Продукты ПЦР с использованием праймеров Vm и Vm-г в течение 30 циклов

Как видно из рисунка 2, положительные результаты были при: 1 – *B. melitensis* 16 М; 3 – *B. melitensis* 565; 4 – *B. melitensis* H-12; 7 – *B. ovis* 8; 14 – 0041; 24 – 0055; Отрицательные результаты: 2 – *B. abortus* 544; 5 – *B. abortus* 100; 6 – *B. abortus* 960; 10 – *Salmonella abortus-egui* E841; 11 – *E. coli* 25922; 12 – *B. abortus* 19; 13 – *B. ovis* 63/280; 14 – 0041; 15 – 00134; 16 – *E. coli* 0-15; 17 – *Pasteurella multocida bovis* 216; 18 – 00192; 19 – 0044; 20 – 0013; 21 – 0011; 22 – 00194; 9 – *B. suis* 1330; 23 – 0037; 25 – *Salmonella typhimurium* 371; 26 – *Salmonella enteritidis*; ОК – отрицательный контроль; М – 100 п.о. ДНК маркер Gene Ruler.

Как видно из рисунков 1 и 2, отобранные праймеры способны обеспечить видоспецифическую амплификацию образцов ДНК бруцелл при использовании подходящих условий ПЦР. При использовании оптимизированных условий ПЦР, праймеры показали специфичные положительные реакции только с образцами *B. abortus* и *B. melitensis*, включёнными в панель (эталонные штаммы и ткани/кровь), и отрицательные реакции на другие виды бруцелл и близкородственные бактерии.

Результаты сравнивали с результатами, полученными на тех же образцах, с использованием ПЦР-РВ набором «ООМ-Screen- Бруцеллез-RT» (таблица 2). Соответствие результатов между этими двумя методами подтвердили точность видоспецифичных праймеров для ПЦР.

Таблица 2 – Результаты применения разработанных праймеров (+/-) и набора «ООМ-Screen- Бруцеллез-RT» (Ct) референтных и эпизоотических штаммов

Образец	<i>B. abortus</i> (Ct)	<i>B. melitensis</i> (Ct)
<i>B. abortus</i> 544	+ (16,2)	-
<i>B. abortus</i> 100	+ (16,4)	-
<i>B. abortus</i> 960	+ (16,9)	-
<i>B. abortus</i> 19	+ (16,2)	-
<i>B. melitensis</i> 16M	+ (16,4)	+ (19,2)
<i>B. melitensis</i> 565	-	+ (17,1)
<i>B. melitensis</i> H-12	-	+ (16,7)
<i>B. canis</i> 1066	-	-
<i>B. suis</i> 1330	-	-
<i>B. ovis</i> 8	-	+ (16,8)
<i>B. ovis</i> 63/290	+ (16,4)	-
<i>Salmonella abortus-egui</i> E841	-	-
<i>E. coli</i> 25922	-	-
<i>E. coli</i> 0-15	-	-
<i>Pasteurella multocida bovis</i> 216	-	-
0011	+ (16,9)	-
0044	+ (16,4)	-
0013	+ (17,1)	-
0041	-	+ (16,2)
0037	+ (19,2)	-
00055	-	+ (16,4)
00134	+ (16,8)	-
<i>Salmonella typhimurium</i> 371	-	-
<i>Salmonella enteritidis</i>	-	-

Чувствительность разработанных праймеров оценивали с помощью 5-кратного серийного разведения геномной ДНК бруцелл в пределах от 200000 до 12,8 геномных копий, выделенной из эталонных штаммов: *B. abortus* 100, *B. melitensis* H-12, *B. suis* 1330 (рисунок 3).

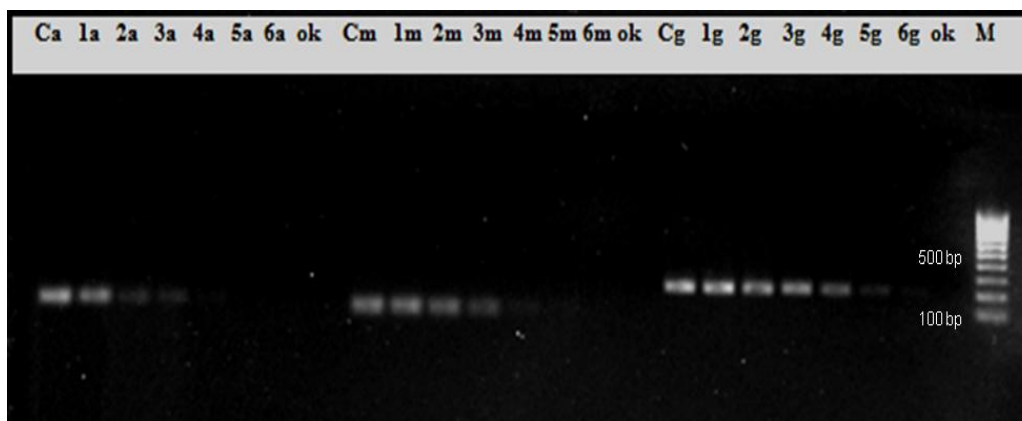


Рисунок 3 – Чувствительность праймеров Va и Va-г, и Vm Vm-г

Как следует из рисунка 3, Ca – концентрированная *B. abortus* 200,000 копий; 1a – *B. abortus* 40,000 копий; 2a – *B. abortus* 8,000 копий; 3a – *B. abortus* 1,600 копий; 4a – *B. abortus* 320 копий; 5a – *B. abortus* 64 копий; 6a – *B. abortus* 12 копий; Cm – концентрированная *B. melitensis* 200,000 копий; 1m – *B. melitensis* 40,000 копий; 2m – *B. melitensis* 8,000 копий; 3m – *B. melitensis* 1,600 копий; 4m – *B. melitensis* 320 копий; 5m – *B. melitensis* 64 копий; 6m – *B. melitensis* 12 копий; Cg – концентрированная *Brucella* 200,000 копий; 1g – *Brucella* 40,000 копий; 2g – *Brucella* 8,000 копий; 3g – *Brucella* 1,600 копий; 4g – *Brucella* 320 копий; 5g – *Brucella* 64 копий; 6g – *Brucella* 12 копий; ОК – отрицательный контроль; М – 100 п.о. ДНК маркер Gene Ruler

Как видно из рисунка 3, чувствительность разработанных видоспецифичных праймеров Va и Va-г, Vm и Vm-г определена как $1,6 \times 10^3$ геномных копий. Чувствительность разработанных родовых праймеров Vr-f и Vr-г определена как 64 геномные копии.

Изоляты *B. melitensis* были выделены от овец из 2 населенных пунктов, расположенных в ЗКО (с/о Коскуль Каратобинского р-на и с/о Бударинск Акжаикского р-на). Использование MLVA-16 для анализа штаммов дали 3-ий генотип, который генетически схож с распространенными в Южных регионах Казахстана генотипами (рисунки 4 и 5).

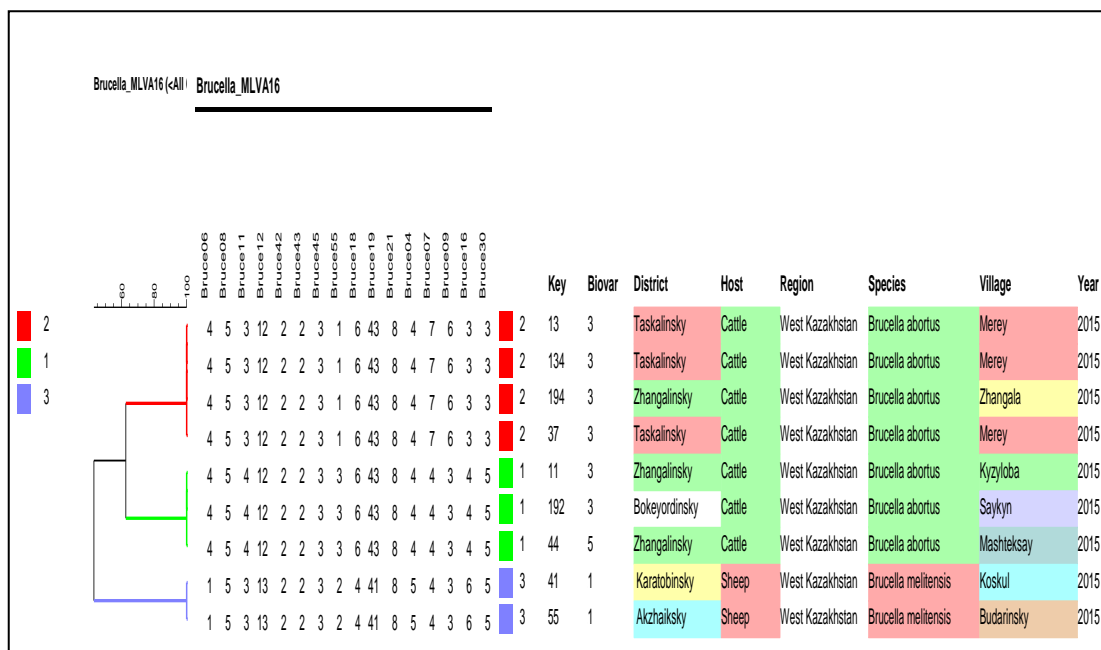


Рисунок 4- UPGMA кластерный анализ

7 штаммов *B. abortus* выделены от КРС в 5 районах ЗКО (с/о Жангала, с/о Кызылоба, с/о Маштексай Жангалинского р-на, 3 штамма с/о Мерей Таскалинского р-на, с/о Сайхин Бокейординского р-на). С помощью MLVA-16, штаммы сгруппированы в 2 генотипа (рисунок 4). Штаммы, сгруппированные в один кластер, выделены от КРС, находящихся в соседних районах, кроме штамма 194 с с/о Жангала Жангалинского р-на, который оказался в одном кластере со штаммами с с/о Мерей Таскалинского р-на. Между Таскалинским и Жангалинским р-ном, находится Казталовский р-н.

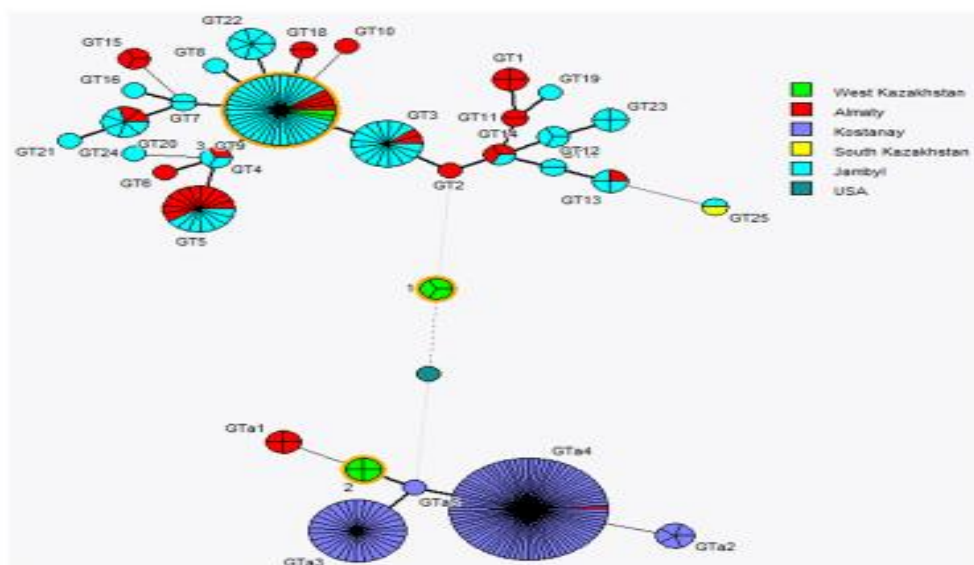


Рисунок 5- Дендрограмма по районам

На рисунке 5 видно, что генотипы 1 и 2 штаммов *B. abortus*, генетически отличаются от штаммов, циркулирующих на территории Казахстана. Таким образом, исследуемые штаммы оказались уникальными.

Заключение: Праймеры, разработанные для проведения классической ПЦР, показали видовую специфичность, а именно, отсутствие перекрестных реакций с различными видами *Brucella* и близкородственными бактериями. Два набора праймеров для выявления видов *B. abortus* и *B. melitensis* имеют предел обнаружения, равный $1,6 \times 10^3$ геномных копий. Таким образом, улучшенный метод ПЦР с разработанными праймерами может быть ценным инструментом для быстрого обнаружения и дифференциации видов *B. abortus* и *B. melitensis*, обеспечивающий точность, чувствительность и специфичность при диагностике бруцеллеза животных.

При исследовании патологического материала от больных животных, классический ПЦР-анализ с разработанными праймерами показал высокочувствительные и специфичные результаты, сопоставимые с выделением культуры бактериологическим методом. Так как возбудитель бруцеллеза является внутриклеточной бактерией, а количество бактерий в образцах, как правило, низкое, высокочувствительный метод диагностики необходим для точного дифференциального диагноза [26]. Следовательно, усовершенствованный метод ПЦР может быть использован для обнаружения возбудителя бруцеллеза у животных, инфицированных широко распространенными видами *B. abortus* и *B. melitensis*, из-за его высокой чувствительности. Усовершенствованный ПЦР анализ может быть эффективным методом диагностики для индикации и дифференциации *B. abortus* и *B. melitensis* у естественно зараженных животных в полевых условиях. Данный метод должен быть доступен для региональных лабораторий в Казахстане, в качестве быстрого и экономически эффективного диагностического инструмента, для контроля и надзора вспышек бруцеллеза, борьбы с бруцеллезом животных и, следовательно, с бруцеллезом людей.

В заключение следует отметить, что быстрая идентификация и дифференциация видов бруцелл, циркулирующих в стране, поможет местным органам власти в процессе принятия решений и реализации наиболее эффективных стратегий по борьбе со вспышками бруцеллеза. Усовершенствованный при помощи разработанных праймеров, метод ПЦР, является первым шагом на пути к созданию новой тест-системы для выявления видов *B. melitensis* и *B. abortus*, с целью стандартизации молекулярной диагностики бруцеллеза животных в Казахстане и других странах Центральной Азии.

В результате генотипирования было установлено, что штаммы *B. melitensis* тесно связаны между собой и с другими казахстанскими штаммами. Отсутствие генетического разнообразия в популяции *B. melitensis* предполагает происхождение от общего предка в Казахстане.

Генотипы штаммов *B. abortus* являются уникальными, так как впервые обнаружены на территории Казахстана. Наблюдаемое распределение может быть результатом неконтролируемой торговли скота и плохо организованным ветеринарным контролем. Исследование генетического разнообразия бруцелл необходимо для отслеживания вспышек на заключительных этапах программы по ликвидации бруцеллеза, или отслеживания источников инфицирования человека и животных в зонах благополучия Казахстана по бруцеллезу КРС (СКО, Мангистауская, ЮКО, Кызылординская, Жамбылская, Алматинская) и по бруцеллезу МРС (СКО, Мангистауская, ЮКО, Кызылординская, Карагандинская, Костанайская, Акмолинская, Павлодарская).

Библиографический список

1. Winchell J.M., Wolff B.J., Tiller R., Bowen M.D., Hoffmaster A.R. Rapid identification and discrimination of *Brucella* isolates by use of real-time PCR and high-resolution melt analysis // J. Clin. Microbiol. – 2010. – Vol. 48. – P. 697–702.
2. Gopaul K.K., Sells J., Lee R., Beckstrom-Sternberg S.M., Foster J.T., et al. Development and assessment of multiplex high resolution melting assay as a tool for rapid single-tube identification of five *Brucella* species // BMC. – 2014. – Res Notes, № 7. – P. 903.
3. Taleski V., Zerva L., Kantardjiev T., Cvetnic Z., Erski-Biljic M., Nikolovski B., Bosnjakovski J., Katalinic-Jankovic V., Panteliadou A., Stojkoski S., and Kirandziski T. An overview of the epidemiology and epizootology of brucellosis in selected countries of Central and Southeast Europe // Vet. Microbiol. – 2002. – Vol. 90. – P. 147–155.
4. Ravanel N., Gestin B., Maurin M. In vitro selection of fluoroquinolone resistance in *Brucella melitensis* // Int. J. Antimicrob. Agents. – 2009. Vol. 34. P. 76–81.
5. Al Dahouk S., Sprague L.D., Neubauer H. (2013). New developments in the diagnostic procedures for zoonotic brucellosis in humans. *Rev. Sci. Tech.* 32: 177–188.
6. Рахмани А.С. Эпизоотическая обстановка по бруцеллезу в Афганистане и республике Казахстан //Материалы Республиканской научно- теоретической конференции «Сейфуллинские чтения – 9: новый вектор развития высшего образования и науки» посвященная дню Первого Президента Республики Казахстан. – 2013. – Т.1, ч.2 – С. 293-294
7. Foster G., Osterman B.S., Godfroid J., Jacques I., Cloeckaert A. *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2007. – № 57. P. 2688–2693.
8. Scholz H.C., Hubalek Z., Sedlacek I., Vergnaud G., Tomaso H., Al Dahouk S., Melzer F., Kampfer P., Neubauer H., Cloeckaert A., Maquart M., Zygmunt

- M.S., Whatmore A.M., Falsen E., Bahn P., Gollner C., Pfeffer M., Huber B., Busse H.J., Nockler K. *Brucella microti* sp. nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis* // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* – 2008. – Vol. 58. P. 375–382.
9. Whatmore A.M., Davison N., Cloeckaert A., Al Dahouk S., Zygmunt M.S., Brew S.D., Perrett L.L., Koylass M.S., Vergnaud G., Quance C., Scholz H.C., Dick Jr., Hubbard E.J., Schlabritz-Loutsevitch N.E. *Brucella papionis* sp. nov., isolated from baboons (*Papio* spp.) // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* – 2014. – Vol. 64. P. 4120–4128.
 10. Godfroid J., Scholz H.C., Barbier T., Nicolas C., Wattiau P., Fretin D., Whatmore A.M., Cloeckaert A., Blasco J.M., Moriyon I., Saegerman C., Muma J.B., Al Dahouk S., Neubauer H., Letesson J.J. // *Brucellosis at the animal ecosystem, human interface at the beginning of the 21st century* // *Prev. Vet. Med.* – 2011. – Vol. 102. P. 118–131.
 11. Syzdykov M.S., Kuznetsov, A.N., Kazakov, S.V., Daulbayeva, S.F., Duyse-nova, A.K., Berezovskiy, D.V., Zubova, N.V., 2014. Analysis of the spatial and temporal distribution of human and animal brucellosis using Geographic information technology. *Hygiene, Epidemiol, Immunobiol.*-72, 24-26.
 12. De Santis, R., Ancora, M., De Massis, F., Ciammaruconi, A., Zilli, K., Di Giannatale, E., Pittiglio, V., Fillo, S., Lista, F., 2013. Molecular strain typing of *Brucella abortus* isolates from Italy by two VNTR allele-sizing technologies. *Mol. Biotechnol.* 55, 101–110.
 13. Garofolo, G., Di Giannatale, E., De Massis, F., Zilli, K., Ancora, M., Camma, C., Calistri, P., Foster, J.T., 2013a. Investigating genetic diversity of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* in Italy with MLVA-16. *Infect. Genet. Evol.* 19, 59–70.
 14. Bounaadja L., Albert D., Chénais B., Hénault S., Zygmunt M.S., et al. Real-time PCR for identification of *Brucella* spp.: a comparative study of IS71, bcbp31 and per target genes // *Vet. Microbiol.* – 2009. – Vol. 137. P. 156–164.
 15. Hinić V., Brodard I., Thomann A., Holub M., Miserez R., et al. IS711-based real-time PCR assay as a tool for detection of *Brucella* spp. in wild boars and comparison with bacterial isolation and serology // *BMC. Vet. Res.* – 2009. – Vol. 5. P 22.
 16. Ficht T.A., Bearden S.W., Sowa B.A., Marquis H. Genetic variation at the omp2 porin locus of the brucellae: species-specific markers // *Mol. Microbiol.* – 1990. – Vol. 4. P. 1135–1142.
 17. Cloeckaert A., Verger J.M., Grayon M., Grépinet O. Restriction site polymorphism of the genes encoding the major 25 kDa and 36 kDa outer-membrane proteins of *Brucella* // *Microbiology.* – 1995. – Vol. 141. P. 2111–2121.
 18. Bricker B.J., Ewalt D.R., Olsen S.C., Jensen A.E. Evaluation of the *Brucella abortus* species-specific polymerase chain reaction assay, an improved version of the *Brucella* AMOS polymerase chain reaction assay for cattle // *J. Vet. Diagn. Invest.* – 2003. – Vol. 15. P. 374–378.

19. López-Goñi I., García-Yoldi D., Marín C.M., de Miguel M.J., Muñoz P.M., et al. Evaluation of a multiplex PCR assay (Bruce-ladder) for molecular typing of all *Brucella* species, including the vaccine strains // J. Clin. Microbiol. – 2008. – Vol. 46. P. 3484–3487.
20. Mayer-Scholl A., Draeger A., Göllner C., Scholz H.C., Nöckler K. Advancement of a multiplex PCR for the differentiation of all currently described *Brucella* species // J. Microbiol. Methods. – 2010. – Vol. 80. P. 112–114.
21. Kang S.I., Her M., Kim J.W., Kim J.Y., Ko K.Y., et al. Advanced multiplex PCR assay for differentiation of *Brucella* species // Appl. Environ. Microbiol. – 2011. – 77. P. 6726-6728.
22. OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 7th ed. // World Organisation for Animal Health (OIE). – 2012. – Paris.
23. Edwards U., Rogall T., Blocker H., Emde M., Bottger E.C. Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes: characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA // *Nucleic. Acids Res.* – 1989. – Vol. 17. P. 7843–7853.
24. De Vegas E.Z., Nieves B., Araque M., Velasco E., Ruiz J., Vila J. Outbreak of infection with *Acinetobacter* strain RUH 1139 in an intensive care unit // *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* – 2006. – Vol. 27. P. 397 – 403.
25. Garofolo, G., Ancora, M., Di Giannatale, E., 2013b. MLVA-16 loci panel on *Brucella spp.* using multiplex PCR and multicolor capillary electrophoresis. *J. Microbiol. Methods* 92, 103–107.
26. Surucuoglu S., El S., Ural S., Gazi H., Kurutepe S., Taskiran P. and Yurtsever S. G. Evaluation of real-time PCR method for rapid diagnosis of brucellosis with different clinical manifestations // *Pol. J. Microbiol.* – 2009. – Vol. 58. P. 15-19.

Сведения об авторах:

Барамова Ш.А. - главный научный сотрудник отдела мониторинга и оценки рисков бактериальных и паразитарных болезней животных

Даугалиева А.Т. - заведующая лаборатории молекулярной генетики микроорганизмов, биохимии и иммунологии, кандидат ветеринарных наук

Адамбаева А.А. - научный сотрудник отдела мониторинга и оценки рисков бактериальных и паразитарных болезней животных

Усербаев Б.С. - старший лаборант лаборатории молекулярной генетики микроорганизмов, биохимии и иммунологии

Түйін

ЖАНУАРЛАР БРУЦЕЛЛЕЗІН САРАПТАУДЫҢ МОЛЕКУЛАЛЫҚ – ГЕНЕТИКАЛЫҚ ӘДІСТЕРІ

Барамова Ш.А., Даугалиева А.Т., Адамбаева А.А., Усербаев Б.С.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Бұл мақалада бруцеллез қоздырғышын молекулалы – генетикалық әдістермен сараптау, ПТР сонымен қатар өңделген *Br.abortus* және *Br.melitensis* праймерлері және тандем қайталаудың (MLVA) айнымалы санының мультилокусты талдауына зерттеу жұмыстарының нәтижелері келтірілген.

Кілттік сөздер: ПТР, бруцеллалар, MLVA, праймерлер

Summary

MOLECULAR GENETIC METHODS OF DIAGNOSIS OF ANIMALS' BRUCELLOSIS

Baramova Sh.F., Daugaliyeva A.T., Adambaeva A.A., Usserbayev B.

LLP «Kazakh Scientific Research Veterinary Institute»

The article presents the results of a study of brucellosis pathogen using molecular-genetic diagnostic methods, namely, PCR with designed primers for the species of *Br. abortus* and *Br. melitensis* and multilocus analysis of the variable number of tandem repeats (MLVA).

Keywords: PCR, brucellosis, MLVA, primers

УДК 619:616.576.89 (574)

ЛЕЙКОЗ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ЕГО ПРОФИЛАКТИКИ И ОЗДОРОВЛЕНИЯ

Бахтаунов Ю.Х., Маманова С.Б., Бижанов А.Б., Кутумбетов Л.Б.,
Каратаев Б.Ш., Карабасова А.С., Маукиш А.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»
e-mail: kaznivialmaty@mail.ru

Резюме В результате исследования было установлено, что из 1126 исследованных проб крови крупного рогатого скота, взятых из 69 сельских округов 14 районов и 3 городов Алматинской области, инфицированность вирусом лейкоза до 10% выявлена в 8 сельских округах 6 районов и в 2 городах, от 10 до 30% в 12 сельских округах 10 районов и в 1 городе, более 30% в 15 сельских округах 8 районов. В зависимости от

степени инфицированности животных вирусом лейкоза разработаны и предложены мероприятия по оздоровлению от этой болезни, которые приведены в статье.

Ключевые слова: лейкоз, мониторинг, серология, инфицированность, оздоровление

Лейкоз крупного рогатого скота-хроническое заболевание опухолевой природы, этиологическим агентом которого является вирус лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС). Болезнь наносит значительный экономический ущерб сельскохозяйственным предприятиям различных форм собственности, в том числе индивидуальным, который складывается из недополучения молока и приплода вследствие преждевременной выбраковки больных лейкозом коров, убоя быков-производителей, сдачи на мясо племенного молодняка от больных коров-матерей, выбраковки инфицированного ВЛКРС молодняка, а также затрат на проведение ветеринарно-санитарных и зоотехнических мероприятий в процессе оздоровления неблагополучных по лейкозу стад [1-4].

Результаты эпизоотологических, серологических и диагностических исследований показывают, что вирус лейкоза широко распространен на всех континентах и во всех странах мира. Так, по информации NAHMS (National Animal Health Monitoring System) об эпидемиологической ситуации в Восточной Европе, эта болезнь имеет место в Болгарии, Хорватии, Эстонии, Латвии, Польше, Румынии, Украине. Согласно докладу Департамента ветеринарии МСХ РФ, в Российской Федерации на 2012 год числится неблагополучных по лейкозу 2278 пунктов. Уровень инфицированности вирусом лейкоза животных составляет 10-15%, уровень больных-3-4% [5,6].

В Казахстане лейкоз распространен практически повсеместно, в 13 из 14 областей. По данным ветеринарной отчетности и наших исследований в Республики Казахстан уровень инфицированности вирусом лейкоза КРС в 2011 году в среднем составил 2,83%, в 2012 г.-3,5%, 2013 г.-7,12%, и в 2014 г.-10,8% при исследовании 10,2% имеющегося поголовья. Наиболее широкое распространение заболевание получило в Акмолинской -4,4%, Жамбылской-10,6%, Западно-Казахстанской-5,4%, Костанайской-3,8%, Павлодарской-2,2% и в Северно-Казахстанской-7,0% областях Республики Казахстан [7]. На этом фоне разработка и внедрение эффективных методов борьбы с лейкозом КРС приобретает особую актуальность. В связи с изложенным, целью наших исследований явилось выяснение достоверное эпизоотическое состояние по лейкозу КРС в сельскохозяйственных предприятиях всех форм собственности, в том числе индивидуальных хозяйствах, Алматинской области и разработать научно обоснованной системы оздоровления от этой болезни.

Материалы и методы исследований В качестве материала для исследований использованы образцы крови КРС, отобранные для исследования на молочно-товарных фермах различных хозяйств Алматинской области. Так как, основными утвержденными методами диагностики лейкоза остаются серологические, мониторинговые исследования проведены с помощью реакции иммунной диффузии (РИД) в агаровом геле и иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческих диагностических наборов, Российского производства. Постановку и учет результатов реакций осуществляли согласно наставлениям, прилагаемым к набору. Эпизоотологические и диагностические исследования на лейкоз проводили в соответствии с общепринятыми методиками.

Результаты исследований. Для оценки степени распространенности вируса лейкоза КРС на территории Алматинской области нами проведен отбор проб крови КРС из различных сельских округов и районных образований области. Образцы сыворотки крови исследованы на наличие антител к вирусу лейкоза с помощью РИД и ИФА. Объем собранных образцов сыворотки крови КРС по сельским округам, количество районов и результаты серологического обследования КРС за 2015 год приведены в таблице 1.

Таблица 1-Количество проб крови собранных от крупного рогатого скота Алматинской области и результаты их исследования на лейкоз

Наименование и кол-во пунктов по сбору проб			Собрано и исследовано в РИД	Выявлено инфицированных	%	Исследовано в ИФА	Выявлено инфицированных	%
районы	с/о	г.						
Аксууский	5		85	2	2,3	85	2	2,3
Алакольский	6		194	29	14,9	194	32	16,5
Ескельдинский	6		60	6	10,0	60	6	10,0
Караталский	4		55	14	25,4	55	14	25,4
Кербулакский	5		57	11	19,3	57	14	24,6
Коксууский	5		85	9	10,6	85	12	14,1
Панфиловский	6		60	8	13,3	60	5	8,3
Саркандский	5		57	0	0	57	0	0
Уйгурский	5		59	4	6,8	59	4	6,8
Илийский	3		36	13	36,1	н/и	н/и	н/и
Балхашский	5		60	27	45,0	н/и	н/и	н/и
Райымбекский	5		60	0	0	н/и	н/и	н/и
Енбекшиказахский	5		60	15	25,0	н/и	н/и	н/и

Карасайский	4		88	1	1,1	88	1	1,1	
Талдыкурган		1	55	1	1,8	55	1	1,8	
Текели		1	55	8	14,5	55	8	14,5	
Уштобе		1	11	1	9,0	11	1	9,0	
Итого	14	69	3	1126	144	12,8	823	99	12,0
Примечание: Условные обозначения: с/о - сельский округ; г - город;									

Из данных приведенной таблицы, видно, что для серологических исследований из 69 сельских округов 14 района и 3 городов Алматинской области получены 1126 проб крови КРС. При исследовании их сыворотки в РИД выявлены 144 головы серопозитивных животных, то есть которые находились в стадии бессимптомной инфекции, вызванной ВЛКРС. Следовательно, 12,8% животных, от числа исследованных были заражены онкорнавирусом лейкоза. При исследовании методом ИФА 823 голов КРС, выявлено 99 зараженных ВЛКРС животных или 12,0%. Уровень инфицированности по РИД по районам колебалась от 1,1 до 45,0%, а по ИФА-от 1,1 до 25,4%. При сопоставлении показателей инфицированности КРС в РИД и ИФА значимых отклонений не наблюдали. Наибольшее количество животных, положительно реагирующих на ВЛКРС к числу исследованных в РИД было выявлено в Алакольском 14,9%, Караталском-25,4%, Кербулакском -19,3%, Илийском-36,1%, Балхашском-45,0% и Енбекшиказахском-25,0%, а по результатам ИФА в Алакольском- 16,5%, Караталском- 25,4%, Кербулакском -24,6%, Коксуском-14,1% районах области и г. Текели-14,5%. Из 14 районов области Саркандский и Райымбекский были благополучными по лейкозу. Относительно невысокий уровень инфицированности вирусом лейкоза животных установлено в Аксусском (2,1%), Карасайском (1,1%) районах и в г. Талдыкурган (1,8%). Такие животные представляют серьезную опасность как источники распространения вируса лейкоза.

Для анализа распространенности ВЛКРС по сельским округам и эффективности проводимых противолейкозных мероприятий в хозяйствах Алматинской области собраны пробы крови КРС и проведены серологические исследования на лейкоз. Данные серологического тестирования приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Объем и результаты исследований КРС на лейкоз по Алматинской области

Наименования районов, с/о, городов	Исследовано в ТОО «КазНИВИ» за 2015 г.					
	Всего в РИД	РИД+	%	Всего в ИФА	ИФА+	%

1	5	6	7	8	9	10
1. Аксуский район:						
Егинсууский с/о	13	0	0	13	0	0
Кзылагашский с/о	16	1	6,2	16	1	6,2
Жаналыкский с/о	13	0	0	13	0	0
Аксуский с/о	30	0	0	30	0	0
Карасуский с/о	13	1	7,7	13	1	1,7
Итого:	140	3	2,1	140	3	2,1
2. Алаколский район:						
Ушарал с/о	11	7	63,6	11	7	63,6
Жагатал с/о	11	3	27,2	11	3	27,2
Жайпак с/о	11	7	63,6	11	7	63,6
Камыскала с/о	11	9	81,8	11	10	90,9
Теректи с/о	10	3	27,2	10	5	45,4
ТОО Аркарлы	140	0	0	140	0	0
Итого:	194	44	20,2	194	47	21,6
3. Ескелдинский район						
Алдабергенский с/о	10	0	0	10	0	0
Бахтыбайский с/о	10	3	30	10	3	30
Карабулакский с/о	15	2	13,3	15	2	13,3
Кайнарлыский с/о	10	1	10	10	1	10
Жалгызгаашский с/о КХ «Бимуратов»	15	0	0	15	0	0
Итого:	70	6	8,5	60	6	8,5
4. Караталский район						
Бастобе с/о	11	6	54,5	11	6	54,5
Кызылбалыкский с/о	11	3	27,2	11	3	27,2
Балпыкский с/о	11	2	18,1	11	2	18,1
Жолбарысский с/о	11	2	18,1	11	2	18,1
Г. Уштобе	11	1	9	11	1	9
Итого:	55	14	25,4	55	14	25,4
5. Кербулакский район						
Карашокинский с/о	12	1	8,3	12	1	8,3
Басшинский с/о	10	4	40	10	4	40
Жайнакский с/о	10	1	10	10	1	10
Коксуйский с/о	10	0	0	10	0	0
Талдыбулакский с/о	15	6	40	15	8	53,3
Итого:	57	11	19,3	57	14	24,6
6. Коксуйский район						
Алгабаский с/о	15	1	6,6	15	1	6,6
Лабаский с/о	20	5	25	20	6	30
Муканшынский с/о	20	2	10	20	4	20
Мусабекский с/о	15	1	6,6	15	1	6,6
Енбекшинский с/о	15	0	0	15	0	0
Итого:	85	9	10,6	85	12	14,1
7. Панфиловский район						

Айдарлинский с/о	10	6	60	10	2	20
Баскуншинский с/о	10	0	0	10	0	0
Сарыбелский с/о	10	0	0	10	0	0
Ушаральский с/о	10	1	10	10	1	10
Жаркентский с/о	10	0	0	10	1	10
Коньроленский с/о	10	1	10	10	1	10
Итого:	60	8	13,3	60	5	8,3
8. Сарканский район						
Койлыкский с/о	9	0	0	9	0	0
Сарканский с/о	10	0	0	10	0	0
Лепсиский с/о	20	0	0	20	0	0
Аманкелдинский с/о	9	0	0	9	0	0
Черкасский с/о	9	0	0	9	0	0
Итого:	57	0	0	57	0	0
9. Уйгурский район						
Чонжинский с/о	12	0	0	12	0	0
Дардамтынский с/о	12	1	8,3	12	1	8,3
Кетпенский с/о	12	0	0	12	0	0
Шарынский с/о	12	3	25	12	3	25
Калжатский с/о	11	0	0	11	0	0
Итого:	59	4	6,8	59	4	6,8
10. г. Талдыкурган	55	1	1,8	55	1	1,8
11. г. Текели	55	8	14,5	55	8	14,5
Итого:	110	9	8,2	110	9	8,2
12. Илийский район						
Караойский с/о	12	0	0	12	н/и	н/и
ТОО «Меж Агро»	12	9	75	12	н/и	н/и
Ашибулак	12	4	33,3	12	н/и	н/и
Итого:	36	13	36.1	36	н/и	н/и
13. Балхашский район					н/и	н/и
Акколский с/о	12	12	100	12	н/и	н/и
Миялы	12	8	66,7	12	н/и	н/и
Бирлик	12	2	16.7	12	н/и	н/и
Баканас	12	5	41.7	12	н/и	н/и
Бакбакты	12	0	0	12	н/и	н/и
Итого:	60	27	45	60	н/и	н/и
14. Райымбекский район					н/и	н/и
Шырганак	12	0	0	12	н/и	н/и
Тасашы	12	0	0	12	н/и	н/и
Тегистык	12	0	0	12	н/и	н/и
Алгабас	12	0	0	12	н/и	н/и
Карасаз	12	0	0	12	н/и	н/и
Итого:	60	0	0	60	н/и	н/и
15. Енбекшиказахский район					н/и	н/и
ТОО «Адал Агро»	12	0	0	12	н/и	н/и
Саймасай	12	0	0	12	н/и	н/и
Жанашар	12	6	50	12	н/и	н/и

Ашибулак	12	8	66,7	12	н/и	н/и
Каражота	12	1	8,3	12	н/и	н/и
Итого:	60	15	41,7	60	н/и	н/и
16. Карасайский район						
Райымбекский	11	0	0	11	0	0
Каскелен	11	0	0	11	0	0
Елтай	11	0	0	11	0	0
Иргели ТОО «Медеу коммерс»	55	1	1,8	55	1	1,8
Итого:	88	1	1,1	88	1	1,1
Всего по области:	1 126	144	12,8	823	99	12,0

Отмечены большие колебания степени инфицированности животных в различных сельских округах. Из 69 исследованных сельских округов лейкоз не диагностирован в 27, а в остальных уровень инфицированности колебалась от 1,0 до 100%. Свободны от лейкоза 2 района- Сарканский и Райымбекский. Относительно невысокий уровень инфицированности вирусом лейкоза поголовья (до 10%) установлено в следующих 8 сельских округах 6 районов и в 2 городах: Кзылагашский (6,2%), Карасуский (7,7%) Аксуского района; Карашокинский (8,3%) Кербулакского района; Алгабаский (6,6%) и Мусабекский (6,6%) Коксуского района; Дардамтынский (8,3%) Уйгурского района; Ашибулак (8,3%) Енбекшиказахского района; Ыргелы ТОО «Медеу коммерс» (1,8%) Карасайского района и в городах Уштобе (9,0%) и Тальдыкурган (1,8%). Тревожная эпизоотическая ситуация, при которой регистрируются от 10 до 30% серопозитивных животных отмечается в ниже приведенных 12 сельских округах 10 районов, в частности, Жагатал (27,2%) и Теректи (27,2%) Алаколского района; Карабулакский (13,3%) и Кайнарлыский (10,0%) Ескелдинского района; Кызылбалыкский (27,2%), Балпыкский (18,1) и Жолбарысский (18,1) Караталского района; Жайнакский (10,0%) Кербулакского района; Лабаский (25,0) и Муканшынский (10,0%) Коксуского района; Ушаральский (10,0%) и Кобыроленский (10,0%) Панфиловского района; Шарынский (25,0%) Уйгурского района; Бирлик (16,7%) Балхашского района и в г. Текели (14,5%). Наиболее напряженная эпизоотическая обстановка сложилась в 15 следующих сельских округах 8 районов: Ушарал (63,6%), Жайпак (63,6), Камыскала (81,8) Алаколского района; Бактыбайский (30,0%) Ескелдинского района; Бастобе (54,5) Караталского района; Басшинский (40,0%) и Тальдыбулакский (40,0%) Кербулакского района; Айдарлинский (60,0%) Панфиловского района; ТОО «МежАгро» (75,0%) и Ашибулак (33,3%) Илийского района; Акколский (100,0%), Миялы (66,7%) и Баканас (41,7%) Балхашского района; Саймасай (50,0%) и Жанашар (66,7%) Енбекшиказахского района области, где в стадах зараженных вирусом лейкоза животных выделяется 30 и более процентов.

Таким образом, изучение эпизоотической ситуации показало, что широкому и неравномерному распространению болезни во всех категориях хозяйств способствуют совместное содержание и выпас здоровых и зараженных животных, выпаивание телятам молока от зараженных коров, осеменение коров спермой от зараженных или больных лейкозом быков-производителей, нарушение правил при проведении лечебно-профилактических и зоотехнических мероприятий, неполное, часто выборочное и эпизодические диагностические исследования маточного поголовья, длительная систематическая передержка в общих стадах инфицированных и больных лейкозом животных, способствующие контактному перезаражению животных и формальный подход к оздоровительным мероприятиям.

Исходя из установленной фактической эпизоотической ситуации для оздоровления мероприятия хозяйств нами предлагаются следующие комплексные мероприятия в зависимости от уровня инфицированности: где выявлено до 10 % инфицированных вирусом лейкоза животных от общего поголовья стада (при численности скота до 100 голов), проводить единовременной сдачи на мясо всех инфицированных животных. Инфицированных коров во второй половине стельности изолировать, а после отела сдать их на убой, а телят направить на откорм. Для замены серопозитивных животных в хозяйствах организовать изолированное выращивание ремонтного молодняка, полученного от коров, свободных от вируса лейкоза и в родословной которых отсутствуют больные предки. Ремонтный молодняк содержать отдельно от всего поголовья от 10-ти дневного до 6-ти месячного возраста. Скармливать молоко только от РИД отрицательных коров. Серологическим методом исследовать в 6 месяцев и перед осеменением, нетелей-перед переводом в основное стадо. РИД положительных животных переводить в группу откорма. Из выращенных РИД отрицательных (серонегативных) нетелей формировать гурты для замены неблагополучного поголовья. В Государственных племенных станциях быков исследовать по РИД 2 раза в год с интервалом в 6 месяцев. Серопозитивных животных отправлять в обязательном порядке в течение 15 дней на убой. Сперму таких быков уничтожать, маточное поголовье исследовать серологическим (РИД) методом через 3 месяца до получения двух отрицательных результатов.

В хозяйствах с уровнем инфицированности от 10% до 30% оздоровление проводить с обязательным разделением поголовья стада на 2 обособленные группы: первая (серонегативная) свободные от ВЛКРС животные, в сыворотке крови, которых не выявлены специфические антитела к вирусу; вторая (серопозитивная)-зараженные ВЛКРС животные, в сыворотке крови, которых обнаружены специфические антитела к вирусу лейкоза. Содержать стада по фермам и дворам, с поэтапной заменой инфицированных животных здоровыми; проводить раздельное получение и выращивание молодняка от зараженных групп

животных; строго соблюдать правила асептики и антисептики при проведении ветеринарных и зоотехнических манипуляций; проводить постепенный убой серопозитивных коров, с учетом гематологических исследований; серологические (РИД или ИФА) исследования всего серонегативного маточного поголовья проводить в 2 раза в год и своевременное удалять серопозитивных животных; серопозитивных коров исследовать гематологическим методом 2 раза в год. При установлении больных по гематологии, их изолировать и в течение 15 дней сдать на убой.

Серологические (РИД или ИФА) исследование ремонтного молодняка и нетелей необходимо проводить в возрасте 6,12, 18 месяцев. Зараженных животных немедленно изолировать в группы откорма и сдавать на мясо.

- В хозяйствах, где выявлены более 30 % серопозитивных животных, все поголовье отнести к серопозитивной группе. Серологические исследования их в дальнейшем не проводят, в хозяйствах проводят:

- поэтапную замену серопозитивных коров группами серонегативных нетелей, первотелок, не допуская их смешивания с инфицированными. В этих группах проводить серологические (РИД) исследования с интервалом в 2-3 месяца, инфицированных немедленно вывести;

- серопозитивных коров 2 раза в год исследуют гематологическим методом, при выявлении у них болезни лейкозом их считать больными и в течение 15 дней сдать на мясо;

- серологические (РИД) исследования ремонтного молодняка проводить в возрасте 6, 12, 18 месяцев. Серонегативный молодняк выращивать изолированно и вводить в оздоравливаемое стадо группами.

С животными, принадлежащими гражданам и фермерам, диагностические исследования осуществлять одновременно с проведением вышеуказанных мероприятий.

При выявлении больных и инфицированных животных, специалисты государственной ветеринарной службы об этом ставят в известность владельца животного.

В зависимости от ситуации и экономических возможностей, больных животных сдают на мясо. Допускается содержание инфицированных животных при соблюдении следующих условий:

-содержать животных изолированно;

-молоко и молочные продукты инфицированных животных запретить реализовать в свободной продаже без пастеризации.

В оздоравливаемых от лейкоза хозяйствах (фермах) проводить дезинфекцию животноводческих помещений и оборудования. При этом особое внимание обратить на места и предметы, контаминированные кровью. При дезинфекции использовать 5 % водный горячий раствор формалина, 2% горячий раствор едкого натра, 3-5% раствор фенола, 3% раствор хлорамина. Навоз и сточные воды обеззараживать на общих основаниях.

Заключение Хозяйства (фермы, отделения, населенные пункты, фермерские и индивидуальные хозяйства и т.д.) считать оздоровленными при отсутствии признаков болезни лейкоза по результату клинического обследования, серологических (РИД, ИФА), гематологических и аутопсических исследований лимфатических узлов в течение 2 последних лет.

Литература

1 Гулюкин, М.И. и др. Методические рекомендации по эпизоотологическому исследованию при лейкозе крупного рогатого скота// Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины, Москва. -2008.-29 с.

2 Гарматарова Т.В. Интерьерные показатели племенного скота в период адаптации в Западной Сибири и в связи с инфицированностью BLV. Дисс. Новосибирск 2015. -123 с.

3 Абакин С.С. Лейкоз КРС и овец на Ставрополье. –Ставрополь: Изд-во СНИИЖК, 2014. -308 с.

4 Дружаева Н.А. Эпизоотологический мониторинг и микробиологическая безопасность продовольственной базы Северной зоны Нижнего Поволжья. Дисс. Саратов. -2014.-177 с.

5 Кузин А.И., Закрепина Е.Н. Влияние лейкоза на продуктивность коров и качество молока// Ветеринария. -1997.-№ 2.- С.19-21.

6 Бессарабов Б.Ф., Вашутин А.А., Воронин Е.С. и др. Инфекционные болезни животных. М.: Колос. -2007

7 Бахтаунов Ю.Х., Ахметсадыков Н.Н., Шанбаев Б.У. и др. Эпизоотия ЛКРС в Казахстане и современные аспекты серологической диагностики/Ветеринария №2 (42). -2015.-С.64-68.

Сведения об авторах:

Бахтаунов Ю.Х. - кандидат ветеринарных наук, доцент, старший научный сотрудник отдела эпизоотологического мониторинга и оценки вирусных болезней животных

Маманова С.Б.–кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела эпизоотологического мониторинга и оценки вирусных болезней животных

Бижанов А.Б. –доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник отдела эпизоотологического мониторинга и оценки вирусных болезней животных

Кутумбетов Л.Б.- доктор ветеринарных наук, доцент, главный научный сотрудник отдела эпизоотологического мониторинга и оценки рисков вирусных болезней животных.

Каратаев Б.Ш. –доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник отдела эпизоотологического мониторинга и оценки вирусных болезней животных

Карабасова А.С. – младший научный сотрудник отдела эпизоотологического мониторинга и оценки вирусных болезней животных

Маукиш А. – старший лаборант лаборатории вирусологии

Түйін

ІРІ ҚАРА МАЛ ЛЕЙКОЗЫН САУЫҚТЫРУ ЖӘНЕ АЛДЫН АЛУ ШАРАЛАРЫНЫҢ НЕГІЗГІ БАҒЫТТАРЫ

Бахтаунов Ю.Х., Маманова С.Б., Бижанов А.Б., Кутумбетов Л.Б.,
Каратаев Б.Ш., Карабасова А.С., Маукиш А.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Зерттеу жүргізу үшін, Алматы облысы бойынша 14 түрлі аудан мен 3 қаладан 69 ауылдық округтерден 1126 ірі қара малдан қансынымалар алынып тексерілді, 10% -ға дейін мал лейкозы вирусының жұғымталдығы 6 ауданмен 2 қалада 8 ауылдық округ деңгейінде анықталды, 10-нан 30%-ға дейін 12 ауылдық округ 10 аудан және 1 қалада анықталды, 30%-дан жоғары 15 ауылдық округте 8 ауданда анықталды. Бұл мақалада жануарлардың лейкоз вирусын жұқтыру дәрежесіне байланысты, ауруға қарсы сауықтыру шаралары ұйымдастырылып, ұсынылып отыр.

Кілттік сөздер: лейкоз, мониторинг, серология, жұғымталдық, сауықтыру

Summary

BOVINE LEUCOSIS, MAIN AREAS ITS PREVENTION AND RECOVERY

Bahtahunov Yu.Kh., Mamanova S.B, Bijanov A.B, Kutumbetov L.B.,Karatayev B.Sh., Karabasova A.S, Maukish A.

LLP «Kazakh Scientific research veterinary institute»

The study found that from 1126 studied cattle blood samples taken from 69 rural districts of 14 different districts and 3 towns of Almaty oblast, infection of livestock virus leukemia to 10% was detected in 8 rural districts of 6 districts and 2 cities, with infection levels from 10 to 30% to 12 rural districts of 10 districts and 1 city, more than 30% - 15 rural districts 8 district. Depending on the

degree of infection of animal leukemia virus developed and proposed measures for improvement of the disease, which are listed in Article.

Keywords: leucosis, monitoring, serology, infection, health improvement

ӘОЖ 576.893.19

ЖАМБЫЛ ОБЛЫСЫ ҚОЙЛАРЫНЫҢ ЭЙМЕРИЯЛАРЫ

Бекбаев Б., Беркінбай О.

Қазақ ұлттық аграрлық университеті

Түйін Зерттеу нәтижесінде Жамбыл облысының қойларынан жеті түрлі эймерия табылғаны анықталды. 50 жылда облыс қойлары үш түрлі эймериямен толыққан

Кілттік сөздер: эймерия, тоқты, тұсақ, қой

Кіріспе Қой шаруашылығына эймериялар үлкен шығын келтіреді, олар қойдың барлық өнімдерін төмендетеді, кейде оларда өте ауыр аурулар туғызады. Оның бәрі, ең алдымен ас қорыту қызметін бұзады және қоректік заттарды сіңіруі нашарлайды.

Жамбыл облысында қой эймериялары әлі толық зерттелінбеген. Профессор С.К.Сыбанбаев [1] осы облыста алғашқы зерттеу жүргізген. Нәтижесінде қойлардың 70.2 пайызы эймериямен зарарланғанын анықтаған. Олардан төрт түрлі эймерия табылған: *Eimeria faurei*, *E. ovinoidalis* (*E.ninaekolyakimovae*), *E.intricata*, *E.parva*. Алайда жан жақты эймерияларды зерттеу жүргізілмеген. Әр жыл мезгілінде әртүрлі жастағы қойлар қалай зарарланатыны белгісіз. Эймериозды алдын алу және эймериозбен ауырған қойларды емдеу шаралары жасалынбаған.

Жұмыстың мақсаты Жамбыл облысында қой эймериозын зерттеу.

Зерттеу материалдары мен әдістері Жамбыл облысы Шу ауданының Бектібай шаруа қожашылығынан 90 бас қойдан қи сынамаларын 2016 жылдың 21 ақпан айында алдық. Әр қойдың тік ішегінен 10-15 граммнан қиларын алып, оларды пенициллин флакондарына салдық. Сынамаларға 2.5 пайызды екі хром қышқылды калийдің ертіндісін құйдық. Сынамаларды академик Беркінбайдың овоскопиялық әдістермен Қазақ ұлттық аграрлық университетінің паразиттерге қарсы биотехнология зертханасында зерттедік. Зарарланудың қарқындылығын Motic бинокулярлы микроскопының 20 көру алаңындағы эймериялардың санымен анықтадық.

Зерттеу нәтижелері және оларды талдау Зерттелінген 90 қойдың 46-нан эймериялар (51,1%) табылды. Заладанған қойлардағы эймерия қарқындылығы орташа есеппен әр қойға 12.1 эймерия ооцистасынан келеді

(1 кесте). Қойдың эймериямен залалдануының жасына байланыстылығын байқадық. Ең жоғары эймериямен залалдану тоқтыларда байқалды (ИК=63,3%), одан кейінгі орында қойлар (46,7%), ал тұсақтар үшінші орында (43,3%). Ең жоғарғы эймерия қарқындылығы тоқтыларда байқалды (ИҚ=20.5 ооциста). Ол көрсеткіш тұсақтарда 7 ооциста болса, қойларда 5.3 ооциста болды.

1 кесте - Әр түрлі жастағы қойлардың эймериямен зарарлануы

Қой жасы	Зерттелінген қой саны	Зарарланған қой саны	Инвазия көлемі, %	Инвазия қарқындылығы
1-Тоқтылар	30	19	63.3	20.5
2-Тұсақтар	30	13	43.3	7.0
3-Қойлар	30	14	46.7	5.3
М±м-Барлығы	90	46	51.1	12.1

Біз Жамбыл облысының қойларынан жеті түрлі эймерия кездестірдік: *Eimeria ahsata*, *E. crandallis*, *E. faurei*, *E. intricata*, *E. ovina*, *E. ovinoi-dalis*, *E. parva* (2 кесте).

2 кесте - Қойлардың әр түрлі эймериямен зарарлануы

Қой жасы	<i>E. ahsata</i>			<i>E. crandal-lis</i>			<i>E. faurei</i>			<i>E. intricata</i>			<i>E. ovina</i>			<i>E. ovinoi-dalis</i>			<i>E. parva</i>		
	Зар. қой саны	ИК	ИҚ	Зар. қой саны	ИК	ИҚ	Зар. қой саны	ИК	ИҚ	Зар. қой саны	ИК	ИҚ	Зар. қой саны	ИК	ИҚ	Зар. қой саны	ИК	ИҚ	Зар. қой саны	ИК	ИҚ
1	3	10.0	17	4	13.3	12.3	6	20.0	3.7	0	0	0	12	40.0	13	10	33.3	9.4	7	23.3	4.7
2	0	0	0	1	3.3	5	1	3.3	20	1	3.3	6	10	33.3	5.4	0	0	0	3	10.0	2.3
3	0	0	0	0	0	0	1	3.3	2	1	3.3	5	10	33.3	4	2	6.7	6.5	2	6.7	4.5
М ±м	3	3.3	17	5	5.6	10.8	8	8.9	5.5	2	2.2	5.5	32	35.6	7.9	12	13.3	8.9	12	13.3	4.1

Алайда эймериялардың кездесуі қойлардың жасына байланысты екенін байқадық. *E. faurei*, *E. ovina*, *E. parva* барлық қой топтарында кездесті. Алайда қойлардың арасында ең көп (ИК=35,6%) және қарқынды (ИҚ=7.9 ооциста) кездесетіні *E. ovina*. Ол барлық қой топтарында да

кездеседі: тоқтыларда ИК=40,0%, ИҚ=13 ооциста; тұсақтарда ИК=33,3%, ИҚ=5.4 ооциста; қойларда ИК=33,3%, ИҚ= 4 ооциста. Екінші орында *E. parva* (ИК=13,3%, ИҚ=4.1 ооциста): тоқтыларда ИК=23,3%, ИҚ=4.7 ооциста; тұсақтарда ИК=10,0%, ИҚ=2.3 ооциста; қойларда ИК=6,7%, ИҚ=4.5 ооциста. Үшінші орында *E. faurei* (ИК=8,9%, ИҚ=5.5 ооциста): тоқтыларда ИК=20,0%, ИҚ=3.7 ооциста; тұсақтарда ИК=3,3%, ИҚ=2.0 ооциста; қойларда ИК=3.3%, ИҚ= 2 ооциста. *E. ahsata* тек тоқтыларда ғана кездеседі (ИК=10,0%, ИҚ=17 ооциста). *E. crandallis* тоқтыларда және тұсақтарда ғана кездеседі (ИК=5,6%, ИҚ=10.8 ооциста). *E. intricata* тек бір жастан асқан қойларда кездеседі (ИК=2,2%, ИҚ=5.5 ооциста). *E. ovinoidalis* тоқтыларда және ересек қойлардан кездескен (ИК=13,3%, ИҚ=8.9 ооциста).

Қорытынды Жамбыл облысында қойлардың эймериямен залалдануы жасына байланысты. Тоқтылар ересек қойларға қарағанда эймерияға көп шалдығады. Қойлардан жеті түрлі эймерия тіркедік: *Eimeria ahsata*, *E. crandallis*, *E. faurei*, *E. intricata*, *E. ovina*, *E. ovinoidalis*, *E. parva*. Соның ішінде үшеуі *E. faurei*, *E. ovina*, *E. parva* барлық қой топтарынан кездеседі. Ең кең таралғаны *E. ovina*. Жамбыл облысының эймериофаунасы тағыда үш түрге көбейген: *Eimeria ahsata*, *E. crandallis*, *E. ovina*.

Әдебиет

1. Сванбаев С.К. О зараженности кокцидиями крупного и мелкого рогатого скота в Джамбулской области // Труды Института зоологии АН Казахской ССР. - Алма-Ата, 1960, Т. 14. - С. 29-33.

Иегерлер туралы мағлұмат:

Бекбаев Берік – ветеринариялық медицина мамандығының магистранты

Беркінбай Омархан – биологиялық қауіпсіздік кафедрасының профессоры, ветеринария ғылымдарының докторы, профессор, академик

Резюме

ЭЙМЕРИИ ОВЕЦ ЖАМБЫЛСКОЙ ОБЛАСТИ

Бекбаев Б., Беркинбай О.

Казахский национальный аграрный университет

Зараженность овец эймериями зависит от возраста: молодняк больше инвазирован чем взрослые овцы. Эймериофауна овец Жамбылской области дополнен тремя видами эймерий: *Eimeria ahsata*, *E. crandallis*, *E. ovina*.

Ключевые слова: эймерий, молодняк до года, молодняк до двух лет, овца

Summary

EIMERIA OF SHEEP OF ZHAMBYL REGION

Bekbaev B., Berkinbay O.

Kazakh national agrarian University

Infestation of sheep eimeriosis depends on age: the young are more envirofan than adult sheep. Eimeriofauna sheep Zhambyl region complemented by three types of Eimeria: Eimeria ahsata, E. crandallis, E. ovina.

Keywords: of Eimeria, the youngsters to a year, youngsters up to two years, sheep

УДК 619:616.98:578.835

РИСКИ ПОЯВЛЕНИЯ И РАСПРОСТРАНЕНИЯ ЯЩУРА НА ТЕРРИТОРИИ ЗОН, БЛАГОПОЛУЧНЫХ ОТ ЭТОЙ БОЛЕЗНИ С ВАКЦИНАЦИЕЙ

**Даутпаева З.Ж., Мырзахметова Б.Ш., Каймолдина С.Б., Кутумбетов
Л.Б.**

ТОО « Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приводятся результаты исследований по установлению вероятных рисков и их направлений в зонах свободной от ящура с вакцинацией.

Ключевые слова: ящур, вирус, мониторинг, ягнята, козлята, антитела, неструктурные белки

Введение Ящур – остропротекающая высоко-контагиозная вирусная болезнь домашних и диких парнокопытных животных, характеризующаяся лихорадкой, афтозным поражением слизистой оболочки ротовой полости, кожи вымени и межкопытной щели конечностей, а у молодняка животных – поражением миокарда и скелетных мышц [1,2,3]. Ящур в течение последних 3 лет в Республике Казахстан не регистрируется. Последние случаи этого заболевания отмечались в первой половине 2013 года на территории Восточно-Казахстанской области. Геномные исследования изолятов возбудителя ящура, выделенных в 2010-2013 годах, показали,

что болезнь возникает вследствие проникновения ее возбудителя из зарубежных стран, территории которых не всегда благополучны по этой болезни. Поэтому основной стратегией поддержания благополучия среди животных по ящуру является предотвращение заноса возбудителя этой болезни на территорию страны. Основу решения такой задачи составляет правильное определение рисков заболевания и эффективное регулирование их эпизоотической роли. В связи с этим целью исследований являлось установление рисков появления и распространения ящура в зоне благополучия с вакцинацией, в которую вынесены Восточно-Казахстанская, Алматинская, Жамбылская, Южно-Казахстанская и Кызыл-Ординская области.

Цель работы. Определение рисков появления и распространения ящура на территории зон благополучия с вакцинацией Республики Казахстан.

Материалы и методы исследований. Для определения существующих рисков появления и распространения ящура на территории Республики Казахстан использовали исторические данные о ящуре в республике, устанавливали причины появления эпизоотических вспышек болезни и пути ее распространения в современности и отдаленные сроки. Изучали способы профилактики болезни и ликвидации заболевания, проводили анализ типовых вариантов возбудителя болезни, которые вызывали эпизоотические вспышки. Изучали социально-экономические связи внутри республики и межгосударственные экономические отношения с сопредельными и отдаленными странами, на территории которых регистрируется ящур.

Результаты и обсуждение. В результате анализа эпизоотической ситуации по ящуре за прошедшие 50 и последние 5 лет установлено, что ящур на территории нынешней Республики Казахстан ранее регистрировался периодически в виде энзоотий, а в последние годы случаи этого заболевания возникают спонтанно и в основном этиологией их является вирус ящура типов А и О. Типирование изолятов возбудителя и генетическое их секвенирование показали, что каждый случай отличается от последующего вызываемым возбудителем, указывающий на отсутствие постоянной циркуляции вируса ящура на территории страны. В каждом случае прослеживается экзотический характер возбудителя. Исходя из результатов генетического анализа возбудителя и результатов эпизоотологического исследования установлено, что возбудитель болезни в каждом новом случае поступает из-за границы. Моделирование вероятных путей переноса и распространения в рамках географических показателей местностей, социально-бытовой, экономической, административно-хозяйственной и другой инфраструктуры, а также взаимосвязи этих структур показал, что основными факторами риска появления ящура являются:

- наличие сопредельной границы с государствами, на территории которых часто регистрируется ящур. Такое расположение территорий дает

возможность переносу возбудителя из-за границы с помощью ветра, птиц, диких животных и др.

- наличие межгосударственных экономических связей между Республикой Казахстан и сопредельными, а также отдаленными государствами, территории которых часто неблагополучны по ящуру;

- возможность бесконтрольного перехода границ дикими плотоядными животными, наличие господствующих ветров со стороны иностранного государства;

- отсутствие и/или заниженный иммунный статус организма сельскохозяйственных животных против ящура из-за нарушения сроков плановой иммунизации, которая вероятна вследствие задержки из государственного бюджета финансовой обеспеченности закупок вакцины;

- наличие гетерогенности индивидуальных особенностей иммунной системы организма животных, вследствие которой поствакцинальный иммунитет формируется не у всех привитых животных.

- наличие активных точек и векторов концентрирования и перемещения населения, транспорта, животных по территории областей, которые граничат с сопредельными странами.

Основные вероятные векторы проникновения и распространения ящура приведены на рисунке 1.



Рисунок 1 - Векторы, пункты, ворота, границы риска проникновения и распространения ящура

Как видно из данных рисунка 1, внешними воротами риска являются пункты перехода границ из южных зарубежных стран, таких как Китай-

ская Народная Республика, Кыргызская Республика и Республика Узбекистан. Пунктами риска внутри страны являются рынки продажи живого скота, города, в которых концентрируется население, контактирующие с живым скотом, а векторами распространения - магистральные автомобильные дороги, по которым перемещаются вероятные источники и носители вируса ящура. Согласно данным рисунка 1, вероятные внешние ворота проникновения вируса ящура расположены в пределах южных границ Восточно-Казахстанской, Алматинской, Жамбылской, Южно-Казахстанской и Кызылординской областей. География рынков торговли живым скотом на территории перечисленных выше областей, которые являются пунктами риска, приведены на рисунке 2.



Рисунок 2 – Места расположения рынков продажи живого скота на территории зон благополучия с вакцинацией

Как видно данных рисунка 2, в каждой области имеются рынки продажи живого скота, кроме Восточно-Казахстанской области. В последней имелись 3 таких рынка, которые были закрыты в период неблагополучия территории области по ящуру в 2013 году и до настоящего времени остаются не действующими. Такая обстановка снижает риск появления и распространения болезни на территории области. В Алматинской области имеются 11 действующих рынков продажи живого скота. Эти рынки расположены вокруг г. Алматы и вблизи трассы по направлению в г. Талдыкорган и Райымбекского района, которая пригранична с Китайской Народной Республикой. Во всех рынках ведется активная торговля живым скотом, который транспортируется как внутри области, так и между близле-

жащими областями, как Жамбылская, Южно-Казахстанская. В Жамбылской области имеются 8 действующих рынков продажи живым скотом, которые также расположены вблизи крупно населенных пунктов и автомобильных трасс, простирающихся в сторону Алматинской области на восток и Южно-Казахстанской области на юго-западе. Скопление и перемещение скота в целях купли-продажи на этих рынках увеличивает риск появления болезни и распространения ее по автотрассе в сторону Алматинской и Южно-Казахстанской областей. Кроме того, эти рынки географически близко расположены к территории, приграничной с Кыргызской Республикой. В Южно-Казахстанской области имеется самое большое количество рынков по продаже живого скота. Всего их по области насчитывается 33. Все они расположены в пределах и вблизи густонаселенных пунктов и вдоль автомобильных дорог, простирающихся в сторону Республики Узбекистан на юге, Жамбылской области на востоке и Кызылординской области на западе. Такая обстановка делает возможным занос возбудителя болезни из приграничных регионов в центральные регионы области, а в случае ее появления, распространения возбудителя как внутри области в непредсказуемых направлениях, так и в сторону Жамбылской и Кызылординской областей. В Кызылординской области имеются 2 рынка по торговле живым скотом, которые расположены вблизи г. Кызылорда и районного центра п. Жанакорган. Рисками проникновения болезни являются возможные транспортировки и передвижения скота из территории Южно-Казахстанской области в сторону рынков, расположенных в Кызылординской области, и из территории Российской Федерации в том же направлении. Из Кызылординской области болезнь может распространиться через автодорогу в сторону севера в центральные регионы республики. В связи с этим сопредельные границы с государствами, на территории которых часто регистрируется ящур, являются зоной риска по распространению ящура, а рынки торговли живым скотом - стационарными рисками, способствующими появлению и распространению ящура на территории трех зон, которые охватывают южные и юго-восточные 5 областей страны.

Заключение В результате исследований были изучены вероятные риски, способствующие появлению и распространению ящура в зонах благополучия с вакцинацией, в перечне которых основными определены:

- границы и таможенные участки между пятью областями (трех зон свободной с вакцинацией) и сопредельными зарубежными странами: Китай, Кыргызстан, Узбекистан;
- магистральные междугородние, межрайонные автотрассы;
- рынки продажи живого скота;
- направления движения хозяйственно-экономического, коммерческого характера;
- нарушения сроков и кратности вакцинаций животных против ящура и контроля продолжительности иммунитета.

Литература

1. Байбиков Т.З. Итоги изучения эпизоотологии ящура и совершенствования противоящурных мероприятий / Байбиков Т.З., Захаров В.М., Рахманов А.М.// Пробл. Инфекц. патологии с.-х животных. Владимир, 1997. - С. 29-30.
2. Байбиков Т.З. Разработка научно обоснованных прогнозов по ящуру и внедрение их в ветеринарную практику / Т.З. Байбиков, А.М. Рахманов, В.М. Захаров и др. // Пробл. Инфекц. патологии с.-х животных. — Владимир, 1997. С. 28.
3. Беспалов И.М. Ящур и меры борьбы с ним. Фрунзе Кыргызстан, 1980. -56 с.
4. Макаров В.В. Эпизоотологическая методология. М.: РУДН, 2001. - 224 с.
5. Макаров В.В. Очерки истории борьбы с инфекционными болезнями (Учебное пособие к лекционному курсу по дисциплине эпизоотология и инфекционные болезни) М.: РУДН, 2008. - 220 с.
6. Кузьмин В.А., Софроний П.И. Элементы создания базы данных для контроля хронических инфекционных болезней//Инновации – основа модернизации АПК: Матер. междунар. конгресса, Агрорусь- 2012. - СПб, 2012. -С.27.

Сведения об авторах:

Даутпаева З.Ж.- кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела эпизоотологического мониторинга и оценки рисков вирусных болезней животных.

Мырзахметова Б.Ш.- кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела эпизоотологического мониторинга и оценки рисков вирусных болезней животных.

Каймолдина С. Б.- старший лаборант лабораторий вирусологии.

Кутумбетов Л.Б.- доктор ветеринарных наук, доцент, главный научный сотрудник отдела эпизоотологического мониторинга и оценки рисков вирусных болезней животных.

Түйін

ВАКЦИНАЦИЯ ЖАСАЛАТЫН АУСЫЛДАН ТАЗА АЙМАҚТАРДАҒЫ
ОСЫ АУРУДЫҢ ПАЙДА БОЛУ ЖӘНЕ ТАРАЛУ ТӘУЕКЕЛДЕРІ

Даутпаева З.Ж., Мырзахметова Б.Ш., Каймолдина С., Кутумбетов Л.Б.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада вакцинация жасалатын аусылдан таза аймақтардағы осы аурудың пайда болу және таралу тәуекелдерін зерттеу нәтижелері келтірілген.

Кілттік сөздер: ящур, вирус, мониторинг, ягнята, козлята, антитела, неструктурные белки

Summary

RISKS EMERGENCE AND SPREAD OF FMD IN THE ZONE, WELFARE FOR THE DISEASE WITH VACCINATION

Dautpaeva Z.Zh., Myrzakhmetova B.Sh., Kaymoldina S., Kutumbetov L.B.

LLP "Kazakh Scientific Research Veterinary Institute"

The article presents the results of a study of possible ways of risk and their direction in the zones free from foot and mouth disease with vaccination.

Keywords: Foot and mouth disease, virus, monitoring, lambs, goats, antibodies, non- structural proteins.

УДК:619:616.988:636.1

ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВАКЦИННОГО ШТАММА SALMONELLA DUBLIN ПОСЛЕ ХРАНЕНИЯ В ХОЛОДИЛЬНИКЕ

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

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приводятся результаты исследований биологических и генетических свойств вакцинного штамма Salmonella dublin 15S после хранения в холодильнике

Ключевые слова: сальмонеллез, телята, вакцина, Salmonella dublin, штамм, геном, нуклеотидная последовательность, специфическая профилактика

Введение Сальмонеллез телят регистрируется на всей территории республики. Инфекция распространена во всех областях, наносит огромный экономический ущерб частным владельцам, фермерским

хозяйствам, в том числе и племенным. Инфекция быстро распространяется и принимает массовый характер. Основной причиной потери молодняка послеотъемный период является сальмонеллез. Возбудители сальмонеллеза телят являются патогенными для человека и животных. Борьба с сальмонеллезом телят позволит снизить заболеваемость животных и людей. Заражение людей происходит при употреблении продуктов скотоводства, болезнь протекает в виде тяжелой токсикоинфекции. Болезнь у телят проявляется в виде хронической бронхопневмонии и артритов. Переболевшие животные остаются бактерионосителями длительное время, а зачастую и пожизненно, сальмонеллоносителями длительное время, а зачастую и пожизненно, являются источником заражения животных, людей и окружающей среды. Основным методом борьбы с сальмонеллезом телят является специфическая профилактика. Сальмонеллез телят в хозяйствах регистрируется ежегодно. Высокая заболеваемость сальмонеллезом у телят регистрируется на фоне неблагоприятных условий содержания, нарушения зоогигиенических требований и неудовлетворительного несбалансированного кормления, а также из-за низкого качества или отсутствия ветеринарно-санитарных и профилактических мероприятий. В хозяйствах отмечается высокая заболеваемость телят сальмонеллезом, который переходит в хроническую форму и скрытое бактерионосительство. Напряженная эпизоотическая ситуация поддерживается животными-бактерионосителями клинически здоровыми или с симптомами заболевания органов дыхания и артритами, отстающими в росте. Животные-сальмонеллоносители выделяют возбудителя с носовой слизью, фекалиями и мочой.

Эпизоотическая ситуация осложняется тем, что наибольшее количество животных сосредоточено в частных подворьях населения (в Алматинской области 641 836 голов). Это затрудняет проведение учётности животных, их передвижения, регистрации случаев заболевания, а также вакцинации. В крестьянских и фермерских хозяйствах Алматинской области содержатся 416 268 голов, а в сельхозпредприятиях содержится 53 026 голов КРС. Выход телят по области на 100 коров ежегодно составляет не более 60%.

Сальмонеллез телят регистрируется во всех хозяйствах Алматинской области и наносит значительный экономический ущерб. От сальмонеллеза погибают телята от породистых дорогостоящих коров, закупленных за рубежом (гольштина-фриза, абердин ангус, алатауская, аулеатинская, чернопестрая и местная порода). Вакцинация против сальмонеллеза телят не проводится и не предусмотрена в плане противоэпизоотических мероприятий. Вакцинируют животных в основном против особо опасных и вирусных заболеваний (сибирская язва, пастереллез, ящур, эмкар). Сальмонеллез телят, встречающийся повсеместно, представляет опасность как для молодняка КРС, так и для людей, являясь основной причиной возникновения токсикоинфекций у людей.

Основным средством борьбы с сальмонеллезом телят является специфическая профилактика иммунногенными вакцинами, создающими стойкий иммунитет к инфекции [1,2].

Убитые вакцины не создают у телят иммунитет высокого напряжения и применяются многократно, минимум двукратно [3].

Наиболее перспективными вакцинами против сальмонеллеза телят являются живые вакцины, изготовленные из аттенуированных штаммов сальмонелл [4]. Аттенуированные штаммы микроорганизмов с заданными биологическими свойствами являются основой при производстве вакцин и определяют их качество. Основными требованиями к вакцинным аттенуированным штаммам являются стабильность, иммуногенность, безвредность, экологическая безопасность. В связи с этой проблемой стабильности биологических свойств вакцинных штаммов уделяется особое внимание. Основными требованиями к вакцинным штаммам являются стабильность биологических свойств (безвредность, иммуногенность, экологическая безопасность), невозможность реверсии к эпизоотическому штамму. При разработке технологии изготовления биопрепарата важной задачей является сохранение жизнеспособности вакцинного штамма, стабильности его биологических свойств, недопущении изменчивости, реверсии и «старения» культуры. При этом необходимо учитывать природу и стабильность штамма, условия культивирования, способ и температуру хранения, реактивации [5].

Цель работы - изучение биологических свойств вакцинного штамма в соответствии с паспортными данными.

Материал и методы исследований При выполнении работы использовались бактериологические, серологические, биохимические, генетические методы исследований. Культурально-морфологические свойства сальмонелл изучают путем посева на МПБ, МПА, плотные дифференциально-диагностические среды. Проводят микроскопию мазков, приготовленных из суточных агаровых культур, окрашенных по Граму и простым способом. Биохимические свойства изучают при посеве сальмонелл на среды Гисса с углеводами. Подвижность культур определяют по росту на полужидком агаре (феномен роения) [6]. Для выявления протеолитической способности испытываемые штаммы сальмонелл 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 [8]. 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.) [9]. Генетическую идентификацию штамма *Salmonella dublin* 15 S 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 с нуклеотидными последовательностями референтных штаммов.

ДНК выделяют колоночным методом с помощью набора «PureLink Genomic DNA Kits» (Invitrogen) согласно инструкции по применению [10]. Для выделения ДНК используют 2×10^9 взвесь клеток бактерий суточной агаровой культуры. С целью лизирования сальмонелл к осадку клеток, полученному путем центрифугирования бакмассы при 3000 об/мин 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 не связавшихся праймеров проводят ферментативным методом, используя Exonuclease I (Fermentas) и щелочную фосфатазу (Shrimp Alkaline Phosphatase, Fermentas) [11,12].

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 Для выполнения проекта по бюджетной программе №249 по запросу из лаборатории «Национальная коллекция депонированных штаммов микроорганизмов» РГП на ПХВ «НРЦВ» были получены вакцинный производственный и контрольный штаммы *Salmonella dublin*, депонированные в коллекции культур микроорганизмов.

Вакцинный штамм *Salmonella dublin* 15 S был получен генетическим методом из вирулентной культуры *Salmonella dublin*, выделенной из пече-

ни павшего от сальмонеллеза теленка путем ступенчатого отбора колоний, выращенных на средах с добавлением возрастающих доз неомицина и стрептомицина. Атенуированный штамм сальмонелл, по вирулентности в 20 раз ниже природного прототипа, имеет две хромосомные метки, обеспечивающие устойчивость к неомицину и стрептомицину. Вакцинный штамм *S. dublin* 15S растет на средах с добавлением неомицина (100 мкг/см³) и стрептомицина (200 мкг/см³), тогда как вирулентный штамм *S. dublin* не растет на средах с антибиотиками. Штамм депонирован в Республиканской коллекции микроорганизмов (г. Астана).

Штамм *S. dublin* 15S используется для изготовления сухой живой вакцины против сальмонеллеза телят. Живая вакцина против сальмонеллеза телят представляет культуру вакцинного штамма сальмонелл, выращенную на плотной или жидкой питательной среде (агаре или бульоне Хоттингера, на четвертях или в реакторе), лиофильно высушенную с добавлением защитной среды в составе желатина и сахарозы. Атенуированный штамм обладает низкой остаточной вирулентностью, безвредностью и высокой иммуногенной активностью. Вакцина создает напряженный иммунитет у телят при однократной вакцинации, защищает их сальмонеллезной инфекции. Продолжительность иммунитета у телят 12 месяцев.

После освежения штамма изучены его культурально-морфологические, биохимические, антигенные и генетические свойства.

Ампулу с лиофилизированной культурой вакцинного штамма *S. dublin* 15 S высевали на МПБ (культура первой генерации). После освежения из МПБ делали посеvy на плотные питательные среды (культура второй генерации).

На рисунке 1 представлена культура вакцинного штамма.

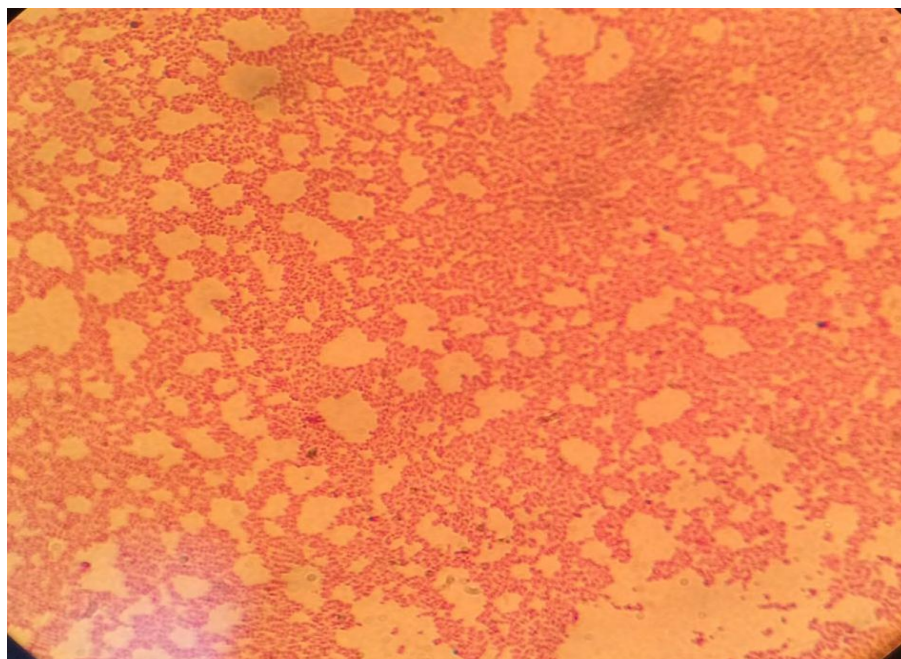


Рисунок 1- Суточная культура вакцинного штамма *S. dublin* 15S после освежения

На рисунке 1 видны мелкие грамтрицательные палочки с закругленными концами, располагающиеся одиночно или группами. Штамм не загрязнен посторонней микрофлорой.

На МПБ наблюдалось равномерное помутнение, на МПА отмечался рост мелких круглых полупрозрачных колоний с голубоватым оттенком в S – форме. На среде Эндо росли круглые, блестящие, слегка розоватые прозрачные колонии с ровными краями.

При изучении биохимических свойств установлено, что штамм *S. dublin* 15S обладал типичными для рода *Salmonella* биохимическими свойствами: образовывал сероводород, не образовывал индола, не ферментировал лактозу, сахарозу. С образованием кислоты и газа ферментировал углеводы (глюкозу, мальтозу, маннит, раффинозу и т.д.) *S. dublin* 15S агглютинировалась монорецепторными сыворотками O-I, IX, VII; H-c (g, p) (первая фаза) Вторая фаза H- антигена у штамма отсутствует. По классификации Кауфмана Уайта на основе антигенной структуры вакцинный штамм относится к серологической группе D.

После изучения культурально-морфологических и биохимических свойств была проведена проверка безвредности и иммуногенной активности вакцинного штамма *S. dublin* 15S на белых мышах. Безвредность определяли путем подкожного введения 10 млн КОЕ в объеме 0,2 см³ 10 белым мышам массой 16-18 г по оптическому стандарту ГИСК им. Л.И. Тарасевича. Учет результатов проводили через 10 суток. Остались живы 10 опытных мышей. Иммуногенность штамма проверяли путем подкожного введения 10 млн. м.к. 10 белым мышам массой 16-18 г по оптическому стандарту ГИСК им. Л.И. Тарасевича. Через 21 сутки после вакцинации 10 опытных и 10 контрольных мышей заражали подкожно в дозе 2,5 LD₅₀ смывом суточной агаровой культуры контрольного штамма *S. dublin* 373.

Через 21 сутки 10 опытных мышей остались живы, 9 контрольных мышей пали от сальмонеллеза на 3-4 сутки после заражения.

Выполнена генетическая идентификация вакцинного штамма *S. dublin* 15S на основе анализа нуклеотидной последовательности 16S rRNA гена. 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.

Таблица 1–Результаты идентификации гена 16S rRNA *S. dublin* 15S

Наименование штамма	Последовательность фрагмента 16S r RNA гена	Идентификация нуклеотидных последовательностей в международной базе данных (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) алгоритм BLAST		
		Инвентарный номер GeneBank (Accession number) или коллекционный номер штамма	Наименование штамма	% совпадения
14-Salmonella dublin 15 S	GAGGGGGATACTACTGGAACGGTGGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTTGCCATCAGATGTGCCCATGATGGGATTAGCTTGTGGTGGTAAACGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAGTACTTTCAGCGGGGAGGAAAGTGTGGTAAATAACCACAGCAATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGACGACGGCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAATCCCCGGGCTCAACTGGGAAGTGCATTCGAAACTGGCAGGCTTGAGTCTTGTAGAGGGGGTGGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCTACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCGGAGCTAACGCGTTAAGTAGACCGCTGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAAGTCAAATGATTGACGGGGGCCGACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACGGAAGTTTTAGAGATGAGAATGTGCCTTCGGGAACCGTGAAGCAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGATTAGGTCGGGAAGTCAAAGGAGACTGCCAGTATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACAGTGTCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGAGCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTGCCTCG	NR_074800.1	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Choleraesuis str. SC-B67 strain	99%
		NR_074899.1	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Paratyphi C strain RKS4594	99%
		NR_074935.1	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Paratyphi A str. AKU_12601 strain AKU12601	99%

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* 15S, 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. Установлено, что вакцинный штамм не контаминирован посторонней микрофлорой.

Заключение В результате проведенных исследований, установлено что вакцинный штамм *S. dublin* 15S сохранил культурально-морфологические, биохимические, серологические и генетические свойства после хранения в холодильнике при температуре от +4 до +8 °С соответствии с паспортными данными и может использоваться при изготовлении вакцины против сальмонеллеза телят. Высокая идентичность нуклеотидной последовательности 16S rRNA гена изучаемого штамма позволяет использовать его в качестве матрикса при изготовлении вакцины.

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. Алескеров З.А. Токсигенные свойства сальмонелл // Ветеринария.- 2005.- №8.- С. 31-37.
4. Матвиенко Б.А. Актуальные вопросы иммунопрофилактики сальмонеллезов животных // Болезни сельскохозяйственных животных: тр. Алма-Атинского зооветинститута. – 1986.- С. 32-53.
5. Калина Г.П. Изменчивость патогенных микроорганизмов. Киев: Государственное медицинское изд-во УССР 1949. С. 55- 57.
6. Кауфман Ф. Семейство кишечных бактерий. М: Медгиз, 1959. – С.86 -87.
7. Антонов, Б.И. и др. Лабораторные исследования в ветеринарии [Текст]: Справочник. М.: Агропромиздат,, 1986.- 352 с.
8. Лабинская, А.С. Микробиология с техникой микробиологических методов исследований. М.: Медицина, 1968. –С. 336-340.
9. 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.
10. URL: [http://www. Biochemmack.ru](http://www.Biochemmack.ru)
11. 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.
12. 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

Сведения об авторах:

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

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

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

Нурмуханбетова М.К.- лаборант лаборатории бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Түйін

SALMONELLA DUBLIN ВАКЦИНАЛЫҚ ШТАММЫНЫҢ БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРІНІҢ САҚТАЛУДАН КЕЙІНГІ ТҰРАҚТЫЛЫҒЫ

Егорова Н.Н., Мұсаева А.Қ, Даугалиева А.Т., Нұрмұханбетова М.К.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада бұзау сальмонеллезіне қарсы вакцина дайындауға пайдаланылатын *Salmonella dublin* 15 S вакциналық штаммының биологиялық қасиеттерін және генетикалық ерекшеліктерін зерттеу нәтижелері келтірілген.

Кілттік сөздер: сальмонеллез, бұзаулар, вакцина, *Salmonella dublin*, штамм, нуклеотидтер тізбегі, геном, спецификалық профилактика

Summary

THE STUDY OF STABILITY BIOLOGICAL PROPERTIES OF THE VACCINE STRAIN SALMONELLA DUBLIN AFTER STORAGE

Yegorova N.N., Mussayeva A.K., Daugalieva A.T., Nurmuchanbetova M.K.

«Kazakh scientific-research veterinary institute» LLP

The article presents the results of studies of biological properties and genetic characteristics of the vaccine strain *Salmonella dublin* 15S after storage, used to make a vaccine against salmonellosis of calves.

Keywords: salmonellosis, calves, vaccine, *Salmonella dublin*, strain, the nucleotide sequence, genome, specific prevention

УДК 616.981.42.63.662

МОНИТОРИНГ И АНАЛИЗ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО БРУЦЕЛЛЕЗУ МЕЛКОГО РОГАТОГО СКОТА В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН ЗА 2007 ПО 2015 ГОДЫ

А.Е. Ешмухаметов, К.К. Бейсембаев, Ж.С. Асауова, А.О. Султанова

АО «Казахский агротехнический университет им. С.Сейфуллина»

Резюме: В ходе изучения было установлено, что в Республике Казахстан эпизоотическая ситуация по бруцеллезу мелкого рогатого скота, очень сложная, что не позволяет сделать вывод об искоренении бруцеллеза в ближайшее время. Сохранению стабильно сложной эпизоотической ситуации по бруцеллезу мелкого рогатого скота, способствуют несовершенство противоэпидемических и противоэпизоотических мероприятий, что в свою очередь отражается на уровне заболеваемости бруцеллезом животных. Высокая напряжённость эпизоотической ситуации по бруцеллезу мелкого рогатого скота будет сохраняться в Жамбылской, Восточно-Казахстанской и в Алматинской областях. Возникновение и распространение заболевания на последующие годы будет зависеть от разрыва эпизоотической цепи, применения современных методов диагностики, а также от соблюдения требований ряда общих организационно-хозяйственных и ветеринарно-санитарных мероприятий

Ключевые слова: бруцеллез, эпизоотическая ситуация, мониторинг, анализ, диагностика.

Введение По данным экспертного комитета ВОЗ в мире существуют более 100 зоонозных инфекций. По этиологическому признаку зоонозные инфекции подразделяются на вирусные, риккетсиозные, хламидийные, бактериальные, грибковые, протозойные, миазы [1,8].

Актуальность борьбы с зоонозными инфекциями обусловлена широким повсеместным распространением в регионах с животноводческой ориентацией хозяйств, несовершенством противоэпидемических и противоэпизоотических мероприятий, постоянным супер- и реинфицированием в очагах инфекции, трудностями лабораторной и клинической диагностики, высоким потенциалом хронизации [2,7]. В соответствии с годовыми отчётами Республиканского научно-практического центра санитарно-эпидемиологической экспертизы и

мониторинга одной из приоритетных зоонозных болезней для Казахстана является – бруцеллез.

Бруцеллез животных представляет собой серьезную проблему для здравоохранения из-за его высокой патогенности для человека и является одним из самых важных зоонозных заболеваний в мире [3].

Бруцеллез – это заболевание, которое вызывает значительные экономические потери в секторе животноводства, оказывает серьезные последствия для международной торговли животными и продуктами животного происхождения, и согласно Международному эпизоотическому бюро подлежит обязательному декларированию. Эта болезнь свойственна многим регионам мира и отличается высокой степенью заболеваемости, особенно среди незараженного ранее поголовья. Смертность обычно низкая, но распространение происходит очень быстро в тех стадах и регионах, где присутствует это заболевание [4,5,6].

Источниками заражения человека главным образом являются прямой контакт с зараженными животными и употребление молочных продуктов без термической обработки [2,3].

Профилактика и снижение заболеваемости людей бруцеллезом тесно связаны с распространением бруцеллеза среди животных, поэтому проведение мониторинговых исследований и анализ распространения бруцеллеза мелкого рогатого скота в Республике Казахстан, а также выявление территориальной приуроченности заболевания животных, являются важными компонентами в профилактике и борьбе с указанной инфекцией.

Материалы и методы исследований В обработке данных использовались отчетные данные всех областных и региональных филиалов РГП на ПХВ «Республиканская ветеринарная лаборатория» за 2007-2015 годы. На основании представленной информации, а также применяя значения основных эпизоотологических показателей (% зараженности, напряженность эпизоотической ситуации и т.д.) проводился анализ динамики проявления эпизоотического процесса при бруцеллезе мелкого рогатого скота.

В качестве оценки риска использовалось количество заболевших животных на определенной территории.

Результаты и обсуждение Серологический мониторинг заболеваемости бруцеллезом мелкого рогатого скота проводился классическими методами. При этом было установлено, что бруцеллез овец и коз выделяется во всех областях республики и эпизоотическая ситуация выглядит следующим образом (таблица 1).

Как указывают данные таблицы, за анализируемый период из всех областей самый высокий показатель заболеваемости установлен в Жамбылской области с количеством больных - 99710 голов, что составляет 29,3% от всего выявленного больного скота, за которым следует Восточно-Казахстанская область (47363 или 14%) и Семейский регион (33790 или 10%). В следующих позициях «лидерства» расположены Алматинская и Талдыкорганская области 8,2 и 8,0 %, соответственно. Самое наименьшее

выделение больных животных, было отмечено в Жезказганской области 69 голов и в Северно-Казахстанской области – 370 голов. Выявление больно-го бруцеллезом скота отсутствует только в Мангистауской области.

Более наглядно, динамика заболеваемости бруцеллезом мелкого рогатого скота в разрезе регионов республики за период с 2007 по 2015 годы представлена на рисунке 1.

Таблица 1 – Общее количество выявленных больных бруцеллезом животных в разрезе областей Казахстана, за 2007 по 2015 годы

№ п/п	Наименование филиалов	Вид жив-го	Количество выявленных больных бруцеллезом животных по годам									Всего за 9 лет
			2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	
1	Акмолинский	Мелкий рогатый скот	15	88	15	471	557	1 196	2151	2652	2260	9405
2	Актюбинский		832	912	3242	3090	2477	2825	3868	3953	3570	24769
3	Алматинский		1948	1901	4195	2584	2264	2843	3700	5181	3196	27812
4	Талдыкорганский		1343	2461	2086	4969	2890	2213	3155	4226	4036	27379
5	Атырауский		117	261	440	435	427	332	1206	1853	1661	6732
6	ВКО		761	3119	7775	4652	4494	6060	7674	7472	5356	47363
7	Семейский		1098	1890	6796	4634	2806	3858	5763	4283	2662	33790
8	Жамбылский		11256	15148	12176	10976	12329	11540	10195	10920	5170	99710
9	ЗКО		387	362	1400	1652	1648	3085	2042	2077	2888	15541
10	Карагандинский		669	692	1343	640	684	614	798	881	990	7311
11	Жезказганский		0	18	0	0	0	0	0	51	0	69
12	Костанайский		59	64	947	1826	741	387	561	697	266	5548
13	Кызылординский		716	789	1223	715	564	636	1183	916	199	6941
14	Мангистауский		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	Павлодарский		44	107	369	663	426	457	205	1371	889	4531
16	СКО		6	0	11	30	151	35	79	34	24	370
17	ЮКО		1684	3536	3823	2370	2200	2410	2336	2983	1454	22796
	ВСЕГО		20935	31348	45841	39707	34658	38491	44916	49550	34621	340067

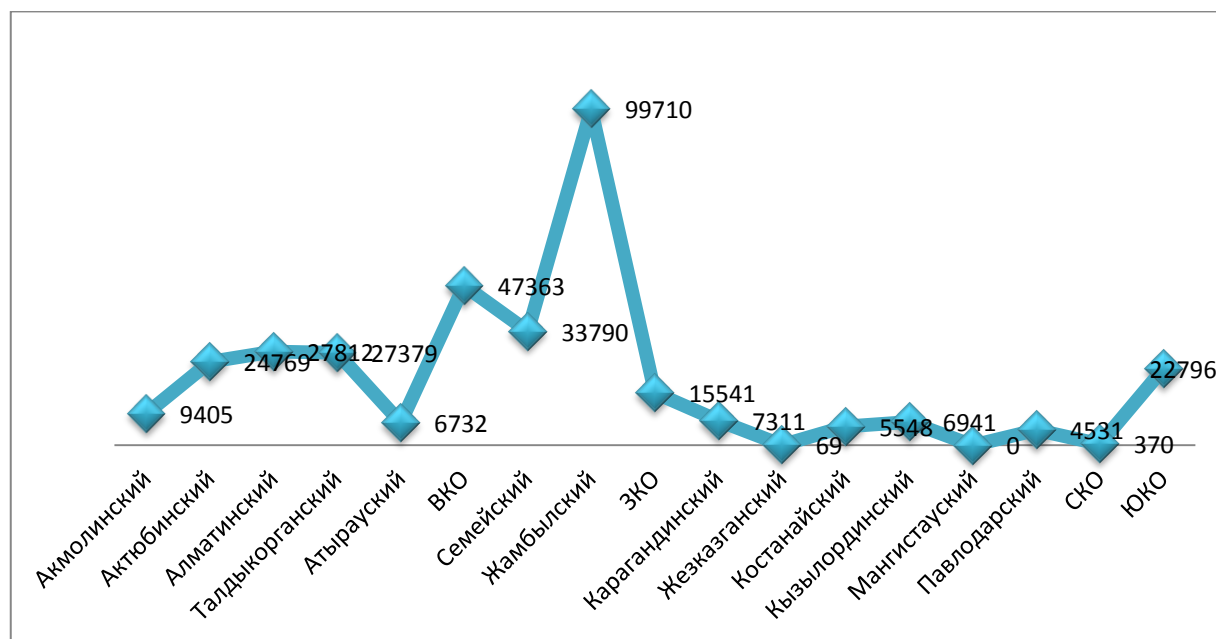


Рисунок 1 – Общее количество выявленных больных бруцеллезом овец и коз, за период с 2007 по 2015 годы в Республике Казахстан

Необходимо отметить, что ситуация по бруцеллезу среди мелкого рогатого скота почти во всех областях очень сложная, отмечается низкая тенденция к снижению заболеваемости, соответственно в последующие годы существует риск возникновения новых вспышек болезни.

На развитие эпизоотического процесса бруцеллеза мелкого рогатого скота в республике (рисунок 1), могли повлиять следующие факторы, а именно: несвоевременное отделение от стада и убой положительно реагирующих животных (передержка), недостаточное и несвоевременное проведение ветеринарно-санитарных мероприятий в хозяйствах, где были выделены положительно реагирующие на бруцеллѐз животные (дезинфекция, дератизация, механическая очистка, заключительная дезинфекция, контроль качества дезинфекции и т.д.), не полный охват поголовья при проведении идентификации животных и несвоевременное введение их в базу данных по идентификации животных, слабый контроль за движением скота, отсутствие карантинирования вновь ввезѐнных в хозяйства животных из других районов, областей, недостаточная разъяснительная работа с населением и др. Кроме этого, отсутствие четкой программы и единого инструмента (вакцины) по специфической профилактики бруцеллеза мелкого рогатого скота в специализированных и в особенности в крестьянских фермерских хозяйствах, а также частном подворье.

Выше указанные причины, могут привести к риску еще большего распространения болезни или сохранять сложную эпизоотическую ситуацию по бруцеллѐзу мелкого рогатого скота в республике.

Заключение При несвоевременном проведении или невыполнении соответствующих ветеринарных мероприятий бруцеллез овец и коз получит еще более широкое распространение особенно в Жамбылской, Восточно-Казахстанской и Алматинской областях, а в других регионах, возможно, сохранится на прежнем уровне или с незначительным увеличением заболеваемости животных.

При соблюдении и использовании закономерностей эпизоотического процесса, можно контролировать заболевание. Для этого надо безукоризненно выполнять ветеринарные нормы и правила, рационально применять научные рекомендации и эффективно использовать выделяемые материальные ресурсы.

Литература

1. Brucellosis in humans and animals (WHO/CDS/EPR/2006).
2. Brucellosis in sheep and goats (*Brucella melitensis*). Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare. SANCO, European Commission. 2001.
3. Bovine Brucellosis and Caprine Brucellosis. OIE Terrestrial Manual. 2010.
4. Бессарабов Б.Ф., Вашутин А.А., Воронин Е.С., Сидорчук А.А., Инфекционные болезни животных // Учебник, 2007. – С. 153.

5. Olsen, S., Tatum, F.: Bovine brucellosis. Vet Clin North Am Food Anim Pract 2010, 26: p.15-27.

6. Franco, M.P., Mulder, M., Gilman, R., Smits, H.L. Human brucellosis / Lancet Infect Dis 2007; 7: 775-86.

7. Абдрахманов С.К., Джаилбекова А.С., Бейсембаев К.К., Тюлегенов С.Б. Экспериментальное изучение возможности применения ФПА для диагностики бруцеллёза крупного рогатого скота // Многопрофильный научный журнал Костанайского государственного университета им. А. Байтурсынова «3i: intellect, idea, innovation – интеллект, идея, инновация». - №1, март 2015г. – С.6.

8. Beisembayev, K. Improvement of methods of bovine anaplasmosis diagnostics // 13th SGEM GeoConference on Nano, Bio And Green – Technologies For A Sustainable Future, www.sgem.org, SGEM2013 Conference Proceedings, ISBN 978-619-7105-06-3 / ISSN 1314-2704, June 16-22, 2013, 163p.

Сведения об авторах:

Ешмухаметов Амангелды Ембергенович – кандидат ветеринарных наук, старший преподаватель кафедры ветеринарной санитарии Казахского агротехнического университета имени С. Сейфуллина, г. Астана

Бейсембаев Канатжан Каиргельдинович – доктор PhD, старший преподаватель кафедры ветеринарной санитарии Казахского агротехнического университета имени С. Сейфуллина, г. Астана

Асауова Женисгуль Сейткалиевна – кандидат ветеринарных наук, старший преподаватель кафедры ветеринарной санитарии Казахского агротехнического университета имени С. Сейфуллина, г. Астана

Султанова Айгуль Орынбековна – магистр ветеринарных наук, ассистент кафедры ветеринарной санитарии Казахского агротехнического университета имени С. Сейфуллина, г. Астана

Түйін

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНДАҒЫ МҮЙІЗДІ УАҚ МАЛДЫҢ БРУЦЕЛЛЕЗ АУРУЫ БОЙЫНША ЭПИЗООТИЯЛЫҚ ЖАҒДАЙЫНЫҢ МОНИТОРИНГІ ЖӘНЕ ТАЛДАУЫ

Ешмухаметов А.Е., Асауова Ж.С., Бейсембаев Қ.Қ., Сұлтанова А.О.
С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті

Қазыргы таңда Қазақстан Республикасындағы ұсақ қара мал бруцеллезінің эпизоотикалық ахуалы өте ауыр, жақын ауқытта түп тамырымен құрту мүмкін емес. Ауру жануарлардың деңгейінің жоғарлауына эпидемияға және эпизоотияға қарсы шаралардың жетілмеуі

өз көлеңкесін тигізуде, сондай-ақ эпизоотиялық жағдайдың тұрақтылығын сақтап қалу қиынға түсуде.

Алматы, Шығыс-Қазақстан, Жамбыл областарында ұсақ қара малдардың бруцеллездің күрделі эпизоотиялық жағдайы сақталуда. Алайда, алдағы уақытта індеттің таралуы, шығуы қазырғы таңда қолданып жатқан ветеринариялық санитариялық шаралары мен шарушылықтардың ұйымдастыру шараларына, диагностиканың заманауи әдістеріне байланысты болады.

Кілттік сөздер: бруцеллез, эпизоотиялық жағдай, мониторинг, талдау, диагностика.

Summary

MONITORING AND THE ANALYSIS EPIZOOTIC SITUATIONS OF BRUCELLOSIS OF CATTLE IN REPUBLIC KAZAKHSTAN

Eshmukhametov A.E., Asauova J.S., Beisembayev K.K., Sultanova A.O.

Kazahsky Agrotechnical University named after S. Seifullin

During the study it was found that in the Republic of Kazakhstan epizootic situation on brucellosis of sheep and goats, it is very difficult, which does not allow to conclude that the eradication of brucellosis in the near future. Maintaining the stability of complex epizootic situation on brucellosis of sheep and goats, promote anti-imperfection and anti-epizootic measures, which in turn is reflected in the level of animal brucellosis.

The high intensity of the epizootic situation of brucellosis of sheep and goats will be maintained in Zhambyl, East Kazakhstan and Almaty regions. The emergence and spread of the disease over the next few years will depend on the gap epizootic chain, application of modern methods of diagnosis, as well as compliance with a number of common organizational, economic and animal health measures.

Keywords: brucellosis, epizootic situation, monitoring, analysis, diagnosis.

УДК: 619:616.98:636.2

ПРИЖИЗНЕННАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ТУБЕРКУЛИНОВЫХ РЕАКЦИЙ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

**Жумаш А.С., Шаймбетова А.К., Бакиева Ф.А., Наутиев Н.И.,
Еспанов Ж.У., Боранбаева Р.С., Сейтжанова У.У.**

Ключевые слова: туберкулинизация, дифференциация, симультанная и пальпебральная проба, санация, крупный рогатый скот

Резюме. В статье приведены результаты прижизненной дифференциации специфических туберкулиновых реакций от неспецифических; экономические потери при неправильной постановке диагноза на туберкулез в благополучных хозяйствах, роль качественной санации животноводческих помещений, необходимость определения качества дезинфекции.

Одним из важнейших условий увеличения производства высококачественных продуктов животноводства является проведение ветеринарных мероприятий по профилактике и ликвидации зооантропонозных болезней, в т.ч. туберкулеза животных, который наносит значительный экономический ущерб животноводству и представляет определенную опасность здоровью человека.

Уникальная «выживаемость» и относительно высокая устойчивость возбудителей туберкулеза в организме и во внешней среде, а также восприимчивость к нему практически всех видов животных и человека делает эту инфекцию трудно искоренимой [11].

При туберкулезе крупного рогатого скота хозяйствующие субъекты несут большие экономические потери от снижения продуктивности и преждевременного убоя животных, утилизации туш и определенных затрат на проведение противотуберкулезных мероприятий.

По данным сотрудников ВГНКИ (1968 г) ущерб на одну заболевшую туберкулезом голову КРС с учетом расходов на специальные мероприятия в среднем по Союзу составил 106 руб. 26 коп [1]. В. И. Пионтковский (1989 г) отмечает, что средняя величина наносимого туберкулезом ущерба в условиях Северного Казахстана составил в расчете на одну голову КРС 17 154 рубля в год [2]. По данным А.С. Жумаш (1999 г.) в хозяйствах мясного направления Западно-Казахстанской области общие потери от преждевременного убоя, реагировавшего на туберкулин скота, составляют до 77,2% мясной продукции или до 49,5% в убойном весе [3].

Сумма убытков, причиняемых туберкулезом бычьего вида сельскому хозяйству всего мира, достигает ежегодно 3 млрд долларов (Garniez T. et.al., 2003)

Во всем мире ведется борьба с туберкулезом животных, на основании национальных и международных программ, с учетом биологических особенностей вида возбудителя и его патогенности.

На начало 1991 г 17 областей республики были неблагополучными по туберкулезу, где было сосредоточены 430 неблагополучных пунктов. Выделено реагировавших на туберкулин 63905 голов КРС, зараженность по республике составила 5,2 %. В 337 благополучных по туберкулезу хозяйствах 15 областей выделено 31047 (1,4%) реагировавших на ВТП

КРС, из них в 24 хозяйствах диагноз на туберкулез был подтвержден послеубойным исследованием на мясокомбинатах [4].

Широкое распространение туберкулеза среди КРС имело место, в основном, в хозяйствах молочного направления. При этом на зону Северных областей Казахстана приходится 76,9% больных и 98,4% передерживаемых в хозяйствах животных по республике. Соответственно на зону Центрального Казахстана – 4,4%; 0,52%; Западного Казахстана – 8,9%; 1,0%; Юго-Востока республики – 9,6%; 0,4% [5].

За последнее десятилетие эпизоотическая обстановка по туберкулезу КРС в хозяйствующих субъектах республики значительно улучшилась и стабилизировалась. Снижение заболеваемости туберкулезом КРС в РК объясняется резким сокращением поголовья скота (с 14,2 млн в 1991 г до 7,0 млн на начало 2015 года), а также значительной концентрацией поголовья скота в мелкотоварных фермах, крестьянских хозяйствах и в частных подворьях.

Однако в отдельных хозяйствующих субъектах республики регистрируется значительное количество реагирующего на туберкулин скота. Например, в 2002 г было выделено из исследованного скота 2231, а в 2008 г – 562, в 2012 – 3169, а в 2014 г – 336 голов реагировавших на туберкулин животных.

При убое этих животных и ВСЭ (ветеринарно-санитарной экспертизе) туш специфических изменений свойственных туберкулезу местные ветеринарные работники в ряде случаев не устанавливали, а немногочисленные анализы лабораторных исследований дали отрицательный результат. Поэтому такие реакции считали неспецифическими. Неспецифические реакции вызывают, в основном, атипичные микобактерии, которые отличаются от истинных патогенных и сапрофитных микобактерий по морфологическим и биологическим свойствам и не вызывают туберкулез у лабораторных животных. Заболевания, вызванные атипичными микобактериями, принято называть микобактериозами (Freezkgen, 1960). В настоящее время известно более 300 видов, подвидов и вариантов атипичных микобактерий [6], хотя по классификации D.Berdey (1980) их всего 31, в то же время Международный подкомитет по микобактериям, утвердил только 26 видов микобактерий [7]. Атипичные микобактерии в большинстве случаев находятся в почве, попадают в организм человека и животных из внешней среды, где могут находиться в содержимом желудка, моче. Они могут происходить и от типичных микобактерий туберкулеза в результате воздействия на них самых разнообразных факторов [8].

Причинами неспецифических реакций могут быть также возбудители туберкулеза птичьего вида, паратуберкулеза и узелкового дерматита (*Dermatitis nodosa*). Неспецифические реакции условно подразделяют на парааллергические, когда сенсibilизация организма животных возникает

под воздействием разных видов «нетуберкулезных» микобактерий, и псевдоаллергические, обусловленные причинами немикобактериального характера лейкозные, грибковые, паразитарные изменения (травмы и др.) [9,10,11,12]. В неблагополучных хозяйствах по мере снижения заболеваемости туберкулезом возрастает частота проявления неспецифических реакций на туберкулин, что ведет иногда к необоснованному убою животных и затратам на проведение противотуберкулезных мероприятий.

В Алматинской области при исследовании 60867 голов КРС в период 2001-2009 годы выявлено 1324 (2,1%) реагирующих на ВТП коров, с утолщением кожной складки от 3-13 мм. При диагностическом убое 65 коров специфических изменений свойственных туберкулезу не обнаружено. При этом установлено эхинококковое поражение легких и печени; гиперплазия с кровоизлияниями в поверхностных лимфоузлах. Бактериологическим исследованием биоматериала взятых из этих животных МТ не выделено, в 3-х случаях выделили атипичные микобактерии III группы по классификации «Раньона». Только за 2001-2009 годы в 4 хозяйствах предотвращен неоправданный убой 742 голов практически здорового, в основном племенного скота. В силу чего предотвращенный экономический ущерб составил 29,9 млн тенге [13]. Однако в статье авторы не указывают на нестабильность показаний реакции, т.е. у сколько животных возникали реакции, через какое время они исчезали, и проявлялись ли у других содержащихся с ними животных при последующем проведении диагностических исследований.

Для прижизненной дифференциации туберкулиновых реакций исследователи применяли экспресс-метод «Жедел ажыратудың тиімділігі» или «ЖАТ адис» иннов.патент № 24206 от 13.02.2011 г. Для этого реагировавшим животным внутривенно вводили «Комплексный аллергодепрессант КазНИВИ» в течение 4-х суток по 100,0 см³ 20%-го раствора борглюконата кальция и внутримышечно – 5 мл 20% раствора нитамина содержащего витамины А, Д, Е, С и подкожно – 2 мл 20%-го раствора кофеина. После чего через 7-10 суток животных переисследовали одновременно пальпебральной и ВТП, при одновременном учете реакций через 72 часа во многих случаях получили отрицательный результат. При убое 6 животных специфических изменений свойственных туберкулезу не установили. При исследовании 24 проб патологического материала, взятых из этих животных выделили 13 культур микобактерий и все были отнесены по культурально-морфологическим признакам к атипичным микобактериям, в основном (9 культур) II группе фотохромогенных микобактерий. На основании лабораторных и собственных аллергических исследований дали заключение 3-м хозяйствам, что КРС заражен атипичными микобактериями, туберкулиновые реакции у реагирующего скота считали неспецифическими, а указанные хозяйства благополучными по туберкулезу КРС [13]. При последующих ежегодных исследованиях

ветеринарные врачи хозяйств реагировавших животных оставляли в стаде, и противотуберкулезные мероприятия не проводили.

Через 2 года на одной из МТФ вышеуказанных хозяйств нами исследовано на ВТП 850 голов КРС. При этом позитивные реакции получили у 72 (8,4%) животных, в т.ч. 46 дойных коров и 26 половозрелых телок. Из названных животных контрольно-диагностическому убою подвергли двух коров и при ВСЭ туш установили казеозно-некротический туберкулез в легких, печени и подчелюстных, заглочных, средостенных и брыжеечных лимфоузлах [Рис 1, 2, 3, 4].



Рисунок 1 - Туберкулез мезентериальных лимфатических узлов



Рисунок 2 - Туберкулез средостенного лимфоузла

Рисунок 3 - Очаговый туберкулез подчелюстного лимфоузла

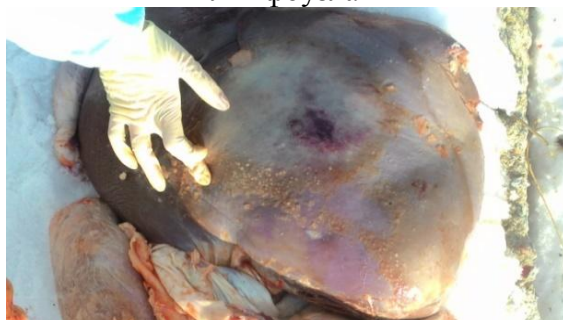


Рисунок 4 - Туберкулезные поражения печени и селезенки

При повторном исследовании через 45-60 дней 778 животных было выделено 68 (8,7%) голов с утолщением кожной складки от 5 мм и выше, болезненные с местной температурой. От 101 животного 2-6- месячного возраста выделено 19 (18,8%) реагирующих, что косвенно доказывает о

заражении туберкулезом взрослого поголовья, которые в свою очередь через молоко заразили телят.

На вскрытии животных, наряду с генерализацией туберкулезного процесса и жемчужницей грудной полости, обнаружили почти у всех коров гнойно-некротическое, казеозное поражение мезентериальных лимфоузлов, что бывает на практике очень редко. Бактериологическим методом из биоматериала 8 коров выделены МТ бычьего вида средней и высокой вирулентности, также культура МТ выделялась из проб молока и из смывов объектов внешней среды [рисунок 5].



Рисунок 5 - Культура МТ выделенная из навоза

При третьем исследовании выделено еще 45 (7,2%) голов КРС и 5 племенных быков-производителей, завезенных из зарубежья [рисунок 6], поэтому было решено все поголовье МТФ сдать на убой. В данные время на ферме проводится капитальный ремонт и санация территории.

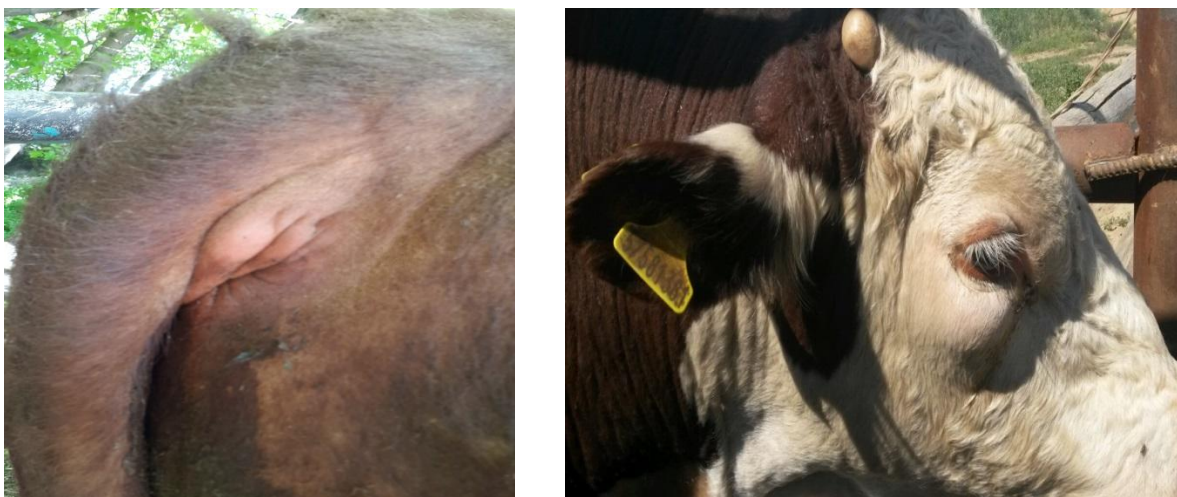


Рисунок 6 - Положительная подхвостовая и пальпребральная проба у быков

Как видно из вышеизложенного применение иммунодепрессанта не дало желаемого эффекта.

Причиной столь высокого поражения туберкулезом КРС МТФ, может быть оставление в стаде больных животных, у которых реакции оценивались как неспецифические, а также в результате неправильной прижизненной дифференциации туберкулиновых реакций, при содержании животных на глубокой несменяемой подстилке инфицированный возбудителем туберкулеза, неправильная перегруппировка животных, вливание животных из другой фермы не исследованных на туберкулез, занос возбудителя болезнью обслуживающим персоналом не прошедшим медицинский осмотр, передвижной техникой обслуживающих животных и кормлением грубыми кормами заготовленными из территории не известной по эпизоотической ситуаций.

Поэтому ветеринарным врачам хозяйствующих субъектов необходимо повышать ответственность при диагностике туберкулеза КРС. После заключения научных работников или вышестоящих уполномоченных органов, следует тщательно осмотреть туши вынужденно или специально убитых животных и строго выполнять ветеринарно-санитарные требования и других противотуберкулезных мероприятия, направленных на сохранение благополучия стада от туберкулеза

Научным работникам, особенно практическим ветеринарным врачам республики необходимо помнить, что климатические условия и характеристика почвы нашей республики резко отличаются, от Прибалтийских республик и отдельных регионов РФ, где часто регистрируется «неспецифические реакции». В этих республиках для подстилки использовали торф, при замене его опилками реакции у животных постепенно исчезали. Неспецифическую реакцию к туберкулину могут вызвать также антигены некробактерий и актиномицеты [14].

Для прижизненной дифференциации специфических реакций от неспецифических учеными Казахстана предложено много схем и рекомендаций, которых следует правильно применять.

В благополучных хозяйствах заражение животных происходит в основном алиментарным путем, при приеме обсемененного корма, завезенного или заготовленного в неблагополучных пунктах и при выпойке из непроточных водоисточников, а также аэрогенно с частицами пыли и аэрозолей, особенно среди животных, содержащихся в антисанитарных условиях. Осевшие из воздуха микобактерии туберкулеза, равно как и выделенные с фекалиями, могут оставаться в животноводческих помещениях, на выгульных площадках, прилегающих территориях, почве, навозе и др. объектах среды обитания животных жизнеспособными от нескольких дней или месяцев до десяти и более лет. Так как навоз служит защитной средой патогена, от действия неблагоприятных факторов.

Длительная выживаемость микобактерий во внешней среде обусловлена высоким содержанием липидных веществ в самой клетке. При отсутствии инсоляции и наличии высокой влажности и значительной загрязненности поверхности органическими веществами они сохраняют выживаемость до 3 лет [15].

Во многих хозяйствующих субъектах ограничение по туберкулезу снимают осенью или зимой, поэтому санация скотопомещений проводится некачественно, в связи с неблагоприятными погодными условиями, качество дезинфекции не определяют. Дезинфекцию проводят только раствором каустической соды. При исследовании смывов из внешней среды, взятых из 5 хозяйствующих субъектов Жамбылской и Алматинской областей после дезинфекции были выделены МТ бычьего вида в 6 и культуры атипичных микобактерий в 3 случаях. Это свидетельствует о некачественной дезинфекции и санации животноводческих помещений. Поэтому желательно первые год-два после снятия ограничения по туберкулезу проводить дезинфекцию 4%-ным щелочным раствором формальдегида, согласно рекомендациям Всероссийского института туберкулеза и бруцеллеза (Омск, 1989 г) [11]. В хозяйствующих субъектах, оздоровленных путем полной замены больного скота здоровым, в последующем через 1-2-3 года снова отмечали случай выделения реагирующих животных. Такие факты имели место в Карагандинской, Западно-Казахстанской, Актюбинской и Алматинской областей. При этом многие практические врачи не только не проводят прижизненную дифференциацию аллергических реакции, но и не выполняют план ПЭМ. Отдельные ветврачи скрывают случай туберкулезных поражений животных и тем самым способствует ухудшению эпизоотической и эпидемической ситуации. Антисанитария на ферме, бесконтрольное использование навоза для удобрений, некачественная очистка скотопомещений и прилегающей территории, и некачественная

дезинфекция осложняют экологическую обстановку. Поэтому поводу лауреат нобелевской премии М.Бернет писал: «Чтобы понять и, в конечном счете, успешно бороться с инфекционными болезнями, гораздо полезнее изучать, каким образом патогенный вид выживает в природе, чем понимать процесс инфицирования. Можно до бесконечности выявлять, обнаруживать инфицированных и больных животных, оставляя без внимания возбудителя во внешней среде. Однако меры, приводящее к гибели возбудителя во внешней среде, прекращают цепь перезаражений».

Академик А.А. Поляков писал: «Решить проблемы ликвидации туберкулеза без регулярной очистки и дезинфекции невозможно. Сколько бы раз не сменяли больных животных здоровыми, если объект среды обитания останется не обеззараженными, вновь размещенные животные в таких условиях рано или поздно заболевают туберкулезом». Поэтому основу эпизоотического процесса составляют экологические условия, в которых находится популяция паразита (возбудителя) и популяция хозяина [16].

В Казахстане тоже начали чаще наблюдать неспецифические туберкулиновые реакции в различных хозяйствующих субъектах. Однако работ по выделению МТ из различных почв или растений по республике нет. Нами были выделены культуры атипичных микобактерий, сапрофитов, микобактерий бычьего вида из проб воды, взятых из непроточных водоемов, из смывов объектов внешней среды, из скотопомещений, выгульных дворов и из биологического или патматериала, реагировавших на туберкулин животных из различных хозяйств республики за период работы в 1970-1997 годы. С 2000 г больше выделялись атипичные микобактерии из исследованных биоматериалов. По нашим наблюдениям если не принять ветеринарно- санитарные меры, то через 3-4 года в таких хозяйствах будут регистрировать специфический туберкулез, как это было в колхозе «Социализм», им. Калинина Актюбинской и в совхозе «Дружба» Алматинской области. В отдельных случаях при бактериологическом исследовании из биоматериала животных, на вскрытии у которых видимых изменений не обнаруживают, выделяли МТ бычьего вида, и атипичные микобактерии т.е. смешанную форму микобактерий. Этот феномен нами защищён в 2005г предпатентом РК №17801 [рисунок 7] .



Рисунок 7 - Типичные и атипичные культуры микобактерий на среде Гельберга

По данным международного эпизоотического бюро (ОIE), туберкулез встречается почти во многих государствах мира, где разводят крупный рогатый скот. За 2001-2007 годы зарегистрировано 64116 очагов туберкулеза, где было выявлено 253220 больных животных. При этом 79% очагов регистрировалось в европейских странах, на американском континенте 15,2%, в странах Азии – 1,93% очагов [17], что указывает на актуальность этой тематики. Расширяющийся импорт животных в страну требует постоянного учета всех доступных данных об изменениях эпизоотической обстановки по туберкулезу в странах мира, чтобы гарантировать безопасность завоза не только животных, но и продукции животноводства.

С учетом напряженной обстановки по данному заболеванию в мире на рубеже второго и третьего тысячелетий ВОЗ и Международный союз борьбы с туберкулезом объявили эту болезнь «Проблемой всемирной опасности» и «Экономическим бедствием XXI века» и официально обозначили 24 марта – Всемирным днем борьбы с туберкулезом.

Прижизненную дифференциацию неспецифических реакций проводили путем повторного учета результатов у реагировавших животных на туберкулин через 24 часа; применение малых доз туберкулина (5000 ТЕ), повторное исследование через 4 дня пальцебральной, через 14 дней методом «бустер-эффекта», внутривенной и симультанной туберкулиновой пробами.

Симультанную пробу проводили туберкулином для млекопитающих и птиц. Животные, зараженные микобактериями туберкулеза птичьего вида, дают повышенную реактивность на туберкулин для птиц и меньшую на туберкулин для млекопитающих, при заражении бычьим видом наоборот.

Так, в РФ за 2001-2013 годы выявлено 758725 голов, реагирующих на туберкулин КРС, из них в неблагополучных хозяйствах выявлено – 9,6%, а в благополучных – 90,3%. При этом животные сильнее реагировали на

КАМ или ППД-туберкулина для птиц, что способствует уменьшению численности подвергающегося диагностическому убою скота. В РФ в практических условиях, реагирующих животных сдают на убой, а в некоторых случаях под видом «неспецифических реакций», оставляют тоже в стаде, такие животные могут быть источником названной инфекции [18].

Благополучие хозяйств по туберкулезу необходимо контролировать исследуя все поголовье крупного рогатого скота внутрикожной пробой 2 раза в год. Решающим в диагностике является патологоанатомическое вскрытие и лабораторное подтверждение туберкулеза у животных, убитых с диагностической целью.

В случае выявления реагирующих животных в благополучных стадах необходимо их взять на строгий учет, изолировать и через 30-45 дней проводить симультанную пробу на одной стороне шеи путем введения ППД- туберкулина для млекопитающих и ППД- туберкулина для птиц на расстоянии 12-15 см друг от друга. Результаты учитывают индивидуально по каждой корове.

Диагностическому убою необходимо подвергать животных, более интенсивно реагирующих на соответствующий туберкулин или, при отсутствии таковых, реагирующие в равной степени на ППД – туберкулин для млекопитающих и ППД - туберкулин для птиц. При отсутствии свойственных туберкулезу изменений и отрицательных результатов лабораторных исследований биоматериала, стада КРС считают благополучными. Реагирующих животных оставляют в стадах, а продукцию от них сбывают без ограничений.

В целях дифференциации специфичности туберкулиновых реакции в ТОО «Аккайн» исследовали одновременно ВТП и пальпебральной туберкулиновой пробой 393 коровы, реагировало на ВТП 16 (40%), на пальпебральную – 19 (4,8%). На обе пробы реакции совпали в 14 (76,1%) случаях. При исследовании животных с совпадающей реакцией внутривенной туберкулиновой пробой у всех отмечали повышение температуры тела на 1,1-1,8°C. При убое 5 коров, с совпадающей реакцией на вышеуказанные тесты установили специфические изменения, свойственные туберкулезу.

В КХ «Алуа» 17 коров с утолщением кожной складки на 3-4 мм переисследовали через 14 дней методом «бустер-эффекта» т.е. путем повторного введения аллергена в то же место, в той же дозе. Внутрикожные реакции при учете реакции через 72 часа не изменились. Через 24 часа коров исследовали внутривенной туберкулиновой пробой и получили отрицательный результат, а потому животных признали здоровыми и оставили в стаде.

В ТОО «Журын» 6 коров с утолщением кожной складки на 5-11 мм повторно исследовали через 30 дней вышеуказанными тестами, реагировало с утолщением кожной складки на 2-5 мм выше предыдущего,

с утолщением нижнего века на # и повышением температуры на 1,3°C 4 коровы, у двух коров реакции не проявились. При убое 4 коров с совпадающей реакцией на три пробы, во всех случаях установлены специфические изменения, свойственные туберкулезу, а у 2 коров эхинококкоз легких и печени.

При лабораторном исследовании биоматериала от 2 животных, у которых выпали реакции на внутрикожную пробу и не наблюдались реакции на пальпебральную и внутривенную пробы, туберкулез не был установлен.

В племенном хозяйстве ТОО «Аксай» при исследовании 1225 коров реагировало 33 (2,7%) коровы с утолщением кожной складки на 3-5 мм. Через 7 дней этих коров исследовали одновременно пальпебральной и ВТП пробой в дозе 10000 ТЕ и 5000 ТЕ и получили отрицательный результат. При убое коров с утолщением кожной складки на 3, 4 и 5 мм, установлено у первых двух эхинококкоз легких и печени, а у последней гиперплазия и кровоизлияние в подчелюстном лимфатическом узле. Бактериологические исследования биоматериала от 3 коров включая биопробу, проводившиеся в КазНИВИ и Алматинской обл. ветлаборатории МТ не выделили.

Через 45 дней оставшихся 30 коров исследовали симультанной туберкулиновой пробой. При этом на ППД туберкулин для птиц на 3-5 мм реакции преобладали по сравнению с ППД для млекопитающих у 4 коров. Внутривенная туберкулиновая проба была отрицательной. При убое 2 коров с утолщением кожной складки на 4-5 мм установили эхинококкоз легких и печени. Бактериологические исследования дали отрицательный результат. Поэтому хозяйство считали благополучными и 25 коров оставили в стаде. Причиной внутрикожной реакции послужила вакцинация КРС против некробактериоза вакциной ВИЭВ против копытной гнили оленей произведенного безыгольным иньектором «Овод». При замене на новый иньектор среди 3545 голов КРС ТОО реагирующих не выявлено.

Как видно из проведенных работ животные, сенсibilизированные атипичными микобактериями, гельминтами на пальпебральную пробу, на дозу 5000 ТЕ и на внутривенную не реагируют. В целях профилактики неспецифических реакций на туберкулин необходимо на ферме повышать ветеринарно-санитарную культуру.

Применение схемы КазНИВИ позволяет выявить заболевание в самом начале его возникновения, оперативно применять систему оздоровительных противотуберкулезных мероприятий, не допустить массового перезаражения и распространения болезни.

Таким образом, при выявлении реагирующих животных в благополучных хозяйствующих субъектах необходимо проводить контрольно-диагностический убой не менее 3-х животных с утолщением кожной складки на 5-6 мм и более с болезненной припухлостью,

отечности, повышением местной температуры. При отсутствии специфических изменений, свойственных туберкулезу, проводят лабораторное исследование и делают соответствующее заключение.

Литература

1. Сажин Н.Т. Определение экономического ущерба при туберкулезе крупного рогатого скота // Тр. ВГНКИ. -М., 1968.- Т. 15-С.340-345.
2. Пионтковский В.И. Туберкулез крупного рогатого скота в Северном Казахстане: дис...докт. вет.наук.- Кустанай,1989.- 426. с.
3. Жумаш А.С. Специфика проявления туберкулеза крупного рогатого скота и меры борьбы с ним в зависимости от технологии животноводства. дисс... докт. вет. наук. -Алматы, 1999 - 221, с.
4. Отчет вет. отдела МСХ РК за 1990 г.
5. Новак Д.Д. Туберкулез крупного рогатого скота. - Алма-Ата. Кайнар, 1987. - 160 с.
6. Тузова Р.В. Туберкулез сельскохозяйственных животных и птицы. – Минск: Урожай, 1972. - 378 с.
7. Холут Дж. Краткий определитель бактерий Бержи. - М., «Мир», 1980. - 495 с.
8. Драбкина Р.О. Микробиология туберкулеза. - М.- С.193-254 .
9. Диденко Л.В. Бактеремия: основа патогенеза при инфекционных и инвазионных заболеваниях. Дисс... докт. мед. наук.-М., 2001.- 691 с.
10. Тамгабаева С., Тургенбаев К.А., Сырым Н., Басыбеков С.Ж. Характеристика атипичных микобактерий выделенных из благополучных по туберкулезу хозяйств Алматинской области // Сб.науч.тр. КазНИВИ Том LVIII- Алматы, 2012.- С.224-227.
11. Жумаш А.С. Туберкулез и смешанные инфекции животных – Алматы, 2014. - 315 с.
12. Жумаш А.С., Ашимова К.К., Саргаскаев Д.Т. Дифференциация туберкулиновых реакций у КРС. - сб.науч.тр. КазНИВИ. Т. LVII Алматы, 2011.-С. 152-158.
13. Басыбеков С.Ж., Тургенбаев К.А. Методологические основы комплексного дифференциально-диагностического исследования на туберкулез и микобактериоз крупного рогатого скота в благополучных по туберкулезу хозяйствующих субъектах.- сб.науч.тр. КазНИВИ. Т. LVIII. – Алматы, 2012.-С. 55-59.
14. Юдин Г.А. О неспецифических туберкулиновых реакциях. Ветеринария.1974. - № 4.- С. 62-64
15. Ярбаев Н.Я., Набибаев А. Туберкулез крупного рогатого скота и меры борьбы с ним в Таджикистане // Таджикский НИИНТВ. Обзорная статья Душанбе, 1989. - 32 с.
16. Колычев Н.М., Кисленко В.Н. Об экологии микобактерий туберкулеза. // Обеспечение ветеринарного благополучия в

животноводстве и птицеводстве. Мат. межд. науч-прак. конф, посвященной ветеранам ветеринарной науки (2-4 октября 2013г.) - Омск., 2013.- С.61-63.

17. Овдиенко Н.П, Найманов А.Х, Толстенко Н.Г. и др. Туберкулез как международная и национальная медико-ветеринарная проблема в современных условиях / Ветеринарный врач 2009 - № 2,- С. 14-17.

18. Найманов А.Х., Устинова Г.И., Толстенко Н.Г., Вангели Е.П., Кучерик О.Д. Проблема неспецифических реакций на туберкулин и совершенствование симультанной пробы для диагностики туберкулеза крупного рогатого скота. Ветеринария, 2015. № 6 - С. 20-25.

Сведения об авторах:

Жумаш А.С. – доктор вет.наук, профессор ТОО «КазНИВИ»

Шаймбетова А.К. – канд. вет. наук, зав. лабораторией бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Бакиева Ф.А. – канд. вет. наук, старший научный сотрудник ТОО «КазНИВИ»

Наутиев Н.И. - канд. вет. наук, старший научный сотрудник ТОО «КазНИВИ»

Боранбаева Р.С. - канд. вет. наук, старший научный сотрудник ТОО «КазНИВИ»

Сейтжанова У. – старший лаборант лаборатории бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Түйін

ҚАРА МАЛ ТУБЕРКУЛЕЗ РЕАКЦИЯСЫН ЖАЛҒАН РЕАКЦИЯДАН ТІРІДЕЙ АЖЫРАТУ ЖОЛДАРЫ

А.С. Жұмаш; А.Қ. Шаймбетова; Ф.А. Бакиева; Н.И. Наутиев;
Ж. Еспанов; Р. Боранбаева; Ұ.Ұ. Сейтжанова

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС.

Мақалада қара малдың туберкулез реакциясын жалған реакциялардан тірідей ажырату жолдары көрсетілген. Сонымен қатар мүйізді малды туберкулезге балағанда болатын қателіктен туатын экономикалық шығын мен мал қораларын санациялау, залалсыздандыру және оның сапасын анықтау жолдары шаруа қожалығын кеселден сақтауға мүмкіндік беретіндігі баяндалған.

Кілттік сөздер: туберкулинизация, ажыратып балау, симультанды және пальпебральды сынама, санация, ірі қара мал

Summary

INTRAVITAL DIFFERENTIATION OF TUBERCULIN REACTIONS IN CATTLE

Zhumash A.S; Shaimbetova A.K; Bakiyeva F.A; Nautiev N.I; Espanov J; Boranbaeva R; Seitzhanova U.U.

LLP «Kazakh scientific- research veterinary institute»

The article present the results of intravital differentiation of specific reactions from non- specific reactions; economic losses due to improper diagnosis of tuberculosis; the need for high- quality rehabilitation livestock buildings, the definition of quality of disinfection of safeguarding the economic well- being of the farm.

Keywords: tuberculinization, differentiation, and Simultaneous palpebral test, sanitation, cattle

УДК 619:616:98:579.873.21:636.2 (574)

ВЛИЯНИЕ ИНТОКСАНА НА ПОКАЗАНИЯ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ РЕАКЦИИ ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Жумаш А.С., Горелов Ю.М., Иванов Н.П., Арзымбетов Д.Е., Шаймбетова А.К., Боранбаева Р.С., Алиев М.

Резюме В статье приведены результаты опыта по влиянию препарата «Интоксан» -1 на проявление аллергических реакций при туберкулезе крупного рогатого скота. Композиционный препарат «Интоксан-1» вводили внутривенно реагировавшим на туберкулин животным три дня подряд и через 5-7 дней осуществляли повторный курс и так трижды. При этом выявлено, что испытываемый препарат не оказал влияние на течение и проявление туберкулеза у крупного рогатого скота.

Ключевые слова: туберкулинизация, аллергические реакции, пальпебральная проба, лимфатические узлы, крупный рогатый скот.

Руководители хозяйствующих субъектов стараются увеличить количество животных и добиваются производства конкурентноспособной, безопасной в ветеринарном и пищевом отношении продукции

животноводства. Успешное решение этой задачи зависит от благополучия хозяйств по инфекционным болезням животных, в т.ч. туберкулеза и бруцеллеза крупного рогатого скота, которые занимают наибольший удельный вес среди всех инфекционных болезней, регистрируемых среди сельскохозяйственных животных в нашей стране.

Согласно статистическим данным ветеринарной отчетности эпизоотическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота в РК стабильная. С 2003 года на территории нашей страны не выявлены неблагополучные по туберкулезу крупного рогатого скота пункты. Однако, при диагностических исследованиях в отдельных хозяйствующих субъектах 5-8 областей республики выделяются реагирующие на туберкулин животные.

Так, в Костанайской области в 2013 году из 635 000 исследованных голов КРС было выявлено 117 (0,02%) реагирующих, а в 2014 - 1690, в том числе в Денисовском районе 895 (1,6%), в Костанайском и Узункольском по 65 (0,3%) животных.

В Карабалыкском районе выявлено в 2012 - 41 (0,11%), 2013 - 14 (0,04%), а в 2014 – 102 (0,3%) положительно реагирующих на туберкулин животных.

При диагностическом убое специалисты не всегда находят специфические изменения, свойственные туберкулезу. Работники областной ветеринарной лаборатории и Костанайский НИВС из исследованного биоматериала от положительно реагирующих на туберкулин животных в ряде случаев выделили атипичные культуры микобактерий. На основании патологоанатомических вскрытий и бактериологических исследований внутрикожные реакции считали неспецифическими. По данным многих [2,3,4,5] авторов неспецифические реакции вызываются атипичными, сапрофитными микобактериями, возбудителями туберкулеза птичьего вида, паратуберкулеза, узелкового дерматита (Dermatitis nodoza), грибковыми заболеваниями, актиномицетами, гельминтами.

При убое животных инфицированных одним из вышеуказанных типов микобактерий специфических изменений свойственных туберкулезу не обнаруживают, что ведет иногда к необоснованному убою здорового скота и затратам на проведение противотуберкулезных мероприятий.

В тоже время ослабление внимания борьбе с туберкулезом крупного рогатого скота может повлечь за собой значительное распространение данной инфекции.

Так в 4-х хозяйствах Талгарского района Алматинской области за 2001-2009 годы было выявлено 1324 (2,1%) реагирующих на ВТП коров, с утолщением кожной складки от 3 до 13 мм. При диагностическом убое 65 коров специфических изменений свойственных туберкулезу не обнаружили. При этом установлены эхинококковые поражения легких и печени; гиперплазия с кровоизлияниями в поверхностных лимфоузлах.

Бактериологическим исследованием биоматериала, взятого от этих животных, выделены атипичные микобактерии III группы по классификации «Раньеона».

Прижизненную дифференциацию туберкулиновых реакций в этих хозяйствах проводили по «ЖАТадис» (инновационный патент №24206 от 13.02.2012).

Через 2 года на одной из МТФ вышеуказанных хозяйств при исследовании 850 голов КРС, реагировало на ВТП (8,4%) животных. При втором исследовании выделено 68 (8,7%), при третьем исследовании выделено еще 45 (7,2%) коров. При убое 107 животных реагировавших на туберкулин во всех случаях были установлены поражения органов туберкулезом, выделена культура МТ бычьего вида не только из биоматериала, но и из проб молока и из проб объектов внешней среды, где содержалось данное поголовье (Рис.1, 2, 3, 4, 5)



Рисунок – 1 Туберкулез (жемчужница) серозной оболочки



Рисунок – 2 Культура выделенная из объектов внешней среды (из травы)

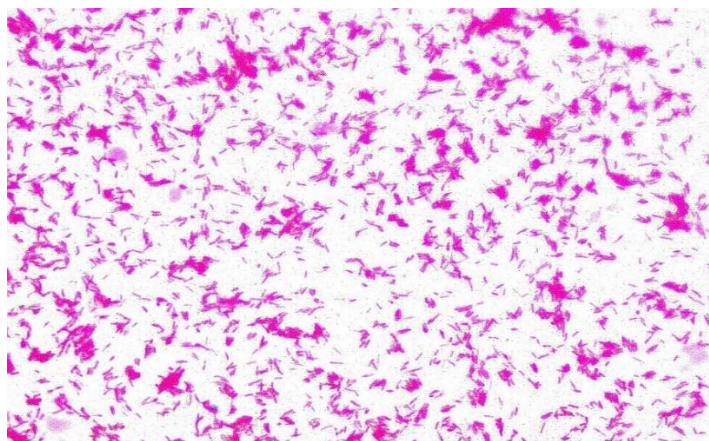


Рисунок – 3 Микроскопия мазков-отпечатков из культуры выделенной из объектов внешней среды



Рисунок – 4 Культура выделенная из молока коровы

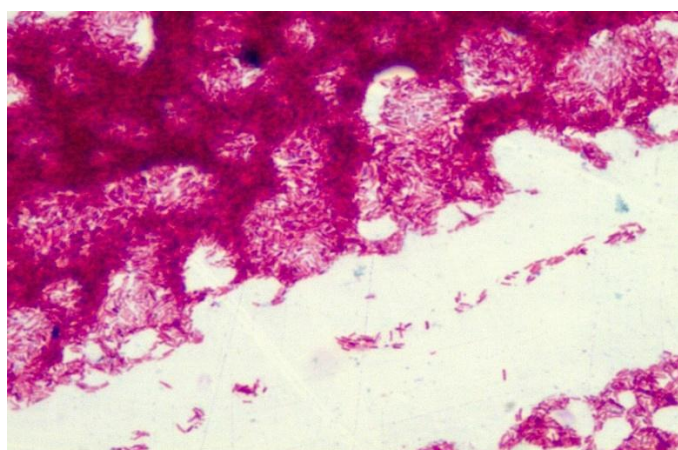


Рисунок – 5 Микроскопия мазков-отпечатков из культуры выделенной из молока коровы

В специальной литературе (6,7) имеется сообщение о влиянии предложенного Ю.М.Гореловым композиционного препарата («Интоксан -

1») на проявление аллергических реакций и снижение числа реагирующих на туберкулин животных. Так, по данным указанного автора после введения 181 животному препарата «Интоксан -1» у 129 из них (71,3%) внутрикожные реакции снизились от нескольких мм до отрицательных показаний.

На основании полученных результатов им сделано заключение, что препарат («Интоксан-1») целесообразно использовать в комплексе противотуберкулезных мероприятий. Однако, при этом не были проведены патоморфологические, бактериологические исследования и потому, только по данным аллергических показаний, не представляется возможным считать отсутствие в организме возбудителя болезни. Известно, что обнаружение возбудителя инфекции является неоспоримым доказательством наличия заболевания.

В связи с изложенным нами проведен опыт по изучению влияния препарата «Интоксан -1» на проявление аллергических реакции у крупного рогатого скота неблагополучного по туберкулезу стада. Препарат вводили, по рекомендации и непосредственном участии автора, внутривенно в дозе 100,0 см³ на одно животное ежедневно в течение трех дней (курс введения) и через 5-7 дней осуществляли повторный курс и так трижды, т.е. три курса. Затем, через 10-15 суток после последнего введения препарата, обработанных животных подвергли аллергическим исследованиям с последующим убоем и патоморфологическим осмотром и бактериологическим высевам.

Первоначально в опыт были взяты 15 голов крупного рогатого скота (1 группа), реагировавшего на туберкулин, изготовленный Курской биофабрикой 09.07.2014 г., срок годности до 07.11.2016, серия №19, контроль №19.

Животным препарат «Интоксан-1» вводили 3 раза с интервалом 7-10 дней.

Через 22 дня после последнего введения препарата и 42 дня после первой туберкулинизации животных этой группы и через 7 дней после этого животных второй группы исследовали одновременно ВТП в дозе 10000 ТЕ, 5000ТЕ, с добавлением эуфиллина и пальпебрально 0,2см³ ППД туберкулином изготовленным ТОО «Bioton Group» 04.2015 г., серия №2.

При учете внутрикожной аллергической реакции у животных первой группы получены следующие результаты, которые отражены в таблице 1.

Таблица-1 Показание туберкулиновой пробы до и после введения препарата

№	Инв.№	Пол животного	Результаты аллергических реакций мм,		Разница в проявлении внутрикож
			до введения препарата	после введения препарата	

			До введения препарата	5000 ТЕ с эуфиллином	10000 ТЕ	Пальпебрально	ной реакции до и после введения препарата «Интоксан - 1»
1	2	3	4	5	6	7	8
1	1317	Бык, ангус	5	7	8	Подхвост +	увеличение
2	1322	Бык, ангус	3	6	6	Подхвост -	увеличение
3	42	Телка, ангус	3	6	6	++	увеличение
4	906	Телка, ангус	3	7	15	++	увеличение
5	185	Бык, 2015 г.	3	6	5	++	увеличение
6	256	КБ	4	9	12	#	увеличение
7	246	Тел., 6 мес. леч. изониазидом	5	-	-	-	снижение
8	207	Тел., 6 мес.	4	8	8	++	увеличение
9	312	Тел., КБ	6	7	20	-	увеличение
1	183-103	Тел., КБ	4	5	9	+++	увеличение
1	5052	Тел., КБ	3	10	15	+++	увеличение
1	366	Тел., КБ	3	5	3	+++	Одинакового уровня проявления
1	5007	Тел., КБ	4	7	9	#	увеличение
1	160	Тел., 4 мес., ЧП	3	10	11	#	увеличение
1	5069	КБ	4	20	8	+++	увеличение

Как видно из таблицы 1, у 13 (86,6%) животных аллергические реакции на внутрикожное введение туберкулина усилились, у одного (6,6%) реакция уменьшилась и у одного (6,6%) была на уровне прежних показаний. У 7 (46,6%) животных реакции совпали по всем испытываемым тестам.

Положительные реакции совпали на коммерческую дозу и на сниженную дозу туберкулина с добавлением в него эуфиллина у 13 (86,6%) животных.

При контрольно-диагностическом убое 8 животных, у которых отмечено увеличение внутрикожной реакции установлены туберкулезные поражения в 100% случаев.

У одного животного (№312) установлено 4-х кратное увеличение заглочного лимфоузла с гнойно-некротическим бугристым очагом, а в

средостенном лимфоузле установлен мелкоочаговое туберкулезное поражение (рис.6).



Рисунок - 6 Поражения лимфоузлов при туберкулезе

У телки казахской белоголовой породы (инв.№ 5007) установлено специфическое туберкулёзное поражение в заглоточном лимфоузле и гортани (рис.7).

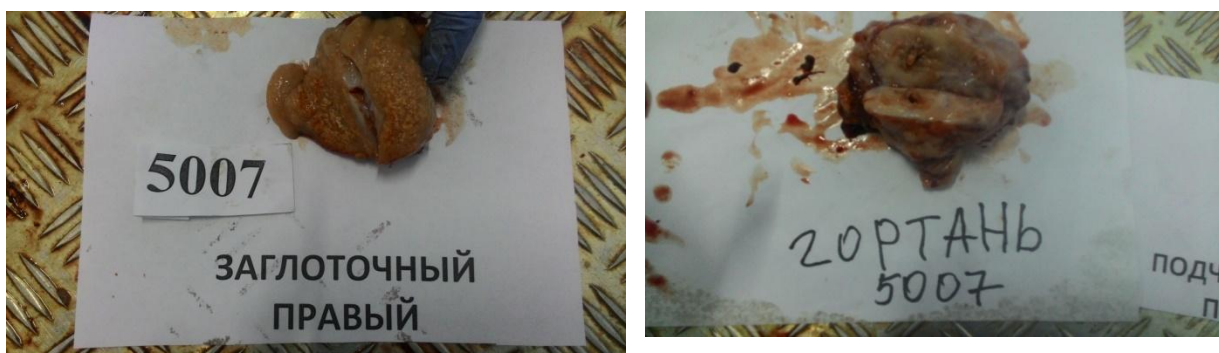


Рисунок - 7 Поражения лимфоузлов при туберкулезе у телки

У телки (инв.№ 906) породы ангус установлено гнойно-некротические очаговые туберкулезные поражения бронхиального, средостенного и предлопаточного лимфатических узлов (рис.8).





Рисунок - 8 Поражения лимфоузлов при туберкулезе телки породы ангус

У 6-ти месячного теленка (инв. № 207) обнаружен мелкоочаговый туберкулез предлопаточного и средостенного лимфоузлов (рис. 9).



Рисунок -9 Изменения в лимфоузлах при туберкулезе

У 4-месячного теленка (инв.№ 160) установлено гнойно-некротический туберкулез заглочного лимфатического узла и начало образования туберкулезного бугорка в мезентеральном лимфоузле (рис.10).



Рисунок - 10 Поражения лимфоузлов при туберкулезе 4-х месячного теленка

У телки (инв. №5052) казахской белоголовой породы гнойно-некротическое туберкулезное поражение заглочного левого и правого лимфатического узла с 3-кратным увеличением в размере, гиперплазия с кровоизлияниями предлопаточного лимфатического узла (рис.11).



Рисунок -11 Изменения в лимфоузлах телки при туберкулезе

У телки (инв.№5069) обнаружили мелко очаговый туберкулез параортального, бронхиального, предлопаточного, брыжеечного лимфоузлов (рис.12).



Рисунок - 12 Поражения лимфоузлов при туберкулезе

У бычка 2015 года рождения (инв.№ 256) казахской белоголовой породы туберкулез брыжеечного, тазового лимфатических узлов и эхинококкоз печени (рис.13).



Рисунок - 13 Поражения лимфоузлов при туберкулезе и эхинококкозе печени

У телки 2015 года рождения казахской белоголовой породы с совпадающей реакцией (3 мм) установлен мелкоочаговый гнойно-некротический туберкулез в правом заглочном лимфатическом лимфоузле, а в бронхиальном и предлопаточном лимфоузле видно начало образования туберкулезного бугорка (рис.14).



Рисунок-14 Поражения лимфоузлов при туберкулезе

На основании аллергических исследований и патологоанатомического вскрытия можно сделать заключение, что препарат, «Интоксан-1» не снижает у животных проявление аллергических реакций на туберкулин.

Вторая группа состояла из животных, которым «Интоксан-1» вводили трижды и убой производили через 20 суток после последней инъекции препарата. Результаты последующих аллергических исследований представлены в таблице 2.

Таблица -2 Показания аллергической пробы у животных до и после введения препарата

№	Инв.№	До введения препарата	Результаты аллергических реакций мм, после введения препарата			Разница в проявлении алергопробы до и после введение интоксана
			5000 ТЕ с эуфилин ом	10000 ТЕ	пальпекраль но	
1	402	6	7	8	++	2 увеличение
2	588	5	2	2	++	3 снижение
3	200	5	5	3	+++	2 снижение
4	58179921	4	4	4	подхвост	на прежнем уровне
5	171	12	-	-	+	12 выпадение
6	5076	4	5	13	+++	9 увеличение
7	5129	3	12	9	#	6 увеличение
8	309	5	7	15	+++	10 увеличение
9	43	5	-	-	-	5 выпадение
1	5088	-	8	20	#	20 увеличение
1	5007	5	7	9	#	4 увеличение
1	5018	5	3	2	++	-3 снижение
1	339	6	5	7	+	1 увеличение
1	1354	3	3	-	-	3 на прежнем уровне
1	5016	4	3	9	++	5 увеличение
1	97 чп	6	5	6	-	на прежнем уровне
1	177	7	11	16	-	4 увеличение
1	147	4	14	20	+++	16 увеличение
1	5134	5	7	12	-	7 увеличение
2	5143быч.	5	2	2	+++	-3 снижение
2	84	5	4	4	++	-1 снижение

2	173	3	-	7	-	4 увеличение
2	96 чп б	7	4	4	++	-3 снижение
2	85 быч	3	8	16	+	13 увеличение
2	5069	4	20	8	+++	4 увеличение
2	181 чп	5	3	3	++	2 снижение

Как видно из приведенных в таблице данных на три туберкулиновых теста реагировало положительно – 8 (33,3%) голов, на коммерческий и разведенный ППД-туберкулин 14 (58,3%), 2 (8,3%) реагировало только на коммерческий туберкулин. У 13 животных (50%) отмечается увеличение внутрикожной реакции, у 5 (19,2%) выявлено снижение величины кожной складки, у 3 (11,5 %) животного реакции остались без изменений и у 2 (8,3%) коров реакции снизились до отрицательных показаний.

Из этой группы отобрали животных с увеличением кожной складки после введения препарата «Интоксан-1» (инв.№№5076, 5129, 309), с уменьшением ее размеров после второй инъекции туберкулина – (инв.№ №588, 5018, 5143, 200, 84) и животные у которых реакции на аллерген отсутствовали – (№№, 43, 171.)

При контрольно-диагностическом убое животных с увеличением кожной складки - (инв.№№ 5076, 5129, 309), установлены специфические туберкулезные поражения в заглотоочном лимфоузле, а у одного дополнительно выявлено поражение туберкулезом брыжеечного лимфоузла.

У животных со снижением утолщения кожной складки установлено: инв.№ 588 туберкулез заглотоочного бронхиального и мезентериального лимфоузлов, крупноочаговый эхинококкоз печени; № 5018 – туберкулез заглотоочного и подчелюстного лимфоузлов; № 5143 – гнойно-некротический туберкулез в бронхиальном лимфоузле, начало образования туберкулезного бугорка в подчелюстном лимфоузе и мышцах наружной грудной части также обнаружены мелкие множественные похожие на туберкулезные очаги солевые отложения; инв № 200 туберкулез средостенного лимфатического узла; № 84 – туберкулез средостенного и брыжеечного лимфоузлов.

У животных, где реакции на туберкулин отсутствовали (№№ 43, 171) также выявлены туберкулезные поражения (генерализованная форма)

Таким образом, как видно из данных проведенных исследований препарат «Интоксан-1» не оказал какого –либо влияния на течение и проявление туберкулеза у крупного рогатого скота.

Заключение На основании данных аллергических исследований, результатов патологоанатомического осмотра установлено, что проявление

внутрикожных реакций на туберкулин у животных до и после введения интоксана не имело существенных изменений. Наши данные не согласуются с ранее полученными автором интоксана результатами.

В связи с этим, препарат «Интоксан-1» не может быть рекомендован для применения в хозяйствующих субъектах при диагностике туберкулеза крупного рогатого скота.

К настоящему времени все неблагополучное по туберкулезу поголовье крупного рогатого скота обследуемой фермы сдано на убой и проведен ветеринарно-санитарный ремонт всех скотопомещений и прилегающей к ним территории.

Литература:

1. Овдиенко Н.П., Найманов А.Х., Солодова И.В. Эпизоотическая обстановка по туберкулезу крупного рогатого скота в зарубежных странах в начале XXI века. Ветеринарная патология. №1-2., 2004.-С. 51-54.

2. Найманов А.Х., Устинова Г.И., Толстенко Н.Г., Вангели Е.П., Кучерик О.Д. Проблема неспецифических реакций на туберкулин и совершенствование пробы для диагностики туберкулеза крупного рогатого скота/ Ветеринария., 2015.-№6.-С.20-25.

3. Басыбеков С.Ж. Совершенствование методов прижизненной дифференциальной диагностики и микобактериозов крупного рогатого скота/ Сб:науч.тр. КазНИВИ. Т.ЛIII. Алматы, 2007. - С. 93-102.

4. Дюсенова Г.М., Таллер Л.А., Бордюг В.Ф. Значение пальпебральной и симультанной пробы для дифференциальной диагностики туберкулеза крупного рогатого скота/Сб.науч.тр. КазНИВИ, посвященной 105-летию института. –Алматы,2010. Т.ЛIII. -С.130-135.

5. Ощепков В.Г., Смолянинов Ю.И., Боганец Н.С., Григорьев В.И. Диагностика туберкулеза крупного рогатого скота на фоне неспецифической реакции на ППД-туберкулин // Био., 2002.-№6.-С.15-16.

6. Горелов Ю.М. Повышение специфичности аллергической диагностики туберкулеза, труды Кирг.НИИ.Бишкек, 2012 С.-110-121

7. Горелов Ю.М. Совершенствование аллергической диагностики туберкулеза/ сб. науч.тр Сев.Каз.НИИ Ж-Р «Научное обеспеч.развития агропром» компл,-08.2012,-С.204-206

Түйін

ТУБЕРКУЛЕЗГЕ ШАЛДЫҚҚАН ҚАРА МАЛДЫҢ АЛЛЕРГИЯЛЫҚ РЕАКЦИЯ КӨРСЕТКІШТЕРІНЕ «ИНТОКСАН» ДӘРМЕГІНІҢ ӘСЕРІ

А.С. Жумаш, Ю.М. Горелов, .П. Иванов, Д.Е. Арзымбетов, А.К. Шаймбетова, Р.С Боранбаева, М. Алиев

Мақалада «Интоксан-1» дәрмегінің қара малдың аллергиялық реакция көрсеткіштеріне әсерінің нәтижелері келтірілген.

Композициялық «Интоксан-1» дәрмегін туберкулинге әсерленген қара малдардың көктамырына үш күн қатарынан және 5-7 тәуліктен кейін қайталап егіп, үш рет енгізілді.

1000 ТБ, 5000 ТБ тұратын ППД-туберкулинмен коммерциялық туберкулин және сұйытылған аллергенге эуфиллин дәрмегін қосып кірпіктің астына және пальпебралды егіп сынамалағанда тері ішілік сынамада 21 (51,2%) бас малдың көрсеткіші сәйкесб 25 (60,9%) - өсті, 13 (31,7%) реакция төмендеп, 2 (4,8%) – өзгеріссіз, 4 (9,7%) бас малда реакцияның көрсеткіштері теріс нәтижеге дейін төмендеді.

Диагностикалық мақсатта малдарды сойып саралағанда барлық мал басынан туберкулез ауруына тән өзгерістер анықталды.

Композициялық «Интоксан-1» дәрмегі қара малдың аллергиялық реакция көрсеткіші мен кеселдің жүруіне әсер етпейді.

Сурет 14, кесте 2, әдеби көрсеткіштер 7.

Кілттік сөздер: туберкулин сынамасы, аллергиялық реакциялар, пальпебралды сынама, лимфа түйіндері, қара мал.

Summary

INFLUENCE THE TESTIMONY OF ALLERGIC REACTION INTOKSAN IN TUBERCULOSIS IN CATTLE

Zhumash A.S, Gorelov U.M, Ivanov N.P, Shaimbetova A.K, Boranbaeva R.S., Aliev.M.

The article presents the results of the experimental use of the drug "Intoksan" -1 for manifestation of allergic reactions in cattle.

The composite preparation "Intoksan - 1" was administered intravenously to reacted tuberculin animals for three days and 5-7 days was carried out a second course and so three times.

In the study of tuberculosis with tuberculin PPD- containing 10000 TE, TE 5000 with the addition of aminophylline and palpebral: intradermal coincided in 21 (51.2%), increased from - 25 (60.9%), decreased response in 13 (31.7%), and - 2 (4.8%) of animals otalis unchanged and - 4 (9.7%) reduced to head reaction negative readings.

During diagnostic slaughter of all animals set specific changes characteristic of tuberculosis.

The composite preparation "Intoksan - 1" does not affect on the course and manifestation of tuberculosis in cattle.

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ ЦЕЛЬНОГО МОЛОКА ВЕРБЛЮДИЦ С ПОМОЩЬЮ ЦВЕТНОГО АНТИГЕНА, ПРЕДНАЗНАЧЕННОГО ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МОЛОКА КОРОВ

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

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приведены результаты исследования цельного молока верблюдиц с помощью цветного антигена, предназначенного для исследования молока коров

Ключевые слова: бруцеллез, диагностика, антиген, серологические тесты, молоко, верблюды

Введение Во многих странах мира население нередко употребляет в пищу молоко и молочные продукты различных видов животных, в том числе и верблюдов [1].

Верблюжье молоко очень питательное, его калорийность составляет 101 килокалорию на 100 г продукта. Все полезные свойства молока верблюдов заключаются в его химическом составе. Оно содержит легко перевариваемые белковые соединения, углеводы, жиры. Кроме того, оно богато витаминами и минеральным составом. Данный продукт содержит больше кальция, фосфора, калия, натрия, различных аминокислот и лактозы, нежели их наличие в коровьем молоке.

Химический состав молока верблюдиц более насыщен, что придает продукту более сладкий вкус с соленым оттенком [2].

К тому же молоко верблюдиц обладает бактерицидными свойствами, поэтому его употребление облегчает течение инфекционного процесса. Этот продукт играет важную роль в лечении пищевых аллергий, так как в нем нет бета-лактоглобулина и бетаказеина. В молоке верблюдиц содержится небольшое количество (4%) лактозы (молочный сахар), которая усваивается людьми, страдающими ее непереносимостью.

Таким образом, по питательности и полезности для организма человека верблюжье молоко превосходит коровье.

Не случайно, что верблюжье молоко входит в рацион питания жителей многих восточных стран.

Верблюжье молоко теряет определенные терапевтические свойства при пастеризации его, наличии или подозрении на присутствие каких-либо болезнетворных микроорганизмов [3,4,5].

В виду того, что население нередко употребляет в пищу верблюжье молоко, возникает вопрос о проверке его на пищевую безопасность, осо-

бенно при наличии среди животных каких либо зооантропонозных болезней, в частности, бруцеллеза.

Следует отметить, что при заселении бруцеллами ткани молочной железы в секрете появляются антитела, обнаружение которых позволяет ставить диагноз и решать вопрос о пригодности данного продукта в пищу.

В специальной литературе имеются лишь отрывочные данные о возможности контроля молока верблюдов на бруцеллез.

Для этой цели изучалась возможность исследования молока верблюдиц, с помощью цветного антигена, предназначенного для кольцевой реакции с молоком коров. Однако эта реакция оказалась не приемлемой при исследовании молока верблюдов в силу физико-химических особенностей этого продукта. Не разработаны также и тестовые показатели по оценке пищевой безопасности верблюжьего молока при бруцеллезе.

Нами изучалась возможность проверки указанного продукта на бруцеллез с помощью цветного антигена, предназначенного для кольцевой реакции при исследовании молока коров.

Материалы и методы исследований Методически постановку реакции проводили аналогично методики, существующей при проведении кольцевой реакции с молоком коров.

При этом были использованы следующие компоненты:

- испытываемые пробы молока от верблюдиц;
- антиген цветной, предназначенный для КР с молоком коров;
- позитивная бруцеллезная сыворотка;
- негативная сыворотка (сыворотка крови здоровых животных).

Результаты исследований Технически реакцию осуществляли следующим образом. В соответствующий штатив в три ряда размещали пробирки Флоринского, в которые разливали исследуемое молоко верблюдиц по $2,0 \text{ см}^3$ в каждую. В первый ряд добавляли по $0,1 \text{ см}^3$ позитивной бруцеллезной сыворотки, во второй – аналогичное количество негативной сыворотки от здоровых по бруцеллезу животных. Третий ряд пробирок оставался контрольным – в него сыворотку не добавляли. Далее, в каждую пробирку всех рядов вливают по $0,1 \text{ см}^3$ цветного антигена, предназначенного для кольцевой реакции с молоком коров. Содержимое пробирок тщательно встряхивали и выдерживали при $37-38^\circ\text{C}$ (в термостате или водяной бане) в течение 45-60 минут. По истечении указанного времени проводили читку реакции. При этом в положительных случаях на дне пробирки образовался осадок и, в связи с этим, реакция нами названа «осадочной». Оценку выраженности ее проявления проводили в крестах:

- наличие четко выраженного осадка, верхняя часть молока остается белой;

+++ - наличие достаточно выраженного осадка, верхняя часть молока имеет синеватый цвет;

++ - наличие осадка, верхняя часть молока имеет слегка синий цвет;

+ - слабо выраженный осадок, а молочный столбик имеет выраженный синий цвет;

– - столбик молока остается равномерно окрашенным в синий цвет, на дне пробирки отсутствует осадок (реакция отрицательная).

Реакция с оценкой 2, 3 и 4 креста нами оценивалась как положительная, а в один крест - сомнительная.

Отработав методическую сторону вопроса, нами исследовано сборное молоко верблюдиц и пробы, взятые из каждой доли вымени, а также проведены бактериологические исследования молочного продукта, где получен положительный результат осадочной реакции. При этом из молока, при исследовании которого получены позитивные показания, выделены культуры бруцелл.

Заключение Результаты проведенных нами исследований показали достаточную чувствительность и специфичность предлагаемого нами диагностического теста.

Предлагаемый способ исследования молока верблюдиц дает возможность осуществлять контроль секрета молочной железы лактирующих животных на бруцеллез и обеспечить пищевую безопасность потребителей молока и молочных продуктов.

Литература

1. Баймуканов А.Б. К вопросу молочной продуктивности верблюдиц // Вестник с/н.науки.-А., 1969.-№9.-С.48-49.

2. med.yoops.ru

3. Сейдахметова Р.Д. Бруцеллез верблюдов. // Дисс. соиск. уч.ст.докт.биол.наук Алматы, 2004, 342 с.

4. Баймуканов А., Тоханов М.Т., Тоханов Б.М., Омирзакова А. Технологические особенности стерилизации верблюжьего молока. // Актуальные вопросы развития продуктивного верблюдоводства в Казахстане. Сб.мат.межд.науч.-практ.конф.-Шымкент, 2014.-С.22-25.

5. Иванов Н.П. Бруцеллез животных и меры борьбы с ним. – Алматы, 2007. - 612 с.

Сведения об авторах:

Иванов Н.П.- доктор ветеринарных наук, профессор, академик НАН РК, главный научный сотрудник отдела научно-методического обеспечения ветеринарно-санитарного благополучия и повышения продуктивности животноводства ТОО«КазНИВИ»

Арысбекова А.Т.- кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела научно-методического обеспечения ветеринарно-санитарного благополучия и повышения продуктивности животноводства ТОО«КазНИВИ»

Бакиева Ф.А.-кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела научно-методического обеспечения ветеринарно-санитарного благополучия и повышения продуктивности животноводства ТОО«КазНИВИ»

Түйін

СИЫР СҮТІН БРУЦЕЛЛЕЗГЕ ТЕКСЕРУГЕ АРНАЛҒАН ТҮСТІ АНТИГЕНМЕН ТҮЙЕ СҮТІН ТЕКСЕРУ

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

Мақалада сиыр сүтін бруцеллезге тексеруге арналған түсті антигенмен түйе сүтін тексеру нәтижесі келтірілген.

Кілттік сөздер: бруцеллез, балау, антиген, серологиялық тестілер, сүт, түйе

Summary

Ivanov N.P., Arisbekova A.T., Bakieva F.A.

LLP Kazakh Scientific research Veterinary Institute

This article provides the results of the hole-milk of camels investigation conductool by means of the coloured antigen intended for research of cow milk.

Keywords: brucellosis, diagnosis, antigen, serological tests, milk, camels.

УДК 619:616.98.578.636

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ ПАТОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ, ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ ПОРАЖЕННЫХ ГЛАЗ КРС

Иванов Н.П., Саттарова Р.С., Бакиева Ф.А., Егорова Н.Н.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приведены сравнительные данные чувствительности к антибиотикам бактериальной флоры, выделенной из пораженных глаз крупного рогатого скота

Ключевые слова инфекционный кератоконъюнктивит, крупный рогатый скот, антибиотики, фторхинолон

Завоз племенного поголовья мясного направления продуктивности в РК, среди которого имели место носители возбудителя инфекционного кератоконъюнктивита, перемещение инфицированных животных из одного региона и хозяйств в другие, привели к значительному распространению и появлению стационарно неблагополучных очагов по этому заболеванию.

Обострению течения болезни могли другие раздражающие слизистую конъюнктиву глаз факторы, такие как травматического характера, насекомые, ультрафиолетовое излучение солнечного света, сухие и пылевые частицы и т.д. Развитию ИКК может способствовать недостаток в рационе микроэлементов – селена и меди (1).

Конъюнктивиты и кератиты встречаются у животных довольно часто. Они составляют наиболее высокий удельный вес среди всех прочих болезней глаз. Заболевание роговицы и конъюнктивы ведет к ухудшению или потере зрения у значительного числа животных, что обуславливает большой экономический ущерб (2).

Известно, что этиология, патогенез, клинические признаки кератоконъюнктивитов крупного рогатого скота разнообразны и требуют тщательного изучения и на основе этих данных разработки эффективных средств и методов борьбы с ними.

К настоящему времени рядом ученых обнаружено поражение глаз моракселлами. В борьбе с моракселлезом предложены некоторые антибиотические препараты.

Так, учеными Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э.Баумана рекомендовано применение озонотерапии на фоне новокаиновых блокад (4), введение в ретробульбарное пространство тканевого препарата «Суифет» в дозе 10 см³ в каждый пораженный глаз в области верхнего и нижнего века, однократно, с интервалом в 3 дня (5). Имеются данные о применении для лечения животных, больных конъюнктиво-кератитами комплексной этиопатогенетической терапии - раствора хлорофиллипта и его мази на фоне новокаиновой блокады (6) Для лечения животных, больных гнойным конъюнктиво-кератитом, рекомендуется использование ежедневной двукратной инстилляцией в оба глаза субстанции мефопрана на фоне новокаиновой блокады краниального шейного симпатического узла (7).

Из данных зарубежной литературы известно, что достаточно высоким антимикробным действием против бактерий *Moraxella* обладает антибиотик Cloxicillin, tulathromycin (8,9).

Однако предложенные средства и методы лечения животных при данной патологии не всегда эффективны из-за возникающей

резистентности к антибиотикам и другим бактерицидным препаратам патогенной и условно-патогенной микрофлоры.

Целью нашей работы было изучение чувствительности бактериальной флоры, выделенной из пораженных глаз крупного рогатого скота Республики Казахстан, к антибиотикам, а так же применение комплексных, этиотропных и патогенетических методов лечения при керато-конъюнктивите животных.

Исследованию подвергались культуры микроорганизмов, выделенные из пораженных глаз крупного рогатого скота в хозяйствующих субъектах Алматинской и Акмолинской областей. Выделенная с помощью постановки биопробы культура, очищалась методами изолированных колоний. Определение чувствительности бактерий к антибиотикам проводили диско-диффузным методом, нанося на поверхность агара в чашки Петри бактериальную суспензию эквивалентную стандарту мутности 0,5 по McFarland. Затем, диски с антибиотиками (16 видов) диффундировали на поверхности агара. Исследуемый материал инкубировали в термостате при температуре 37⁰С в течение 10-12 часов. Учет результатов осуществляли путем измерения диаметра зоны подавления роста микроорганизма вокруг дисков, в миллиметрах.

Бактерии, выделенные из пораженных глаз крс Алматинской области, были чувствительными к офлоксацину, ломефлоксацину, гентамицину и умеренную резистентность к амикацину, канамицину, доксициклину и фуродонину и тетрациклину. Были устойчивыми к ампициллину, ванкомицину, цефураксиму, левомицитину, линкомицину, цефазалину и бензилпенициллину.

Микроорганизмы, выделенные от крупного рогатого скота Акмолинской области были чувствительны к фторхинолонам, как офлоксацин, ломефлоксацин и предствителю из аминогликозидов - гентамицину. Диаметр зоны подавления в этом случае был в пределах 25-30 мм. Из данных литературы известно, что фторхинолоны действуют на микроорганизмы избирательным ингибированием ДНК-гиразы бактерий, ответственной за нормальный биосинтез и репликацию ДНК. Умеренную резистентность бактерии проявляли к таким антибиотикам, как канамицину, амикацину, доксициклину и резистентность к левомцитину, цефураксиму, бензилпенициллину, цефазалину, линкомицину.

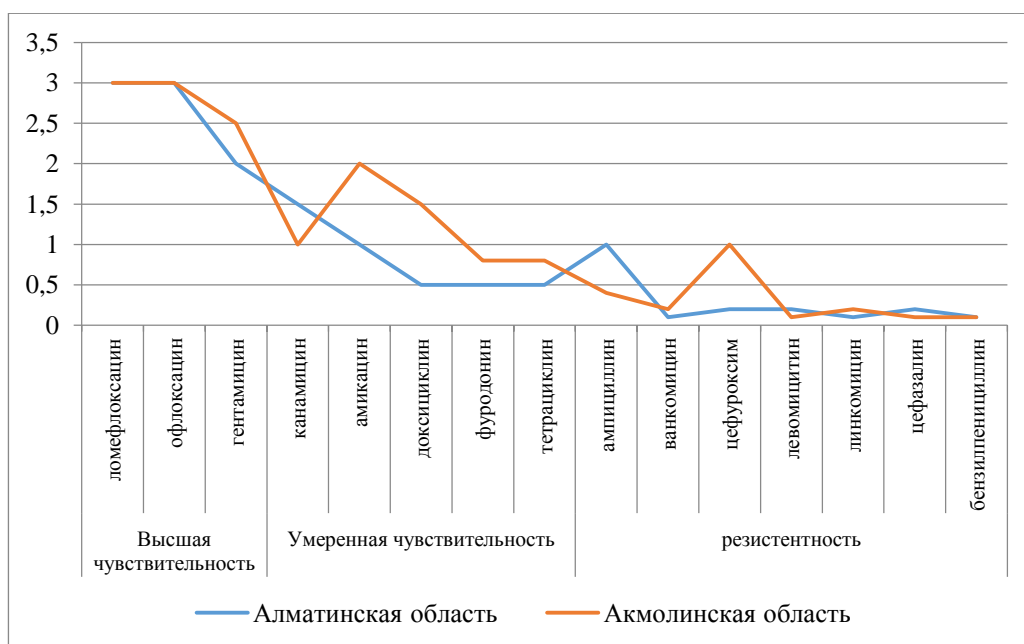


Рисунок 1. Чувствительность к антибиотикам патогенной микрофлоры, выделенной из пораженных глаз крс Алматинской и Акмолинской областей

Таким образом, антибиотики фторхинолонового ряда более активны в отношении большинства возбудителей офтальмопатологий, чем традиционные антибиотики, что совпадает с результатами некоторых исследователей (10,11). По данным результатов исследования составлена мазь по следующей прописи: за основу антибактериальной мази берется чистый аптечный вазелин, который выдерживали в термостате или сушильном шкафу до получения полужидкой консистенции. В 500 граммах вазелина растворяли 3 таблетки (по 400 мг) офлоксацина, 5 ампул по 2 см³ 4% гентамицина сульфата и 4,5 таблетки (150мг) хлорамфеникола (левомецитина). Таблетки необходимо предварительно растолочь в фарфоровой ступке, а затем тщательно смешать с вазелином и оставить в термостате (в теплом месте на 10-12 часов, для лучшего растворения). Мазь наносили ушными ватными палочками не менее 2-х раз в сутки.

Глаза предварительно, до нанесения мази, необходимо промыть с помощью спринцовки стерильной (кипяченной) водой и обмыть 0,1%-ным раствором сульфата цинка. Применение данной композиции на пораженном поголовье крупного рогатого скота показала выраженный терапевтический эффект.

Дальнейшие изыскания по изготовлению новых, эффективных и экономически дешевых способов терапии при инфекционном кератоконъюнктивитах продолжаются.

Литература

1. Фомин К. А. Глазные болезни животных. М.: Колос, 1968.- 272с

2. www.merckvetmanual.com. John A. Angelos, DVM, PhD, DACVIM. Overview of Infectious Keratokonjunctivitis. June, 2013.
3. Копенкин Е.П. Диагностика, лечение и профилактика инфекционного и инвазионного кератоконъюнктивитов крупного рогатого скота. Автореферат на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук. Москва, 2000. С.21.
4. Зарипов И. З. Эффективность озонотерапии с новокаиновыми блокадами при конъюнктиво-кератитах у животных. Автореферат на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук. Казань 2002
5. Даричева Н.Н. Комплексное лечение конъюнктиво-кератитов телят с применением фетального тканевого препарата «Суифет». Автореферат на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук. Ульяновск, 2002 г. С.25.
6. Василиада М.Я. Эффективность лечения конъюнктиво-кератитов и их осложнений у животных хлорофиллиптом в сочетании с новокаиновой терапией. Автореферат на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук. Воронеж, 2006. С.20.
7. Габбасов А. А. Этиопатогенетическая терапия конъюнктиво-кератитов у животных. Автореферат на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук. Казань, 2000г. С.22.
8. mcdowell.ces.ncsu.edu. W. Dee Whittier, Extension Veterinarian, Cattle. Treatment of Pinkeye in Cattle. VA-MD Regional College of Veterinary Medicine, VA Tech
9. <http://agriculture.vic.gov.au> Pink-eye in Beef Cattle. Note Number: AG0066 Published: September 1998
10. Шилкин А.Г., Копенкин Е.П., Олейник В.В., Смирнова С.В. Сравнительная эффективность различных глазных форм фторхинолов в ветеринарной офтальмологии. Материалы Московского международного ветеринарного конгресса. 22.04.2016г. Москва
11. Nedug.ru. Новые лекарственные средства в лечении бактериальных кератитов и хламидийных конъюнктивитов. Московский Научно-Исследовательский Институт Глазных Болезней им. Гельмгольца. Москва, 1998

Сведения об авторах:

Иванов Н.П.- доктор ветеринарных наук, профессор, академик НАН РК, главный научный сотрудник отдела научно-методического обеспечения ветеринарно-санитарного благополучия и повышения продуктивности животноводства ТОО«КазНИВИ»

Саттарова Р.- кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела научно-методического обеспечения ветеринарно-санитарного благополучия и повышения продуктивности животноводства ТОО«КазНИВИ»

Бакиева Ф.А.-кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела научно-методического обеспечения ветеринарно-санитарного благополучия и повышения продуктивности животноводства ТОО«КазНИВИ»

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

Түйін

ІКК ауырған ірі қара малдың көзінен бөлініп алынған патогенді микрофлораның антибиотиктерге сезімталдығы
Иванов Н.П., Саттарова Р.С., Бакиева Ф.А., Егорова Н.Н.

«Қазақ ғылыми-зертеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада індетті кератоконъюнктивиттен ауырған ірі қара малдың көзінен бөлініп алынған бактериялық флораның антибиотиктерге сезімталдығы келтірілген.

Кілттік сөздер. Індетті кератоконъюнктивит, ірі қара мал, антибиотиктер, фторхинолон.

Summary

Determination of sensitivity to antibiotics of pathogenic microorganisms isolated from the affected eye when infectious bovine keratoconjunctivitis (IBK)

Ivanov N.P., Sattarova R.S., Bakiyev F.A., Yegorova N.N.

LLP "Kazakh Scientific research Veterinary Institute"

This article provides data of the sensitivity of the bacterial flora isolated from the affected eye cattle to antibiotics.

Keywords. Infectious keratoconjunctivitis, cattle, antibiotics, fluoroquinol

УДК619:637.07

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЙ СОСТАВ КРОВИ КОРОВ В ЗОНЕ НЕФТЕГАЗОКОНДЕНСАТНОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ

С. Г. Канатбаев, Е. К. Туяшев, Е. С. Нысанов

Филиал «Западно-Казахстанская научно – исследовательская ветеринарная станция» ТОО «КазНИВИ»

Резюме В рамках научного проекта по теме: «Комплексное изучение состояния экосистем на территориях, прилегающих к Карачаганакскому нефтегазоконденсатному месторождению (КНГКМ), проведен гематологический анализ крови крупного рогатого скота. Исследованы животные, принадлежащие жителям населенных пунктов, расположенных в зоне КНГКМ.

Ключевые слова: анализ, сыворотка, месторождение, элементы

Введение Учитывая расположение КНГКМ вблизи населенных пунктов и сельскохозяйственных земель, принадлежащих фермерским хозяйствам Бурлинского района Западно-Казахстанской области, у населения возникают вопросы, связанные с состоянием почв, качеством поверхностных вод и физиологическим состоянием животных.

Многие соединения тяжелых металлов при содержании в кормах выше максимально допустимых уровней оказывают токсическое действие на организм, а также снижают резистентность к различным заболеваниям. Наиболее токсичными и опасными считаются кадмий, ртуть и свинец(1, 2).

В ранее проведенных исследованиях было установлено, что содержание свинца, кадмий и хрома в поверхностных водах данного региона превышает ПДК в 1,5 и 2 раза. В то же время содержание свинца, кадмий и ртути в молоке не выявлено.

В связи с этим возникает необходимость проведения научных исследований по выявлению степени загрязнения почвы, кормов и изучению гематологического состава крови коров (3, 4).

Материалы и методы Отбор почвенных проб проводился буром БА-25 на глубину пахотного горизонта в 20-40 точках способом маршрутных ходов, равномерно отбираемых посередине элементарного участка вдоль его удлиненной стороны. В дальнейшем эти точечные пробы объединяют в один смешанный образец, который представляет одну смешанную пробу с каждого элементарного участка.

Отбор проб растений проводился на участках с разнообразным ботаническим составом в 10 местах, равномерно отбираемых по маршруту движения. В дальнейшем эти пробы объединяют в один смешанный образец, который характеризует видовой состав пастбища. Отобранная проба высушивается, измельчается и помещается в упаковочную тару (картонная коробочка) с этикеткой, где указаны: наименование пастбища, район, область, номер растительного образца, дата отбора и фамилия исполнителя.

Гематологические исследования крови крупного рогатого скота проводились выборочно, у 10-15% животных. Пробирки с антикоагулянтом ЭДТА использовались для исследования гематологических показателей крови КРС. С помощью автоматического гематологического анализатора MS-4 выявляли уровень содержания в

крови эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобинов, моноцитов, тромбоцитов и гематокрита.

Результаты и обсуждение В санитарно-защитной зоне месторождения исследовали почву на содержание цинка, меди, железа, кадмий, никеля и хрома (табл.1).

Таблица 1- Степень загрязнения почвы токсичными металлами, мг\кг

Токсичные металлы в мг/кг	Наименование населенного пункта					
	ПДК	Пугачево (n=5)	Березовка (n=5)	Жанаталап (n=5)	Долинный (n=5)	Ащысай (n=5)
Цинк	23,0	38,0±1,5	50,5±0,9	48,8±1,4	40,2±1,5	51,8±1,4
Медь	3,5	6,7±0,9	7,2±0,5	6,8±1,3	6,7±1,5	9,4±1,5
Свинец	7,0	4,7±1,3	6,7±1,5	5,4±0,9	5,8±0,5	5,2±0,9
Кадмий	0,8	0,4±1,5	0,5±0,5	0,4±0,9	0,3±1,5	0,3±0,9
Никель	6,7	14,5±1,5	16,3±1,3	13,2±1,5	15,2±0,9	16,0±1,5
Кобальт	5,0	6,6±0,9	6,9±1,3	5,8±0,5	5,6±1,7	6,0±1,7
Хром	6,0	4,4±1,3	4,5±0,5	3,9±1,5	3,4±1,3	3,1±0,5

Примечание: М – средняя арифметическая; m – ошибка среднего арифметического; n – количество животных; уровень вероятности (P) в сравниваемых группах 99,9%.

Как видно из таблицы 1, содержание цинка, меди, никеля и кобальта в почве превышает ПДК во всех пунктах наблюдения. Максимальное содержание цинка отмечено в Ащысай (51,8 мг/кг) и п. Березовка (50,5 мг/кг). Минимальное содержание цинка отмечено в п. Пугачево (38,0 мг/кг). Максимальное содержание меди отмечено в п. Ащысай (9,4мг/кг) и п. Березовка (7,2мг/кг). Содержание свинца в почве п. Березовка составило 6,7 мг/кг при ПДК - 6,0 мг/кг, в остальных пунктах превышение свинца в почве не наблюдалось.

Содержание кадмия не превышает ПДК во всех пунктах наблюдения. Максимальное значение отмечено в п. Березовка (0,5мг/кг), минимальное значение в п. Долинный (0,3 мг/кг). Содержание никеля в почве превышает ПДК во всех пунктах наблюдения. Максимальные значения отмечены в п. Березовка (16,3 мг/кг) и п. Ащысай (16,0 мг/кг), при ПДК - 4.0 мг/кг.

Содержание кобальта превышает ПДК во всех пунктах наблюдения, максимальные значения отмечены в п. Березовка (6,9 мг/кг). Содержание хрома не превышает ПДК во всех пунктах наблюдения. Однако необходимо учесть, что тяжелые металлы обладают кумулятивным свойством.

Действие тяжелых металлов на организм животных вызывает необратимые изменения как в составе, так и в биохимических компонентах крови и позволяет с помощью лабораторных исследований провести раннюю диагностику некоторых заболеваний, когда еще нет

клинического проявления болезни. С этой целью мы выборочно взяли кровь от крупного рогатого скота и подвергли гематологическим исследованиям (табл.2).

Таблица 2 - Гематологические показатели крови коров

Показатели	Норма	Населенные пункты				
		Березовка (n=12)	Пугачево (n=12)	Жанаталап (n=12)	Долинный (n=12)	Ащысай (n=12)
		M ± m	M ± m	M ± m	M ± m	M ± m
Лейкоциты, тыс/мкл	6-12	13,8± 1,3	14±0,7	13± 2,4	14,5± 0,6	14,6± 2,4
Лимфоциты, %	60-65	76± 1,4	78±2,7	70± 2,3	69±0,8	73± 1,6
Моноциты, %	2-7	4± 0,5	6±0,8	5.5±0,8	6± 0,6	6±0,8
Гранулоциты, %	25-50	35± 0,3	42± 0,4	36± 0,6	36±0,8	42± 0,6
Эритроциты, млн/мкл	6-10	7± 0,4	8±0,8	8±0,7	8±0,8	7± 0,6
Гемоглобин, г/%	9,9 -12,9	12± 0,4	11±0,7	12±0,8	11±0,8	11±0,8
Тромбоциты, тыс.	260 -700	339± 0,3	377± 0,5	435± 0,4	212±0,8	235±0,7

Примечание: М – средняя арифметическая; m – ошибка среднего арифметического; n – количество животных; уровень вероятности (P) в сравниваемых группах 99,9%.

Как видно из таблицы 2, у некоторых животных отмечено повышенное содержание лейкоцитов в крови. Так, количество лейкоцитов при норме 6-12 тыс/мкл, в среднем у животных п. Березовка был равен соответственно 13.8 тыс/мкл, п. Ащысай – 14,6 тыс/мкл, п. Долинный – 14,5 тыс/мкл.

Во всех пяти населенных пунктах количество лимфоцитов превышает норму на 10-13 %. Если в норме уровень лимфоцитов в крови 60-65 %, то в крови коров п. Пугачево – 78 % и п. Березовка – 76 %.

Заключение. Содержание цинка, меди, никеля и кобальта в почве превышает ПДК во всех пунктах наблюдения. Превышение концентрации свинца в почве наблюдалось только в п. Березовка. Содержание кадмия и хрома не превышает ПДК во всех пунктах наблюдения.

При гематологических исследованиях у отдельных животных выявлено повышенное содержание лейкоцитов в крови с одновременным увеличением количества лимфоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ларионов Г.А. Содержание тяжелых металлов в почве, кормах и молоке коров // Ветеринария. 2005.-№ 6. - С. 45 - 47.
2. Новиков В.А., Тремасов М.Я. Техногенное воздействие тяжелых металлов // Ветеринария. 2004. - № 11. - С. 51 - 55.
3. МУ по определению тяжелых металлов в почвах с\х угодий и продукции растениеводства.1989.
4. ГОСТ 31178-96 Атомно-абсорбционный метод определения токсичных элементов.

Сведения об авторах

Канатбаев С. Г.- доктор биологических наук, гл. научный сотрудник филиала «Зап. Каз. НИВС» ТОО «КазНИВИ»

Туяшев Е.К. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник филиала «Зап. Каз. НИВС» ТОО «КазНИВИ»

Нысанов Е. С. – научный сотрудник филиала «Зап. Каз. НИВС» ТОО «КазНИВИ»

Түйін

МҰНАЙГАЗКОНДЕНСАТЫ КЕН ОРНЫНА ТИІСІЛІ АЙМАҚТАҒЫ СИЫРЛАР ҚАНЫНЫҢ ГЕМАТОЛОГИЯЛЫҚ ҚҰРАМЫ

Канатбаев С. Г., Туяшев Е.К., Нысанов Е. С.

«Батыс-Қазақстан ветеринариялық ғылыми- зерттеу стансасы» Қазақ ҒЗВИ филиалы

Мақалада «Қарашығанақ мұнайгазконденсаты кен орнына (ҚМГКК) тиісілі аймақтың экожүйесінің жағдайын кешенді анықтау» ғылыми жоба тақырыбы шеңберінде ірі қара мал қанның гематологиялық талдау жасалды. Қарашығанақ кен орнының аймағында орналасқан елді мекендердің тұрғындарына тиесілі жануарлар зерттелді.

Кілттік сөздер талдау, сарысу, кен орны, элементтер

Summary

HAEMATOLOGICAL COMPOSITION OF BLOOD OF COWS IN THE ZONE OIL AND GAS FIELDS

Kanatbayev S.G., Tuyashev E.K, Nysanov E.S.

Branch "West - Kazakhstan scientific - research Veterinary Station"

In the framework of a research project on the topic “Comprehensive studying of ecosystem at the territories adjacent to the Karachaganak oil and gas field (KOGF)” hematological analysis of blood of cattle was conducted. The animals belonging to residents of settlements located in the area of the Karachaganak field were studied.

Keywords: analysis, serum, field, elements

ВОЗБУДИТЕЛИ ДЕРМАТОМИКОЗОВ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ОТ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В ХОЗЯЙСТВУЮЩИХ СУБЪЕКТАХ АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ

Кухар Е.В., Саттарова Р.С., Бакиева Ф.А., Смагулова А.М.

Казахский агротехнический университет им.С.Сейфуллина
ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме. В результате исследований из биоматериала, взятых от телят из хозяйства Алматинской области с подозрением на трихофитию крупного рогатого скота, нами выделен типичный для крупного рогатого скота возбудитель трихофитии вида *Trichophyton verrucosum* var. *album*.

Эпизоотический штамм *T. verrucosum* отличается наличием выраженных сахаролитических свойств и уреазной активности.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, дерматомикозы, мицелий, хламидоспоры, артроспоры, уреазная активность, сахаролитическая свойства, идентификация

Возбудители дерматомикозов в зависимости от факторов внешней среды обладают способностью оставаться жизнеспособными от 7 до 10 лет и оставаться источником инфекции для животных и людей [1]. Данный фактор объясняет трудность искоренения зоонозных дерматомикозов, хотя с середины прошлого столетия учеными были достигнуты хорошие результаты в борьбе с этой инфекцией [2].

К настоящему времени появления дерматомикозов наблюдаются среди многих видов сельскохозяйственных животных. Численность поголовья, особенно у крупного рогатого скота пораженного грибами-дерматомицетами, возрастает. Реально оценить количество больных животных в Казахстане не представляется возможным, т.к. отсутствуют статистические данные и отчетность по микозам животных. Однако, количество и ассортимент завозимых в Республику Казахстан вакцин для борьбы с трихофитией и микроспорией домашних и сельскохозяйственных животных, ежегодно возрастает. Это является косвенным показателем актуальности поднимаемых вопросов по своевременной диагностике, достоверной идентификации и борьбе с возбудителями дерматомикозов.

По сообщениям Панина А.Н., Маноян М.Г. и других (2003), эпизоотическая ситуация по дерматомикозам животных в последние годы осложнилась и усугубилась появлением ассоциированных заболеваний и обнаружением нехарактерных этиологических агентов. До 50% случаев кожных поражений животных вызвано присутствием грибов дерматофитов, дрожжей и недерматофитных нитчатых грибов [3]. Во

многих случаях, это делает неэффективной работу ветеринарных специалистов по вакцинации поголовья препаратами, содержащими споры, мицелий или химические антигенные компоненты клеточных стенок классических возбудителей.

Иногда проблемой становится высокая устойчивость, вирулентность и патогенность дерматомицетов, вызванная нерациональным применением антибиотиков и противогрибковых препаратов [4].

Дерматомикозы, являясь зоонозными болезнями, представляют угрозу для здоровья человека. По данным Министерства здравоохранения РК за период 2007-2011 годов больные трихофитией и микроспорией среди населения регистрируются повсюду. За период 2007-2011 гг. среди населения заболеваемость трихофитией превалировала в южных регионах Республики Казахстан. По северному региону наибольшая заболеваемость трихофитией отмечается в СКО и Кустанайской областях. Наибольшая заболеваемость микроспорией за этот же период среди населения зарегистрирована в южных и северных регионах Республики Казахстан. По частоте заболеваемости микроспорией лидируют Алматинская и Кызылординская области [5].

Представляет научный интерес спектр возбудителей дерматомикозов среди поголовья крупного рогатого скота в южных регионах Республики.

Целью нашей работы было изучение спектра возбудителей дерматомикозов молодняка крупного рогатого скота в хозяйствующих субъектах Алматинской области.

Материалы и методы

Отбор биоматериала производили в хозяйствующих субъектах Алматинской области в зимнее время года, т.к. в это время отмечается вспышки дерматомикозов из за скученного содержания, высокой влажности в помещениях, гиповитаминоза, недостаточной инсоляции мест содержания животных.

Пробы в количестве 8 штук отбирали по общепринятой методике. Корочки, волоски с луковицами отбирали с краев участка поражения стерильным пинцетом и скальпелем. Доставленный в лабораторию биоматериал для посева выдерживали в 70% спиртовом растворе в течение 20 минут.

Для выделения чистых культур дерматомицетов, плесени и дрожжей использовали агар Сабуро.

Для поверхностного культивирования при изучении биологических свойств дерматомицетов использовали агар Сабуро, агар Чапека, картофельный, медовый и кукурузный агар.

Для определения сахаролитической активности использовали среду Гисса с сахарозой, глюкозой, лактозой, мальтозой и маннитом.

Для выявления уреазной активности посева осуществляли на среду Кристенсена с 40% мочевины [6].

Поверхностное культивирование дерматомицетов проводили при температуре 28° С в течение 20-30 суток до завершения формирования характерных колоний в чашках Петри и пробирках на скошенном агаре, на агаровых блоках по Кадену.

Микроскопию мазков проводили в нативных и окрашенных препаратах. При этом мазки, окрашивали по Граму, по общепринятой методике и просматривали при малом увеличении микроскопа (40×), затем при большом (100×). Детально препарат изучали при увеличении микроскопом до 400Д.

Для проведения микроскопии проводился посев на агаровые блоки по Кадену, которые через 24, 48 и 72 часа просматривались под микроскопом.

В дальнейшем проводили изучение биохимических свойств: сахаролитической и уреазной активности.

С целью исключения мик-инфекции и подавление роста плесени, проводили пересев на питательную среду Сабуаро с клотримазолом.

Видовую принадлежность возбудителя определяли микроскопированием по известной методике и с помощью определителя Д. Саттон [7].

Результаты исследований

В условиях стойлового содержания проводили клинический осмотр телят и коров. При выявлении на коже очагов поражения, имеющих сходство с трихофитийными очагами (рисунок 1), проводили отбор проб биологического материала.



Рисунок 1. Очаги поражения кожи теленка на голове в области глаз и нижней челюсти

Поверхностное культивирование проводили на среде Сабуро с антибиотиком и фактором роста и без них при температуре 28° С в чашках Петри. Наблюдение за ростом вели ежедневно, т.к. в чашках без антибиотика наблюдался пророст.

При культивировании штаммов микромицетов отмечали, что достаточно заметный рост колоний начинается на вторые-третьи сутки.

Нами отмечалось, что вначале формировались колонии дрожжей и плесневых грибов, затем дерматомицетов. Формирование характерных колоний дерматомицетов происходит к 15-30 суткам, плесеней – на 4-5 сутки, дрожжей – на 2-3 сутки. Наряду с отдельными, хорошо заметными колониями микромицетов, отмечался смешанный рост грибов, свидетельствующий о возможной мик-инфекции или контаминации банальной микрофлорой. Наиболее часто на питательных средах наблюдался рост плесеней: *Penicillium verrucosum*, *Penicillium lividum*.

Из дрожжей отмечали рост колоний рода *Candida*.

Для исключения контаминации проб проводили повторное взятие проб материала от животных и посевы на питательные среды в аналогичных условиях.

В результате проведенных исследований нами выделена чистая культура дерматомицета *Trichophyton verrucosum* var. *album* (рисунок 2).

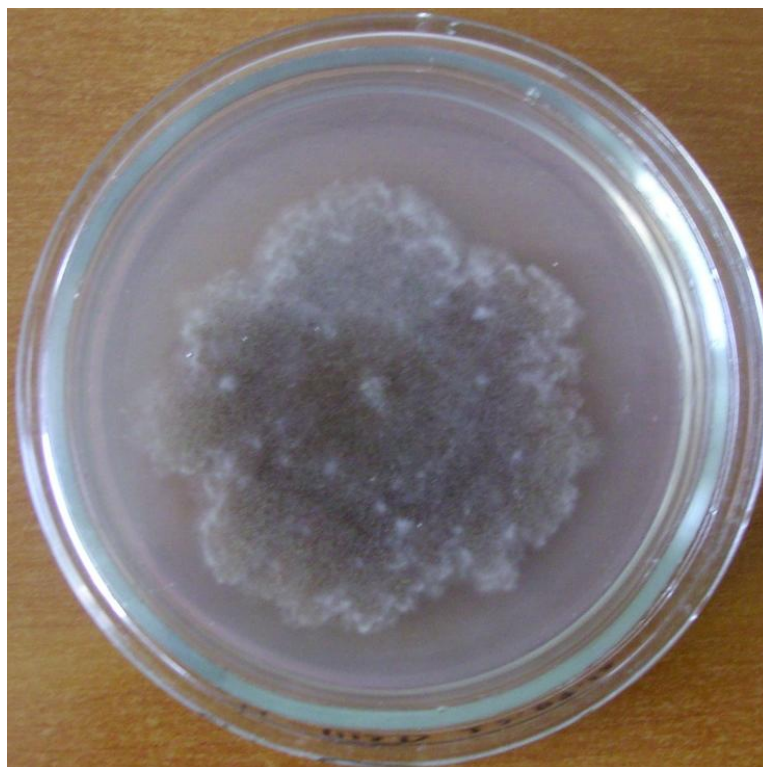


Рисунок 2 – Колония микромицетов, содержащая белые участки мицелия дерматомицетов и темные – плесневых грибов

Штамм отличался характерным ростом, белая пушистая колония с типичным окрасом обратной стороны колонии коричневого цвета.

Под микроскопом наблюдали наличие мицелия дерматомицетов. Тонкий, бесцветный, септированный мицелий был характерен для грибов рода *Trichophyton*. Стареющий мицелий представлен в виде цепочки бус:

крупные споры будто нанизаны на нить, что создает эффект четок или женских бус (рисунок 3).

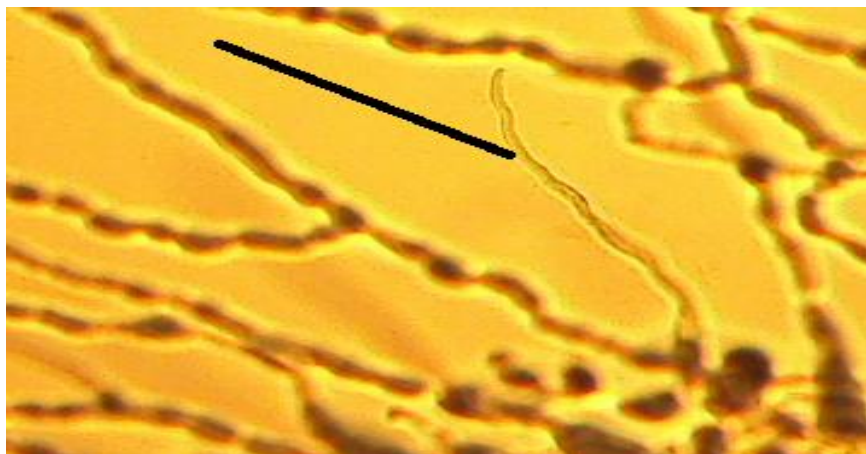


Рисунок 3 – Тонкий бесцветный септированный молодой мицелий *Trichophyton verrucosum* (показан стрелкой) и стареющий мицелий с артроспорами (бусинки на нитке)

С целью изучения биохимических свойств определяли ферментативную активность и рост грибов на разных питательных средах. Определяли сахаролитическую активность в отношении глюкозы, лактозы мальтозы, маннита и сахарозы на среде Гисса, а также уреазную активность на среде Кристенсена.

Реакцию на наличие сахаролитических свойств оценивали по изменению цвета среды Гисса. При положительной реакции образуется кислота и может произойти образование пузырьков газа в глубине или на поверхности среды. Это связано с тем, что при сбраживании того или иного углевода образуется кислота, происходит восстановление обесцвеченного фуксина и среда меняет окраску (рисунок 4). Если цвет среды не меняется, то реакция считается отрицательной.

Анализ роста *T. verrucosum* на поверхности косячков со средой Кристенсена показал, что идет активное расщепление мочевины с образованием аммиака, который защелачивает среду, что сопровождается изменением цвета с желтого на розово-красный. На рисунке 4 можно увидеть изменение цвета, то есть положительную уреазную реакцию.



Рисунок 4 – Изменение цвета сред Гисса, хорошо заметное в сравнении с контролем (а); наличие газообразования (разрывы среды в толще геля) в пробирке с глюкозой (б); уреазная активность штамма *T. verrucosum* (в)

Как видно из рисунка 4, практически все сахара расщепляются дерматомицетом (слева направо: мальтоза, сахароза, лактоза, маннит, глюкоза). Наиболее выражен результат при расщеплении сахарозы и глюкозы, что сопровождается не только изменением цвета среды (4а), но и активным образованием хорошо заметных пузырьков газа (4б).

Как видно из рисунка 4в, положительная реакция на наличие фермента уреазы «+» – сопровождается появлением розово-красного цвета; отрицательная реакция «-» – цвет среды – желтый (не изменен).

Активность ферментов штамма дерматомицета *Trichophyton verrucosum* var. *album* показан на рисунке 5.

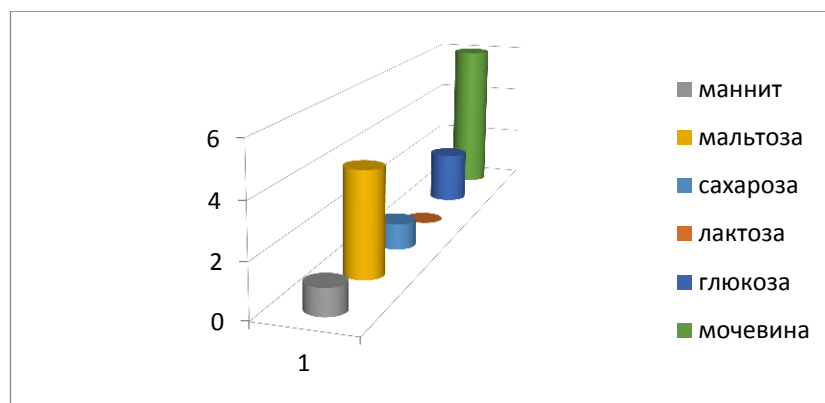


Рисунок 5 – Анализ ферментативной активности *T. verrucosum* var. *album*

Обсуждение результатов

Поверхностным культивированием на среде Сабуро нами была выделена чистая культура дерматомицета, идентифицированного в дальнейшем как *Trichophyton verrucosum* var. *album*

Возбудители этого вида имеют бесцветный, септированный мицелий, с обильными микроконидиями и способностью образовывать хламидоспоры и артроспоры. Отличаются выносливостью и устойчивостью к неблагоприятным факторам внешней среды.

Штамм обладает выраженными ферментативными способностями расщепления сахаров и мочевины. Отлично расщепляет глюкозу и другие сахара. Косвенным подтверждением активности расщепления сахаров служит и объем накопления биомассы дерматомицета, что хорошо заметно по наличию белой мицелиальной массы на поверхности питательной среды.

Если расположить сбраживаемые сахара по степени активности их расщепления, то нами получены следующие результаты: глюкоза>сахароза>мальтоза>лактоза>маннит.

Данные наших исследований вполне согласуются с классическими данными. Для примера можно привести состав любой среды, которая включает в себя сахара: мальтозный агар Сабуро, глюкозный агар Сабуро, среда Чапека (на основе глюкозы) и т.д.

Активность ферментов в отношении мочевины подтверждает мнение большинства ученых, что кожа животных является излюбленным местом обитания дерматомицетов в том числе и из-за наличия соединений аммиака, связанных с большим количеством потовых желез кожи.

Выводы

1. Среди крупного рогатого скота хозяйствующих субъектов Алматинской области имеет место трихофития, вызванная возбудителем трихофитии вида *Trichophyton verrucosum* var. *album*.

2. Эпизоотический штамм *T. Verrucosum*, выделенный от крупного рогатого скота Алматинской области отличается наличием выраженных сахаролитических свойств и уреазной активностью, что является его характерным отличительным признаком.

Литература

1. Саркисов А.Х. Основные пути и средства искоренения дерматомикозов в странах мира: достигнутое и задачи // Вестник с.-х. науки. – 1991.- № (412). – С. 109-15.

2. Маноян М.Г., Панин Овчинников Современные средства специфической профилактики и терапии дерматомикозов животных. Современная микология // Том 2 Тезисы докладов Второго съезда микологов России, М. - 2008. С. 134-135.

3. Панин А.Н., Маноян М.Г. и др. Изменение спектра зооантропофильных дерматофитов, поражающих лошадей // Усп. мед. микологии. – СПб. - 2003. – Т. II. – С. 118-119.

4. Cutler J.E., Deepe G.S. Jr., Klein B.S. Advances in combating fungal diseases: vaccines on the threshold // Nature reviews. Microbiology. – 2007. – №5(1). – P. 13-28. (PMID:17160002)

5. Ахмади Мохаммад Сардар. Современные методы идентификации микроорганизмов. Дисс. на присуждение акад. степ. магистра вет. наук. Астана, 2014.

6. Саттарова Р.С., Мусылманбекова А. Изучение сахаролитической и уреазной активности эпизоотического штамма *Trichophyton verrucosum* // Мат. конференции «Сейфуллинские чтения - 12». – Т.1, Ч. 1. – Астана, 2016. – С. 309-311.

7. Саттон Д., Фотергил А., Ринальди М.. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. М., 2001. С 486.

Түйін

АЛМАТЫ ОБЛЫСЫ ЖЕКЕ ШАРУАҚОЖАЛЫҒЫНДАҒЫ ІРІ ҚАРА МАЛДАН БӨЛІНГЕН ДЕРМАТОМИКОЗ ҚОЗДЫРҒЫШТАРЫ

Кухар Е.В., Саттарова Р.С., Бакиева Ф.А., Смагулова А.М.

С.Сейфуллин атындағы қазақ агротехникалық университеті
«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Алматы облысы жеке шаруақожалығындағы бұзаулардан алынған биоматериалды зерттегенде ірі қара малдың трихофитиясына тән *Trichophyton verrucosum* var. *album* қоздырғышы бөлініп алынды.

T. verrucosum эпизоотиялық штаммы сахаролиттік қасиеті және уреаздық белсенділігімен ерекшеленеді.

Summary

AGENTS OF DERMATOMICETES ISOLATED FROM CATTLE OF FARMS ALMATY REGION

Kazakh agrotechnical university named under S.Seifullin
LLP "Kazakh Scientific research Veterinary Institute"

As a result of investigations of biological material taken from calves from farms of Almaty region with suspected trichophytosis cattle, we selected a typical cattle pathogen Trichophyton species *Trichophyton verrucosum var. album*.

Epizootic strain of *T. verrucosum* is characterized by a pronounced activity digested sugar and urease activity.

УДК 619:616.98:578.835.2:616-036.22

АНАЛИЗ ЭПИЗОТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО ЯЩУРУ В МИРЕ И МЕРЫ БОРЬБЫ С НИМ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Лозовой Д.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»),
г. Владимир, Россия

Резюме Приведена эпизоотическая ситуация по ящуру животных в различных странах мира в 2014-2016 гг. В 2015 г. в Иране, Турции, Саудовской Аравии и Армении отмечены вспышки ящура, обусловленные вирусом нового штамма типа А генетической линии А GVII. При возникновении ящура кроме общих ветеринарно-санитарных мер во многих странах осуществляют вынужденную вакцинацию животных с использованием вакцин, отвечающих требованиям МЭБ.

Ключевые слова: ящур животных, эпизоотическая ситуация, страны мира, новый штамм, вакцинация

Введение Ящур относится к особо опасным трансграничным высококонтагиозным вирусным заболеваниям животных и подлежит обязательной нотификации. Он может протекать в форме эпизоотий и панзоотий с тяжелыми экономическими и социальными последствиями (1-4).

Анализ последних данных МЭБ и сообщений СМИ свидетельствует о том, что несмотря на принимаемые меры, эпизоотическая ситуация по

ящур в мире остается довольно напряженной. По официальным данным, в 2014-2015 гг. неблагополучными по ящуре были 63 страны, из них 27 азиатских, 35 африканских и 1 южноамериканская. При этом регистрировали ящур всех 7 известных типов, в том числе типа О – в 38 странах, А – в 16, С – в 2, Азия-1 – в 3, САТ-1 – в 9, САТ-2 – в 11, САТ-3 – в 2, а в 16 странах тип возбудителя не был установлен (5,6). В некоторых государствах выделяли вирус ящера 2-5 типов (Афганистан, Вьетнам, Индия, Ирак, Иран, Камбоджа, Китай, Таиланд, Турция, ДР Конго, Египет, Кения, Танзания и др.). В ряде стран при этом он получил значительное распространение.

В 2014 г. в Китае отмечено заболевание ящуром КРС и свиней (типа А и О), в Монголии – КРС и МРС (типа А), в Южной Корее – свиней (типа О). Значительное распространение ящур типа О получил в Северной Корее среди свиней (24 очага), в Тунисе среди КРС и МРС (150 очагов), в Алжире среди КРС (417 очагов). Из других стран следует отметить Киргизию, ветеринарная служба которой информировала МЭБ о возникновении в августе 2014 г. ящера среди КРС на пастбище Таласской области. В африканских странах и на Ближнем Востоке получил распространение ящур типа САТ-2.

В России в первом квартале 2014 г. в Забайкальском крае были отмечены единичные случаи заболевания КРС ящуром типа А и О в двух селах Приаргунского района, граничащего с Китаем, и типа А в одном селе Ононского района, граничащего с Монголией. В мае 2014 г. ящур типа О получил распространение среди свинопоголовья в Спасском районе Приморского края, граничащем с Китаем. Оперативное применение для вынужденной вакцинации эмульсионной вакцины производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» позволило купировать и ликвидировать ящур в пределах указанного района (7-8). Еще одна вспышка ящера типа А отмечена в сентябре 2014 г. среди КРС в Приаргунском районе Забайкальского края. Выделенный от больных животных изолят вируса ящера, как и в 2013 г., отнесен к генетической линии А / Юго-Восточная Азия-97 (А/SEA-97). Следует отметить, что ящур типа А в 2013 г. возник в России после 20-летнего отсутствия.

Своевременное выявление больных животных, отбор от них проб патматериала и доставка их для исследования, идентификация возбудителя, изучение выделенных изолятов, срочное изготовление вакцин с использованием новых штаммов и их оперативное применение в неблагополучных зонах позволило купировать и ликвидировать в 2014 г. очаги ящера и не допустить широкого распространения инфекции в регионе. Благодаря этому в 2015 г. новых очагов ящера на территории России не регистрировали. В 2016 г. подготовлено и представлено в МЭБ досье о признании Российской Федерации страной с зоной, благополучной по ящуре без вакцинации, включающей 50 регионов, которые более 25 лет являются благополучными по ящуре. Отрадно отметить, что в мае 2015 г. на 83-й Генеральной сессии МЭБ Казахстан получил сертификат о признании своей

страны с зоной, свободной от ящура без применения вакцины, включающей 9 северных и западных областей. Продолжается работа с экспертами МЭБ по заявке о признании Казахстана с зоной, свободной от ящура с вакцинацией, включающей 5 южных и восточных областей. В то же время, судя по официальным данным, в ряде зарубежных стран в 2015 г. эпизоотическая ситуация по ящуру была довольно напряженной, особенно в Южной Корее, Китае, Монголии, Турции, Иране, Саудовской Аравии, Израиле и др.

В Южной Корее в период с декабря 2014 г. по апрель 2015 г. было зарегистрировано 180 очагов ящура типа О, в которых из 445233 свиней заболели 141318 голов (31,7 %). В процессе проведения противоящурных мероприятий все больные животные были уничтожены. В январе-марте 2016 г. в Южной Корее в 20 свиноводческих хозяйствах были зарегистрированы массовые заболевания ящуром типа О, вследствие чего почти все поголовье в них (29215 свиней) было уничтожено.

В Китае в январе и мае 2015 г. в двух провинциях (Аньхой и Хубэй) отмечалось заболевание ящуром крупного рогатого скота и свиней, обусловленное вирусом генетической группы А/SEA-97. Ящур типа О зарегистрирован в марте 2016 г. среди партии свиней на бойне в провинции Сычуань, в мае – среди КРС в провинции Гуйчжоу.

В Монголии вспышки ящура типа О имели место в феврале-мае и октябре 2015 г. в трех аймаках, граничащих с Китаем. Результаты проведенных лабораторных исследований (ПЦР, секвенирование и филогенетический анализ) патматериала от больного КРС, поступившего в ФГБУ «ВНИИЗЖ» из Баян-Улэгэйского аймака, показали, что вспышка ящура там была обусловлена вирусом ящура генетической линии О/PanAsia.

Следует обратить внимание на выявление нового штамма вируса ящура типа А в ряде стран Среднего Востока (6,9). В Турции в сентябре-октябре 2015 г. в трех илах (вилаятах) среди КРС были зарегистрированы вспышки ящура типа А. При этом, в частности, в северо-восточном иле Амасья, расположенном вблизи границы с Арменией, из 2123 голов заболели 417 животных (19,6%), пали 34 (8,2%). При детальном изучении выделенного возбудителя этих вспышек во Всемирной референтной лаборатории МЭБ по ящуру (WRL-FMD, Пирбрит, Великобритания) он был определен как новый штамм «генотип G-VII». В последующем вирус этого штамма быстро распространился на значительной территории Турции и болезнь перешла в категорию эндемических.

В сентябре 2015 г. в Иране зарегистрирована вспышка ящура среди бычков на откорме, обусловленная этим же штаммом типа А, генетической линии А GVII. В сентябре-октябре 2015 г. в двух провинциях Саудовской Аравии также отмечался ящур, обусловленный вышеупомянутым штаммом (заболело 595 голов КРС и 90 овец). На основании результатов изучения этого штамма во Всемирной референтной лаборатории МЭБ по ящуру сделано заключение, что противоящурные вакцины, изготовленные

с использованием ранее применяемых штаммов вируса типа А, не эффективны или недостаточны эффективны против нового штамма типа А генетической линии А GVII.

В конце декабря 2015 г. в Армении, на границе с Турцией, отмечена вспышка ящура среди КРС и свиней. При детальном исследовании в ФГБУ «ВНИИЗЖ» в доставленном патматериале был установлен вирус ящура типа А генетической линии А GVII, который после адаптации к культурам клеток и соответствующей подготовки был депонирован и использован для изготовления противоящурных вакцин. Приготовленная в ФГБУ «ВНИИЗЖ» вакцина в марте 2016 г. отправлена и с положительным эффектом применена в Армении.

В ноябре 2015 г. в Израиле были зарегистрированы вспышки ящура типа О среди свиней и КРС. Широкое распространение ящур этого типа получил в январе-феврале 2016 г. и в Кувейте на частных молочных фермах, в ряде случаев с гибелью телят. В 12 зарегистрированных очагах из 6 101 животных заболело 711 (11,7 %), из них погибло 44 (6,2 %).

Распространение ящура в ряде стран Среднего Востока, в том числе вызванного новым штаммом типа А, вследствие возможного его заноса в другие государства Центральной Азии и Закавказья может привести к значительному расширению неблагополучной зоны, как это отмечали и раньше.

В большинстве зарубежных стран перечень осуществляемых противоящурных мероприятий включает полный или частичный санитарный убой животных, карантин, ограничения на перемещения животных и животноводческой продукции, скрининг, зонирование, дезинфекцию инфицированных помещений и инвентаря. В связи с возникновением ящура во многих государствах проводят вынужденную вакцинацию животных, даже несмотря на то, что до возникновения ящура действовал запрет на нее. В Российской Федерации разработан и реализуется план профилактической вакцинации КРС и МРС за счет средств федерального бюджета в буферной зоне, включающей южные регионы страны.

Во многих государствах в настоящее время большое внимание уделяется разработке и реализации планов поэтапной борьбы с ящуром с целью улучшения или сохранения официального статуса страны в соответствии с Глобальной стратегией борьбы с ящуром МЭБ/ФАО (10).

В связи с этим необходимо подчеркнуть, что в случае подозрения на заболевание животных ящуром или затруднений в диагностике ФГБУ «ВНИИЗЖ», как Региональная референтная лаборатория МЭБ по ящуру, Референтный центр ФАО по ящуру для стран Центральной Азии и Западной Евразии, Центр МЭБ по сотрудничеству в области диагностики и контроля болезней животных для стран Восточной Европы, Центральной Азии и Закавказья, проводит в соответствии с «Комплексом совместных мер государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с ящуром на период до 2020 года» бесплатно необходимые диагностические исследова-

ния, в том числе молекулярно-биологические, а также на договорной основе изготавливает и поставляет в разные страны диагностикумы и противоящурные вакцины соответствующих типов, в том числе изготовленные с использованием новых актуальных штаммов вируса ящура, генетически родственных штаммам, циркулирующим в регионе, для которого производится вакцина, а также оказывает различные услуги по профилактике инфекционных болезней животных и методическое обслуживание ветеринарных служб этих стран, по выработке эффективных решений для локализации и ликвидации эпизоотических очагов, обеспечения благополучия территорий от эпизоотий ящура.

Заключение Эпизоотическая ситуация по ящуру в мире в 2014-2016 гг. характеризовалась определенной напряженностью. Возникновение ящура в 2013-2014 гг. в субъектах РФ было обусловлено заносом вирусов из сопредельных территорий, т.к. во время вспышек были получены изоляты вируса ящура, антигенно родственные тем вирусам, что циркулировали в соседних странах. Своевременная диагностика вспышек ящура, изучение выделенных изолятов, срочное изготовление вакцин с использованием новых штаммов и их оперативное применение в неблагополучных зонах позволило купировать и ликвидировать ящурные очаги. С целью недопущения заноса, возникновения и распространения ящура необходимо добиваться своевременного и полного осуществления комплекса общих и специальных ветеринарно-санитарных мер по обеспечению благополучия стран по ящуру.

Литература

1. Инфекционная патология животных. Руководство в 7 т. Т.1. Ящур // ред. А.Я. Самуйленко. - М.: ВНИТИБП, 2014.-264 с.
2. Ящур // под ред. А.Н. Бурдова. – М.: Агропромиздат, 1990. – 320 с.
3. Гуленкин В.М. Ящур в Азиатско-Тихоокеанском регионе и его экономические последствия // Ветеринария. – 2014. - №9. – С. 4-8.
4. Критерии включения болезней, инфекций и инфестаций в список МЭБ//МЭБ. Кодекс здоровья наземных животных. - 24-е изд. Т.1.- Париж, 2015. –С.4-7.
5. OIE. Disease Information. - 2014. - Vol.27. - №1-52.
6. OIE. Disease Information. - 2015. - Vol.28. - №1-53.
7. Мищенко А.В., Мищенко В.А., Дрыгин В.В. [и др.]. Эпизоотологические особенности ящура типа А, вызванные гетерологичными штаммами вируса // Ветеринария. – 2014. - №11. – С. 20-24.
8. Щербаков А.В. Молекулярная эпизоотология ящура в России (филогенетический анализ российских изолятов вируса ящура) // Ветеринария сегодня. – 2015. - №3(14). – С.30-36.
9. OIE. Disease Information. - 2016. - Vol.29. - №1-20.

10. The Global Foot and Mouth Disease Control Strategy / OIE/FAO.– Paris, 2012. – 44 p.

Сведения об авторе:

Лозовой Д.А. - кандидат ветеринарных наук, директор ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных»

Түйін

ӘЛЕМДЕГІ АУСЫЛ АУРУЫНЫҢ ЭПИЗООТИЯЛЫҚ ЖАҒДАЙЫН ТАЛДАУ ЖӘНЕ ОНЫМЕН ЗАМАНАУИ ЖАҒДАЙДА КҮРЕСУ ШАРАЛАРЫ

Лозовой Д.А.

Федералды мемлекеттік бюджеттік кәсіпорны «Мал денсаулығын қорғаудың федералды орталығы» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), Владимир қ., Ресей

Мақалада 2014-2016 жж. әлемнің әртүрлі елдеріндегі мал аусылының эпизоотиялық жағдайы келтірілген. 2015 жылы Иранда, Түркияда, Сауд Аравиясында және Арменияда А GVII генетикалық сызықты А типті жаңа штамм вирусынан туындаған аусыл ауруы анықталды. Аусыл туындаған кезде жалпы ветеринариялық-санитариялық шаралардан басқа көптеген елдерде ХЭБ талаптарына сай келетін вакциналарды қолданып, малдарға қажетті вакцинация жүргізіледі.

Кілттік сөздер: мал аусылы, эпизоотиялық жағдай, әлемдік елдер, жаңа штамм, вакцинация

Summary

ANALYSIS OF CURRENT FMD EPIDEMIC SITUATION AND CONTROL MEASURES

Lozovoy D.A.

Federal governmental state-financed institution “Federal centre for animal health” (FGBI “ARRIAH”), Vladimir, Russia

Epidemic situation on foot-and-mouth disease (FMD) in different countries in the world in 2014-2016 is described. FMD outbreaks associated with new type A genotype G-VII FMD virus strain were reported in Iran, Turkey, Saudi Arabia and Armenia in 2015. In many countries emergency vaccination using

vaccines complying to the OIE requirements is carried out in addition to the common veterinary and sanitary measures in case of FMD occurrence.

Keywords: foot-and-mouth disease in animals, epidemic situation, countries in the world, new virus strain, vaccination

УДК 619:616.98:578.835.2:615.371

ПРЕИМУЩЕСТВА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭМУЛЬСИОННЫХ ПРОТИВОЯЩУРНЫХ ВАКЦИН

Лозовой Д.А., Михалишин Д.В.

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных»
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

Резюме Целью исследований было изучить скорость формирования и продолжительность гуморального иммунитета у КРС, вакцинированного эмульсионными вакцинами в сравнении с сорбированными противоящурными вакцинами.

Ключевые слова: ящур, сорбированные противоящурные вакцины, эмульсионные противоящурные вакцины, гуморальный иммунитет, вирус-нейтрализующие антитела

Введение Применение комплекса ветеринарно-санитарных мер и широкое использование инактивированных вакцин позволили добиться коренного перелома в эпизоотической ситуации по ящуру в мире. Специфическая вакцинопрофилактика является главным звеном при поддержании устойчивого благополучия по ящуру в России и других странах.

В настоящее время в РФ производятся и применяются следующие вакцины против ящура:

-сорбированная для иммунизации КРС, МРС;

-эмульсионная для иммунизации всех видов восприимчивых животных.

Основной задачей вакцинопрофилактики ящура является создание напряженного продолжительного иммунитета у привитых животных. Эмульсионные противоящурные вакцины с множественным типом эмульсии вода/масло/вода формируют напряженную и продолжительную защиту по сравнению с сорбированными вакцинами [2, 6].

Материалы и методы Вакцины; №1 - моновалентная сорбированная противоящурная вакцина с сапонином из вакцинного штамма А№2045/Киргизия/2007 (согласно СТО 00495527-0143-2010),

№2 - эмульсионная противоящурная вакцина «АРРИАХ-ВАК» на основе масляного адъюванта Montanide ISA-206 VG (Seppic, Франция), из вакцинного штамма А№2045/Киргизия/2007 (согласно СТО 00495527-0065-2012),

№3 - моновалентная сорбированная противоящурная вакцина с сапонином из вакцинного штамма О ПанАзия-2 (согласно СТО 00495527-0143-2010),

№4 – эмульсионная противоящурная вакцина «АРРИАХ-ВАК» на основе масляного адъюванта Montanide ISA-206 VG (Seppic Франция), из вакцинного штамма О ПанАзия-2 (согласно СТО 00495527-0065-2012).

Количество иммуногенных компонентов вируса ящура было одинаковым во всех четырех вакцинах и равнялось 6 мкг в прививной дозе.

Крупный рогатый скот (КРС) массой 250-300 килограмм, не привитый против ящура.

Иммуногенную активность вакцин определяли по титрам вируснейтрализующих антител (ВНА) в пробах сыворотки крови, которые определяли в реакции нейтрализации на монослое культуры клеток СП по общепринятой методике [Метод. указания по постановке РН, 1983].

Результаты и обсуждения Опыты, проведенные в ФГБУ «ВНИИЗЖ», показали, что титры ВНА в крови животных, привитых сорбированной и эмульсионной вакцинами, имели различия. Максимальный уровень ВНА после введения сорбированной вакцины у однократно привитых телят наблюдали через 14 дней, затем происходило снижение к 28 дню (таблица 1). Эмульсионная вакцина на 7 сутки после вакцинации формировала уровень ВНА на 0,81 log₂ выше, чем у сорбированной вакцины. На 14, 21, 28 сутки титры ВНА достигли уровня 7,00 log₂ (таблица 1).

Таблица 1 - Динамика нарастания иммунитета у телят после вакцинации сорбированной и эмульсионной моновалентными вакцинами из штамма А№2045/Киргизия/2007

№ вакцин	Прививная доза	Титр ВНА против культурального вируса ящура А №2045 Киргизия/2007 на 7-28 сутки после вакцинации (log ₂)			
		7	14	21	28
1	2см ³	4,69±0,36 p<0,001	6,38±0,07 p<0,001	5,75±0,18 p<0,001	5,05±0,53 p<0,005
2	2см ³	5,50±0,59 p<0,005	7,01±0,53 p<0,001	7,06±1,03 p<0,01	7,00±1,00 p<0,01

В следующем опыте мы сравнивали уровни ВНА, вырабатываемые на эмульсионную и сорбированную вакцины типа О (таблица 2).

Таблица 2 - Динамика нарастания иммунитета у телят после вакцинации сорбированной и эмульсионной моновалентными вакцинами из штамма О ПанАзия-2

№ вакцин	Прививная доза	Титры ВНА против культурального вируса ящура тип О на 14-28 суток после вакцинации (\log_2).		
		14	21	28
3	2 см ³	5,25±0,42 p<0,001	6,40±0,33 p<0,001	5,55±0,73 p<0,001
4	2 см ³	6,25±0,33 p<0,001	7,35±0,32 p<0,001	7,30±0,75 p<0,001

Данные таблицы 2 показали, что вакцина, изготовленная из масляного адъюванта ISA-206 VG из штамма О ПанАзия-2, формировала более высокие титры ВНА, чем сорбированная через 14, 21, 28 суток после вакцинации.

Изучение продолжительности иммунитета в течение 90 дней проводили на 20 головах КРС в возрасте 1 года. Одну группу в количестве 10 голов КРС привили подкожно, в дозе 2 см³, вакциной №1 (сорбированная вакцина на основе штамма А №2045 Киргизия/2007). Другую группу 10 голов КРС привили внутримышечно, в дозе 2 см³, вакциной №2 (эмульсионная вакцина «АРРИАХ-ВАК» на основе штамма А №2045 Киргизия/2007). Титры вируснейтрализующих антител (ВНА) определяли в реакции нейтрализации.

Пик ВНА, индуцированных вакциной №1, приходился на 21 сутки после иммунизации и составили 6,0±0,32 \log_2 , затем происходило снижение. На 90 сутки после вакцинации титры ВНА были на уровне 4,25±0,32 \log_2 .

Титры ВНА, в группе животных где применяли вакцину №2, уже к 14 суткам после вакцинации составили 6,25±0,22 \log_2 . Медленное нарастание количества вируснейтрализующих антител наблюдали на протяжении всего срока наблюдения и к 90 дню после вакцинации титры ВНА составили 7,5±0,41 \log_2 .

Заключение Иммунобиологическая перестройка организма после вакцинации сорбированными препаратами происходит быстрее, однако наиболее напряженный и продолжительный иммунитет создают эмульсионные вакцины [1, 4, 5].

Защитные титры вируснейтрализующих антител (ВНА), вырабатываемые на первую вакцинацию сорбированной вакциной, находится на уровне в течение 2-3 месяцев (6), а после вакцинации эмульсионной вакциной уровень защитных антител в организме животных сохраняется в течение 6 месяцев [3, 6].

В результате проведенных исследований установлено, что эмульсионные вакцины «АРРИАХ-ВАК» с типом эмульсии вода-масло-вода (адъ-

ювант Montanide ISA-206 VG, Seppic, Франция) после вакцинации по уровню гуморального иммунитета, продолжительности превосходили сорбированные препараты с сапонином в качестве адьюванта.

Для профилактической вакцинации ящур эмульсионными вакцинами КРС (взрослое поголовье и молодняк) прививают 2 раза в год, в отличие от сорбированных вакцин, которыми молодняк от 4 до 18 месяцев необходимо ревакцинировать с интервалом каждые 3 месяца. Таким образом, сокращается количество головообработок в год при вакцинации эмульсионной противоящурной вакциной «АРРИАХ-ВАК» в отличие от иммунизации сорбированной с сапонином вакцины, что в свою очередь приводит к снижению затрат на противоэпизоотические мероприятия.

Литература

1. Дудников А.И., Борисов А.В., Дудников С.А. «Противовирусный иммунитет и практическое достижение в области противоящурной защиты»//Пробл. зооинж. та вет. мед.: зб. наук. працв. Харківської державної зовет. академії. – Харків, 2007. – Вип. 15 (40). ч.2.т1. С.116-120.

2. Михалишин В.В., Мамков Н.С. «Адьюванты и их использование» //Тр. федерального центра охраны здоровья животных: Матер. Междунар. науч. конф. «Инфекц. патология ж-ых» посвящ. 50 летию ФГБУ «ВНИИЗЖ». –Владимир, 2008.-т.6.- С. 340-371.

3. Patil P.K., Bayry Y., Williams L., Doel T.R., International bank for foot-and-mouth disease vaccines: assessment of Montanide ISA 25 and ISA-206, two commercially available oil adjuvants.//vaccine.-1996.-vol.13.-№14: p. 1187-1198.

4. Juer F.V., Jhosh S., Singh S.N., Deshmukh R.A. Evolution of three «ready to formulate» oil adjuvants for foot-and-mouth disease vaccines production.// Vaccine/-2001/-vol.19.-P.1097-1105.

5. Cloete M. и др. Evolution of different adjuvants for foot-and-mouth disease vaccine containing all the SAT serotypes/ Onderstepoort Y. Vet. Res. 2008 Mar: 75(1): 17-31.

6. Fakhry HM, Rizk SA, Abu-Elnaga HI, Deghaidy W., Talaat AA, Hegazi AZ Field application of bivalent foot and mouth disease vaccine adjuvanted with Montanide ISA (25, 50, 206) and IMS (1113-3015) as an alternative to aluminum hydroxide gel. Egypt. J. Virol. 2012; 9 (1):123–136.

Сведения об авторах :

Лозовой Д.А. – директор ФГБУ «ВНИИЗЖ», кандидат ветеринарных наук

Михалишин Д.В. – заведующий лабораторией профилактики ящур, кандидат ветеринарных наук

Түйін

ЭМУЛЬСИОНДЫ АУСЫЛҒА ҚАРСЫ ВАКЦИНАЛАРДЫ ҚОЛДАНУДЫҢ АРТЫҚШЫЛЫҚТАРЫ

Лозовой Д.А., Михалишин Д.В.

ФМБК «Мал денсаулығын қорғаудың федералды орталығы»
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»), Владимир қ., Ресей

Зерттеудің мақсаты сіңірілген аусылға қарсы вакциналарға салыстырмалы түрде эмульсионды аусылға қарсы вакциналар егілген ірі қара малдарда гуморалды иммунитеттің пайда болуы жылдамдығын және ұзақтығын анықтау.

Кілттік сөздер: аусыл, сіңірілген аусылға қарсы вакциналар, эмульсионды аусылға қарсы вакциналар, гуморалды иммунитет, вирусбейтараптаушы антиденелер

Summary

BENEFITS OF EMULSION FMD VACCINES

D.A. Lozovoy, D.V. Mikhailishin

FGBI «Federal Centre for Animal Health» (FGBI «ARRIAH»), Vladimir, Russia

The study was aimed at examination of the rate of humoral immunity formation and its duration in cattle vaccinated with emulsion and sorbate vaccines.

Keywords: foot-and-mouth disease (FMD), sorbate FMD vaccines, emulsion FMD vaccines, humoral immunity, virus-neutralizing antibodies

УДК:619:616.988:636.1

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВАКЦИННОГО ШТАММА SALMONELLA ABORTUS – EQUI E -841 B-0088 ПОСЛЕ ХРАНЕНИЯ В ХОЛОДИЛЬНИКЕ

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

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приводятся результаты исследований биологических и генетических свойств вакцинного штамма *Salmonella abortus – equi* E -841 B-0088 после хранения в холодильнике.

Ключевые слова: сальмонеллезный аборт кобыл, сальмонеллы, штамм, вакцина, белые мыши, геном, нуклеотидная последовательность

Введение Сохранение в генетически стабильном состоянии производственных и контрольных штаммов микроорганизмов, используемых для изготовления вакцин, является обязательным условием. Сохранение в течение максимально длительного времени жизнеспособности и биологической активности культуры является необходимым условием для использования ее при производстве биопрепаратов высокого качества. Аттenuированные штаммы микроорганизмов с заданными свойствами являются основой при производстве живых вакцин. 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 в условиях холодильника (+4-8°C) [4]. Иммуногенные свойства вакцины в значительной степени зависят от состояния исходного матричного штамма после хранения. Большое научно-практическое значение имеет включение в основу технологического процесса этапа по предварительной проверке соответствия биологических свойств производственного штамма его паспортным характеристикам [5].

Вакцинный штамм предназначен для изготовления вакцины против сальмонеллезного аборта кобыл, получен путем ступенчатого отбора клонов, выращенных на средах с антибиотиками и представляет собой аттенуированный штамм. Аттenuированный вакцинный штамм получен из эпизоотической вирулентной культуры *Salmonella abortus – equi*, выделенной из костного мозга абортплода кобыломатки. Его вирулентность снижена в 20 раз по сравнению с природным прототипом. Штамм устойчив к неомицину и стрептомицину, имеет две маркера, обеспечивающих его устойчивость к антибиотикам. Штамм обладает безвредностью и антигенностью для белых мышей; безвредностью и иммуногенностью для кобыл;

утратил абортотропные свойства при введении жеребым кобылам по сравнению с эпизоотической вирулентной культурой *Salmonella abortus – equi*.

Цель - изучение влияния хранения в лиофилизированном состоянии на жизнеспособность и стабильность биологических свойств вакцинного штамма *Salmonella abortus – equi* E -841 B-0088.

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]. Для выявления протеолитической способности испытываемые штаммы засевают на МПЖ. 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 [8]. 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. Антигенная структура тестируемых штаммов сальмонелл изучают путем агглютинации на стекле с монорецепторными O- и H- сыворотками производства Краснодарской биофабрики и Санкт-Петербургского научно-исследовательского института вакцин и сывороток и предприятия по производству бактериальных препаратов. 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.) [9]. Генетическую идентификацию штамма *Salmonella dublin* 15S 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 дерева с нуклеотидными последовательностями референтных штаммов.

ДНК выделяют колоночным методом с помощью набора «PureLink Genomic DNA Kits» (*Invitrogen*) согласно инструкции по применению [10].

Для выделения ДНК используют 2×10^9 взвесь клеток бактерий суточной агаровой культуры. С целью лизирования сальмонелл к осадку клеток добавляют 180 мкл Digestion Buffer. После чего добавляют 20 мкл протеиназы К. 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) [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 Вакцинный штамм *Salmonella abortus-equi* E-841 хранили в холодильнике при +4-8°С в лиофилизированном состоянии. Лиофилизированную культуру вакцинного штамма E - 841 высевали во флаконы с МПБ с 1% глюкозы (реактивация штамма). Через 18 часов на МПБ отмечалось равномерное помутнение с небольшим осадком. Затем культуру вновь пересевали на МПБ во флаконах (культура первой генерации). Через 20 часов из МПБ посева делали на плотные питательные среды МПА, дифференциально–диагностические среды Эндо и Клигlera, висмут сульфитный агар (культура второй генерации). 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-розоватые колонии (сальмонеллы не разлагают лактозу, входящую в состав среды) в S форме. Верхняя часть среды Клигlera 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.

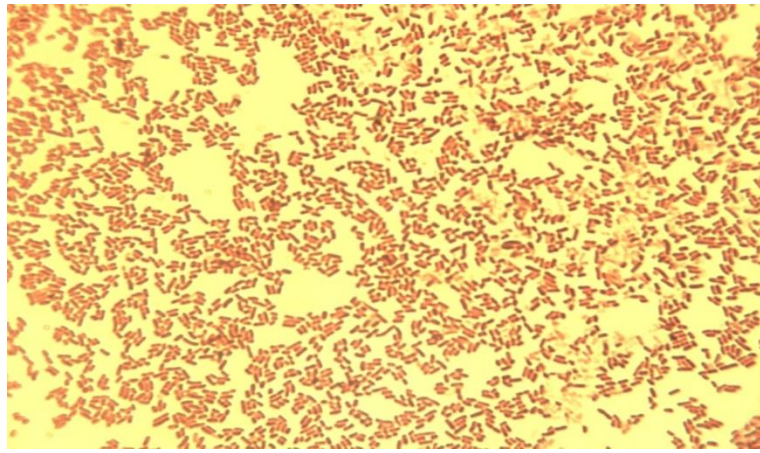


Рисунок 1 – Вакцинный штамм *Salmonella abortus – equi* E -841 B-0088 после освежения

На рисунке видны мелкие грамтрицательные палочки с закругленными концами, типичные для рода *Salmonella*. Культура однородная, контаминации посторонней микрофлорой не наблюдается.

Культура вакцинного штамма агглютинировалась в РА на стекле с поливалентной и монорецепторными сыворотками производства Краснодарской биофабрики. Отмечалась положительная РА с сыворотками O – IV на 4 креста, с O - XII на 3 креста, с H – enx жгутиковым антигеном РА шла на 4 креста. При посеве уколом на ПЖА наблюдалась характерная подвижность сальмонелл (подвижные палочки). Биохимические свойства штамма проверяли путем культивирования на среде Гисса. Сальмонеллы не изменяли инозит, глицерино - фуксиновый бульон, раффинозу, салицин, не ферментировали сахарозу и лактозу; не образовали индола, сероводород не образовывали (этот признак отличает *Salmonella abortus-equi* от других серотипов сальмонелл и является маркерным); вакцинный штамм E-841 обладает высокой ферментативной активностью, ферментирует глюкозу, маннит, арабинозу, дульцит, ксилозу, рамнозу с образованием кислоты и газа.

Для контроля вакцинного штамма на отсутствие контаминации посторонней микрофлорой делали высевы на МПБ, МПА, МППБ под вазелиновым маслом (среда Китт-Тароцци), среду Сабуро. Посевы выдерживали 10 суток в термостате при 37 °С, высевы на наличие грибов на среде Сабуро -21 сутки при комнатной температуре. Штамм проверен на отсутствие диссоциации, вакцинный штамм находился в устойчивой S форме. Вакцинный штамм не был контаминирован посторонней бактериальной и грибковой микрофлорой.

Вакцинный штамм *S. abortus – equi* E -841 высевали на МПА с добавлением неомидина и стрептомицина. Отмечался рост вакцинного штамма на МПА с антибиотиками. Вакцинный штамм *S. abortus – equi* E -841 резистентен к 100 мкг/см³ неомидина и 200 мкг/см³ стрептомицина. В кон-

троле эпизоотический штамм *S. abortus – equi* не рос на среде с антибиотиками, антибиотики неомицин и стрептомицин подавляли его рост.

Изучена безвредность вакцинного штамма *S. abortus – equi* E -841 в опыте на белых мышах. 3 белым мышам массой 16-18 г вводили подкожно 1×10^7 м. к. ($0,2 \text{ см}^3$ 50 миллионной м. к.) взвеси суточной агаровой культуры вакцинного штамма *S. abortus – equi* E -841 по оптическому стандарту мутности ГИСК им. Л.А. Тарасевича. Учет результатов проводили через 10 суток. Все белые мыши оставались живы в течение 10 суток (срок наблюдения), что свидетельствует о безвредности штамма для белых мышей. Также изучена антигенность и иммуногенность на лабораторных животных. В результате проведенных исследований установлено, что аттенуированный вакцинный штамм обладает низкой остаточной вирулентностью, безвредностью в соответствии с паспортными данными.

Штамм *Salmonella abortus – equi* E -841 В-0088 используется для изготовления сухой живой вакцины против сальмонеллезного аборта кобыл. Живая вакцина против сальмонеллезного аборта кобыл представляет лиофилизированную культуру, выращенную на плотной питательной среде - агаре Хоттингера и лиофильно высушенную с добавлением защитной среды в состав которой, входят желатин и сахароза.

Для определения нуклеотидной последовательности готовили двух миллиардную взвесь суточной агаровой культуры вакцинного штамма *S. abortus – equi* E -841 В-0147 по оптическому стандарту мутности ГИСК им. Л.А. Тарасевича, затем бактериальную взвесь инактивировали специальным лизирующим раствором.

У исследуемого образца штамма *S. abortus – equi* E -841 В-0147 при выделении ДНК высокой концентрации с хорошей чистотой (30 ng/ul), значение 260/280 равнялось 1,8.

У исследуемого образца *S. abortus – equi* E -841 при выделении ДНК высокой концентрации с хорошей чистотой (30 ng/ul), значение 260/280 равнялось 1,8.

Аmplификация фрагмента 16S rRNA гена. Реакция ПЦР была выполнена универсальными праймерами [13] 8F 5' – AGAGTTT-GATCCTGGCTCAG-3 и 806R- 5' GGACTACCAGGGTATCTAAT 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 фереограммы 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 фереограмма фрагмента нуклеотидной последовательности анализируемого гена *S. abortus – equi* E -841.

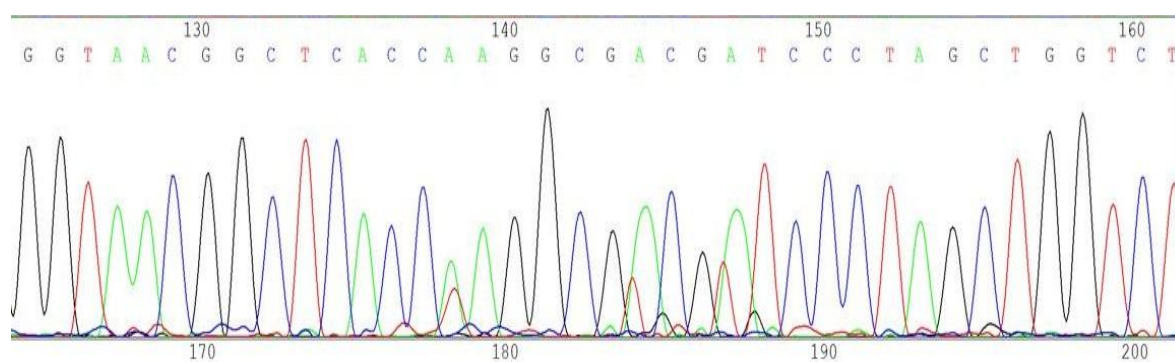


Рисунок 2 - Фереограмма фрагмента нуклеотидной последовательности гена 16S r RNA

Из фереограммы на рисунке 2 видно, что нуклеотидная последовательность гена штамма сальмонелл 16S rRNA не показывала смешения сигналов, что свидетельствует об отсутствии контаминации культуры вакцинного штамма сальмонелл посторонней микрофлорой. Проведенный анализ позволяет сделать выводы об отсутствии перекрестной контаминации культуры вакцинного штамма посторонними бактериями.

Выполнена генетическая идентификация вакцинного *S. abortus – equi* E -841 на основе анализа нуклеотидной последовательности 16S rRNA. Программным обеспечением SeqMan нуклеотидные последовательности были объединены в общую последовательность, что позволило получить нуклеотидную последовательность 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 3.

Таблица 1–Результаты идентификации гена 16S rRNA *S. abortus – equi* E -841

Наименование штамма	Последовательность фрагмента 16S r RNA гена	Идентификация нуклеотидных последовательностей в международной базе данных (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) алгоритм BLAST		
		Инвентарный номер GeneBank (Accession number) или коллекционный номер штамма	Наименование штамма	% совпадения
15-Salmonella abortus – equi E-841	GGAGGGGGTACTACTGGAACGGTGGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTTGCCATCAGATGTGCCCATGATGGGATTAGCTTGTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAACCTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAGTACTTTTCAGCGGGGAGGAAAGGTGTTGGTGAATAACCACAGCAATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTAAATCGGAATTTACTGGGCGTAAAGCGCACGAGGCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACTGGGAAGTGCATTCGAAACTGGCAGGCTTGTAGTCTTGTAGAGGGGGTGGGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCTACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAAGTCAAATGAAATGACGGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACGGAAGTTTTTCAGAGATGAGAATGTGCCTTCGGGAACCGTGAGACAGGTGCTGATGGCTGTCTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATCCTTTGTGGCCAGCGATTAGGTCGGGAACTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGAGCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTCCGTCGTAGTCC	NR_074800.1	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Choleraesuis str. SC-B67 strain SC-B67	99%
		NR_074899.1	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Paratyphi C strain RKS4594 strain RKS4594	99%
		NR_074935.1	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Paratyphi A str. AKU_12601 strain AKU12601	99%

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 *S. abortus – equi* E -841, которая указывает на его родовую принадлежность.

Интерпретация результатов программным обеспечением MicroSeq подтвердило родовую принадлежность вакцинного 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 3.

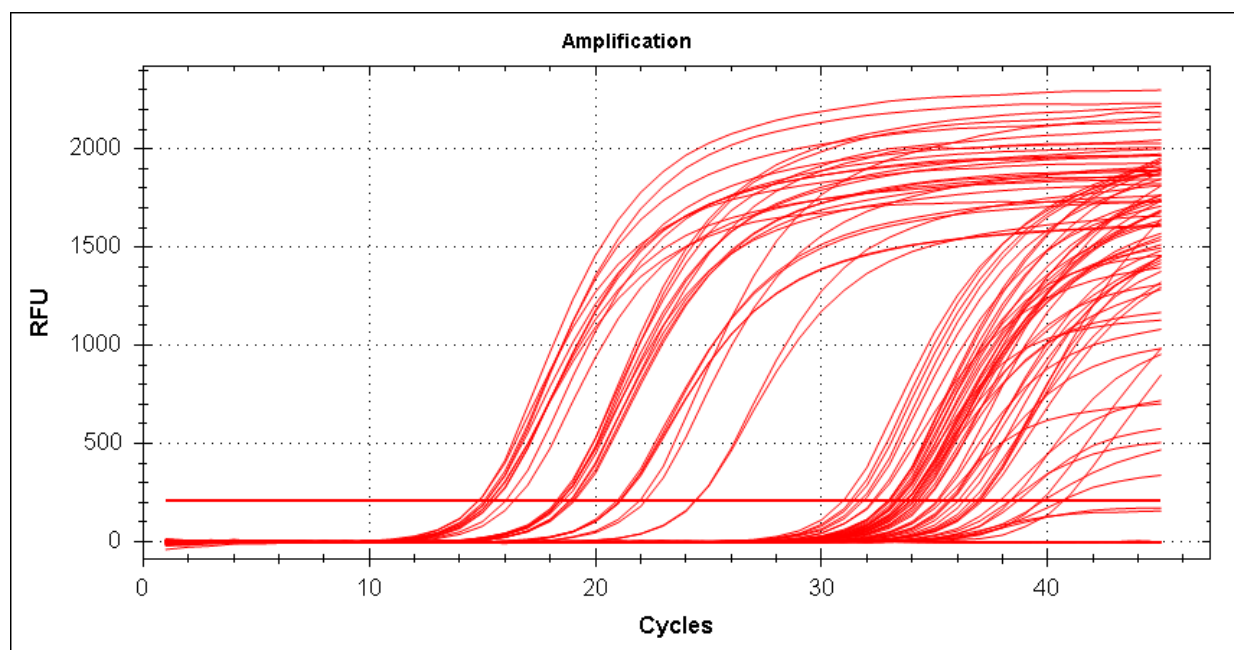


Рисунок 3 - Молекулярно-биологические характеристики гена 16S rDNA штамма *S. abortus – equi* E -841

Из рисунка 3 видно, что результаты ПЦР в режиме реального времени указывают на видовую принадлежность *Salmonella abortus – equi*.

На рисунке 4 изображена электрофореграмма гена 16S rDNA штамма *S. abortus – equi* E -841

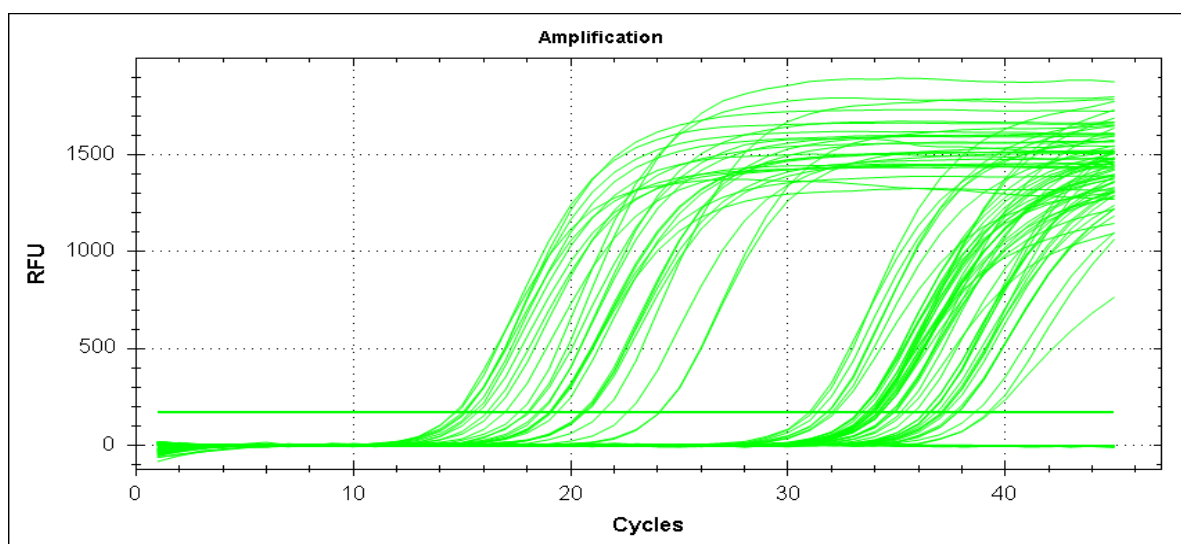


Рисунок 4 -Электрофореграмма гена 16S r DNA штамма *S. abortus – equi E -841*

Из рисунка 4 следует, что изучаемая культура относится к *Salmonella abortus – equi*.

Результаты генотипирования *Salmonella abortus – equi E-841* совпадали с результатами, интерпретированными с помощью международной базы данных. Также была подтверждена родовая принадлежность штамма. Установлено, что вакцинный штамм не контаминирован посторонней микрофлорой.

Заключение Результаты исследований, полученные после завершения изучения биологических свойств вакцинного штамма *Salmonella abortus – equi E-841*, свидетельствуют о том, что тестируемый штамм после хранения в лиофильно высушенном состоянии обладал стабильными исходными биологическими свойствами, описанными в паспорте. В результате проведенных исследований, установлено, что вакцинный штамм *Salmonella abortus – equi E-841* сохранил культурально-морфологические, биохимические, серологические, антигенные и генетические свойства после хранения в соответствии с паспортными данными и может использоваться при изготовлении вакцины против сальмонеллезного аборта кобыл. Высокая идентичность нуклеотидной последовательности 16S rRNA гена вакцинного штамма позволяет использовать его в качестве матрикса при изготовлении вакцины.

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.

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. 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. Эпидемиология и профилактика сальмонеллезов// Методические рекомендации. Казахский научно-исследовательский институт эпидемиологии, микробиологии и инфекционных болезней. Алма-Ата, 1977.- С. 9-15.

9. Janda, JM, Abbott, SL. 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls: //J Clin Microbiol. 2007 Sep;45(9):2761-4. Epub 2007 Jul 11.

10. Tajbakhsh, M, Nayer, BN, Motavaze, K, Kharaziha, P, Chiani, M, Zali, MR, Klena, JD. Phylogenetic relationship of Salmonella enterica strains in Tehran, Iran, using 16S rRNA and gyrB gene sequences.: //J Infect Dev Ctries. 2011 Jul 4;5(6):465-72.

11. 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.

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»

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

Түйін

**SALMONELLA ABORTUS – EQUI E -841 ВАКЦИНАЛЫҚ ШТАММНЫҢ
САҚТАЛУДАН КЕЙІН БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРІ ЖӘНЕ
ГЕНЕТИКАЛЫҚ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІ**

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

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада биелердің сальмонеллезді аборттың қарсы вакцина жасауға пайдаланылатын *Salmonella abortus – equi E -841* вакциналық штаммының сақталудан кейін биологиялық қасиеттерін және генетикалық ерекшеліктерін зерттеу нәтижелері келтірілген.

Кілттік сөздер: биелердің сальмонеллезді абортты, сальмонеллалар, штамм, вакцина, ақ тышқандар, геном, нуклеотидті тізбек

Summary

**BIOLOGICAL PROPERTIES OF THE VACCINE STRAIN SALMONELLA
ABORTUS – EQUI E -841**

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

LLP «Kazakh Scientific research veterinary institute»

The article presents the results of studies of biological properties of the vaccine strain *Salmonella abortus – equi E -841*, used to make a vaccine against of salmonellosis abortion of mares after storage.

Keywords: salmonellosis abortion of mares, salmonella, strain, vaccine, white mice, genome, the nucleotide sequence

УДК 619:576.8 (574)

**ЗНАЧЕНИЕ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ
В БОРЬБЕ С ЯЩУРОМ**

Садуакасова М.А., Кутумбетов Л.Б.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье описывается значение наиболее чувствительных и экспрессных методов (ИФА, ПЦР) диагностики ящура, предназначенных для выявления и идентификации возбудителя болезни.

Ключевые слова: ящур, НСП, ПЦР, ИФА

Ящур – особо опасная вирусная болезнь парнокопытных животных, характеризующаяся острым течением, высоким процентом заболеваемости восприимчивых животных, высокой скоростью распространения и проявляющаяся клинически афтозными поражениями слизистой оболочки ротовой полости и кожи венчика копыт, а также вследствие биологических особенностей возбудителя, может быстро распространяться на больших территориях, поражая многие виды сельскохозяйственных животных и причиняя огромный экономический ущерб. Для Казахстана постоянно существует опасность проникновения этой болезни из сопредельных государств, свидетельством чего являются вспышки ящура на территории РК с 1955 г. по 2013 г., вызванные заносом инфекции из Китая. В этой ситуации разработка и совершенствование средств и методов диагностики ящура играет очень важную роль.

Ящур имеет широкое распространение и регистрируется во многих странах мира, и занимает первое место в ряду болезней, подлежащих обязательной регистрации во Всемирной Организации Здоровья Животных (World Animal Health Organization, ранее Международное Эпизоотическое Бюро, МЭБ).

До настоящего времени ящур является мировой проблемой, о чем свидетельствуют ежегодные данные Международного эпизоотического бюро по фактам вспышек ящура во многих странах мира [10]. Его опасность обусловлена высокой контагиозностью, изменчивостью, генетическим разнообразием возбудителя, множественностью путей передачи инфекции, узкой специфичностью приобретенного иммунитета, ограничивающегося рамками определенного иммунологического серотипа и способностью вируса поражать разнообразные виды животных [8]. Ситуацию осложняют бессимптомные формы течения болезни, длительное вирусоносительство, даже среди высокоиммунных животных, а также целый ряд встречающихся клинически сходных болезней вирусной этиологии [3]. Экономический ущерб при ящуре измеряется гибелью животных, потерями от вынужденного убоя больных животных, уничтожения контаминированной продукции, снижения продуктивности зараженных животных, затратами на вакцинопрофилактику, карантинированием и другими различными ограничениями, ветеринарно-санитарными мерами, направленными на ликвидацию вспышек заболевания.

В этой статье предусматривается и описывается значение использования диагностических методов для выявления и идентификации вируса ящура, наиболее чувствительных и экспрессных (ИФА, ПЦР).

Особую важность в борьбе и профилактике ящура приобретают вопросы быстрой и точной диагностики. В зависимости от конкретных условий диагностика любого инфекционного заболевания осуществляется в двух направлениях. В основе первого, именуемого “прямой” диагностикой, лежат методы выделения и идентификации этиологического фактора. Вторым направлением, именуемым “ретроспективной” диагностикой, являются методы выявления специфических антител как следствие реакции организма на внедрение патогенного агента (серодиагностика) и метод выделения возбудителя из органов и тканей вирусоносителя [2].

В настоящее время исследователи многих стран стремятся к внедрению в практику как более чувствительных, так и более специфичных лабораторных методов, в которых предусматривается автоматизированный учет результатов. В лабораторной диагностике ящура иммуноферментный анализ (ИФА) и полимеразная цепная реакция (ПЦР) имеют преимущество перед другими иммунохимическими реакциями. Иммуноферментный анализ (ИФА) является методом, базирующимся на использовании антител, конъюгированных различными ферментами, и по многим параметрам превосходит традиционные методы иммунодиагностики [9]. Особого внимания заслуживает его высокая чувствительность и специфичность, экспрессность, объективность учета результатов. Этот метод рекомендован Всемирной справочной лабораторией МЭБ по ящуру (Пирбрайт, Великобритания). Наборы можно применять вместо или наряду с реакцией связывания комплемента (РСК) и биопробой на первичной культуре клеток (СП). Недостатком РСК является низкая чувствительность, а недостатком биопробы - необходимость особых условий при работе с живым возбудителем, в то время как в ИФА исследования проводятся с инактивированным антигеном, а чувствительность метода выше, чем РСК. ИФА также позволяет выявлять противоящурные постинфекционные и поствакцинальные антитела и определять их типовую принадлежность. Метод ЗАВС-ELISA основан на использовании моноклональных антител, полученных против неструктурного ЗА-FMDV протеина, для улавливания рекомбинантного ЗАВС полипептида, экспрессированного в *E.coli*. Он выявляет антитела независимо от их типовой принадлежности к неструктурным белкам вируса, которые образуются в организме животного при инфицировании вирусом ящура и поэтому представляется наиболее подходящим и перспективным для дифференцирования животных, переболевших от вакцинированных. Сочетанное применение двух вариантов ИФА позволяет выявлять в сыворотках крови животных наличие противоящурных антител, их типовую принадлежность и дифференцировать постинфекционные антитела от поствакцинальных [1].

В ряде случаев из-за малого или некачественного патматериала типирование производится с помощью ПЦР [4]. В качестве экспресс-метода широко применяется ПЦР. Это быстрый и чувствительный метод обнаружения вируса ящура в тканях путем энзиматической амплификации РНК

гена полимеразы. Метод прямой и позволяет достичь предельно возможной чувствительности: от одного до нескольких возбудителей в пробе. Специфичность метода составляет 99-100 процентов. Для ПЦР-анализа пригоден любой материал. Количество исследуемого материала, как правило, составляет несколько десятков микролитов. Способ диагностики ящура высокочувствительным и специфичным методом ПЦР позволяет точно и быстро (до 7 часов) диагностировать данное заболевание.

Предлагаемый способ диагностики предусматривает выделение вирусной РНК, синтез комплементарной ДНК (кДНК), синтез праймеров, постановку ПЦР, проведение электрофореза в агорожном геле и анализ полученных электрофореграмм.

Основная причина вспышек ящура в Казахстане — занос вируса из соседних неблагополучных государств. На территории Республики Казахстан с 1955 г. по 2013 г. было зарегистрировано 5 245 неблагополучных пунктов по ящуру, которые отмечались в 1955-1978, 1980-1982, 1984, 1988-1989, 1991, 1996, 1998-2001, 2007, 2010, 2011, 2012, 2013 гг. При этом болезнь регистрировали: в 4044 пунктах среди крупного рогатого скота, в 1062 пунктах среди мелкого рогатого скота, в 134 пунктах среди свиней и в 5 пунктах среди верблюдов. Это обстоятельство диктует необходимость осуществления профилактической иммунизации животных против ящура, в первую очередь в пограничных регионах страны.

В связи с вышеизложенным другим важным направлением в профилактике ящура и при ликвидации эпизоотии является контроль за вакцинацией сельскохозяйственного поголовья. По рекомендациям МЭБ, проведение иммуномониторинга при массовых обследованиях должно осуществляться с помощью ИФА, в частности его жидкофазного блокирующего варианта [7] или в последнее время также используемого твердофазного конкурентного варианта. В случае получения сомнительных результатов исследования предусмотрено осуществлять с помощью полимеразной цепной реакции [1].

Заключение Таким образом, особую важность в борьбе с ящуром и его профилактике приобретают вопросы быстрой и точной идентификации возбудителя. Применение иммуноферментного анализа позволяет за считанные часы выявить специфический антиген вируса ящура в патологическом материале и идентифицировать его по типовой принадлежности. А использование полимеразно-цепной реакции дает возможность, также за короткие сроки выявить генетический материал возбудителя и определить типовую принадлежность вируса ящура. При серомониторинге эпизоотической ситуации по ящуру следует применять ИФА тестирование на антитела против неструктурных белков возбудителя болезни. Этот метод дает возможность дифференцировать посинфекционные антитела от поствакцинальных.

Литература

1. Камалова Н.Е., Фомина Т.А., Щекотова А. Комплексное исследование двух вариантов ИФА для эпизоотологического мониторинга при ящуре // Роль вет. науки в разв. жив-ва: матер. междунаучно-произв. конференции. Алматы, 2000.- С. 115–116.
2. Шажко Ж.А. Направления совершенствования лабораторной диагностики заболевания, протекающих с везикулярным синдромом // Акт.пробл. вет.вирусол. Наука производству. Владимир, 1987. Ч. 2. С. 41–44.
3. Шажко Ж.А. Обеспечение методических основ современных схем лабораторной диагностики ящура и других везикулярных болезней // Современ. аспекты вет. патол. ж-ных: матер. конф., посвящен. 40-летию ВНИИЗЖ. Владимир, 1998. С. 23–31.
4. Щербаков А.В., Перевозчикова Н.А., Дрыгин В.В., Гусев А.А., под ред. Гусева А.А., Панина А.Н. Методические указания по индикации генома и // Методические указания по диагностике заболеваний сельскохозяйственных животных методом ПЦР. Владимир, 1998. С. 31–41.
5. Сост. Гусев А.А., Захаров В.М., Шажко Ж.А. и др. Методические указания по выявлению и идентификации штаммов вируса ящура. Утв. Департаментом ветеринарии МСХ РФ. М., 2002. 31 с.
6. Fomina T.A., Zakharov V.M., Gusev A.A. [e.a.] / Results of seromonitoring in FMD buffer zone in the CIS countries // Europ. Commiss. Control FMD: Rep. Sess. Res. Group Stand. Techn. Comm. Borovets, Bulgaria, 2000. Rome, 2000. P. 126–130.
7. Hamblin C., Barnet I.T.R. & Crowther J.R. A new enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus. I. Development and method of ELISA // Immunol. Methods 1986. V. 93. P. 115–121.
8. Hedger R.S. Foot-and-mouth disease Ames, Iowa, 1981. P. 87–96.
9. Kitching R.P., Rendle R., Ferris N.P. Rapid correlation between field isolates and vaccine strains of foot-and-mouth disease virus // Vaccine. 1988. V. 6, № 5. P. 403–408.
10. OIE Disease Information. V. 13–18, №№ 1–52.

Сведения об авторах:

Садуакасова М.А.- магистр ветеринарных наук, младший научный сотрудник отдела «Эпизоотологического мониторинга и оценки рисков вирусных болезней животных» ТОО «КазНИВИ»

Кутумбетов Л.Б.- доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник отдела «Эпизоотологического мониторинга и оценки рисков вирусных болезней животных» ТОО «КазНИВИ»

Түйін

АУСЫЛ АУРУЫМЕН КҮРЕСУДЕ ЗЕРТХАНАЛЫҚ ДИАГНОСТИКАНЫҢ МАҢЫЗЫ

Садуакасова М.А., Кутумбетов Л.Б.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Бұл мақала аусыл ауруымен күресуде ең сезімтал және вирусты тез табатын әдістер арқылы (ИФТ, ПТР) анықтау және сәйкестендіру үшін зертханалық диагностикалық әдістерді пайдаланудың маңыздылығы сипатталады.

Кілттік сөздер: аусыл, НСП, ПТР, ИФТ

Summary

IMPORTANCE OF LABORATORY DIAGNOSTICS AT ERADICATING FMD

Saduakassova M.A., Kutumbetov L.B.

LLP «Kazakh scientific-research veterinary institute»

This article provides and describes the importance of the use of diagnostic methods for detection and identification of FMD virus by the most sensitive and rapid methods (ELISA, PCR).

Keywords: FMD, NSP, PCR, ELISA

УДК 637.1.5.07:577.213.3

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СЫРЬЕВОГО СОСТАВА ОТЕЧЕСТВЕННЫХ И ИМПОРТНЫХ КОЛБАС МЕТОДОМ РТ - ПЦР

**Сарбаканова Ш.Т., Аубекерова Л.С., Касымова К.Т.,
Байбатырова Л.А.**

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приведены результаты по идентификации ДНК коровы (*Bos taurus* L., 1758) при определении сырьевого состава колбас отечественного и импортного производства методом РТ-ПЦР.

Ключевые слова: идентификация, праймеры, ДНК, говядина, колбасы

Введение Наиболее перспективными для контроля качества сырья и продуктов животного происхождения являются методы ДНК-диагностики, в особенности, метод ПЦР и его разновидности. По сравнению с традиционными способами видовой детекции установление видовой принадлежности мяса при помощи ПЦР в режиме реального времени отличается более глубоким уровнем видовой дифференциации, специфичностью, высокой воспроизводимостью и возможностью количественного анализа [1 - 3].

Внедрение в лабораторную практику эффективных экспресс-методов и ПЦР тест-систем видовой идентификации сырьевого состава будет способствовать исключению из торговли недоброкачественной и фальсифицированной продукции, что положительно отразится на здоровье населения и значительно повысит востребованность производимой отечественной продукции на мировом рынке [4 - 6].

Материалы и методы Выделение ДНК проводили экспресс-методом с использованием реагента PrepMan Ultra (США). Реагент подготовки образца PrepManUltra является экспресс-методом подготовки ДНК из различных пищевых источников. Для этого переносили 30 мг проб в соответствующий эппендорф и сразу же закрывали пробирку. Добавляли 100 мкл реагента PrepManUltra в каждую пробирку, тщательно перемешивали пробирки с образцами и реагентом PrepManUltra на вортексе. Помещали пробирки в термостат на 100 °С на 10 минут. Переносили пробирки в центрифугу. Центрифугировали при скорости 12000 об/мин в течение 2-х минут. Аккуратно переносили 50 мкл супернатанта с ДНК в соответствующую пробирку. Образец ДНК может храниться при 4 °С до одного месяца. В случае необходимости хранения образца ДНК на более длительный срок, используют замораживание при -20 °С.

Чистота выделения ДНК определялась методом электрофоретической детекции и по оптическим характеристикам на спектрофотометре DNA Mater Halo RB-10 (Швейцария). ДНК выявляли методом электрофореза в 1,7 % агарозном геле в присутствии бромистого этидия [7].

Полимеразную цепную реакцию проводили по методу (Мюллиса, 1983) [8].

Результаты и обсуждение Для проведения исследований отобраны 10 образцов колбас отечественного и импортного производства (таблица 1).

Таблица 1 – Отобранные образцы колбас

№ п/п	Наименование	Страна производитель	Вид колбасы	Сырьевой состав
1	Докторская	РК	Вареная	Говядина, птица
2	Пикантная	РК	Сервелат	Говядина, птица
3	Ветчина из	РК	Вареная	Мясо птицы

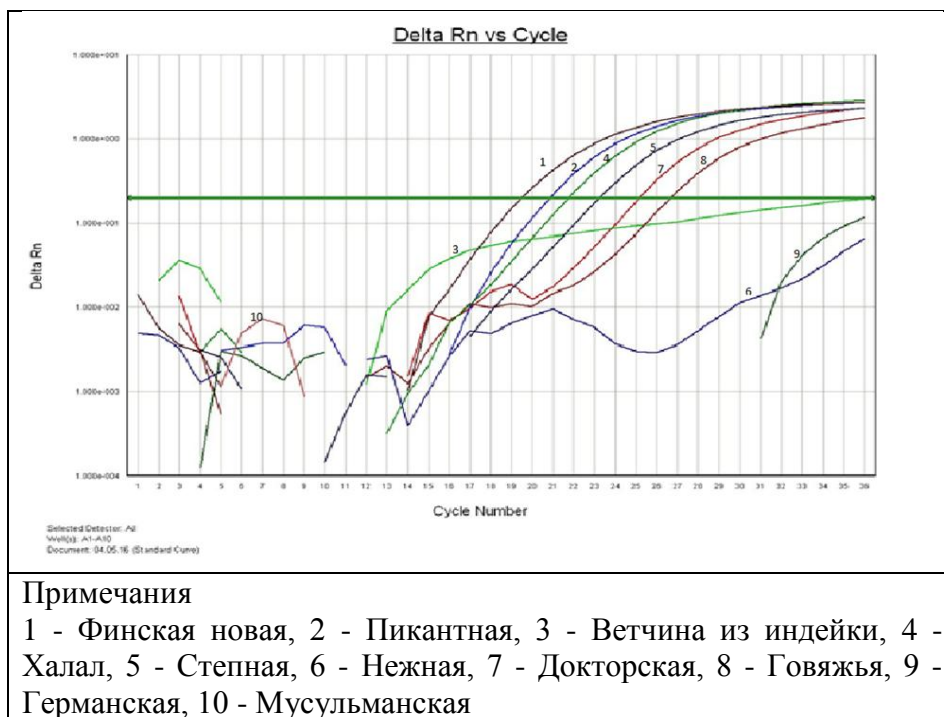
	индейки			
4	Халал	РК	Полукопченая	Говядина
5	Степная	РК	Полукопченая	Мясо птицы, свинина
6	Мусульманская	РК	Варено-копченая	Говядина
7	Финская новая	Беларусь	Варено-копченая	Свинина, говядина
8	Говяжья	Россия	Вареная	Говядина
9	Нежная	Россия, Башкирия	Вареная	Мясо птицы
10	Германская	Германия	Вареная	Мясо птицы

Из таблицы 1 видно, что из отобранных 10 образцов колбас - 6 произведены в Казахстане, остальные импортного производства. Из всех образцов выделена и очищена ДНК. С использованием тест-набора Rapid Finder (США) для изучения сырьевого состава мясных продуктов методом ПЦР в реальном времени (таблица 2) все образцы ДНК проверены на наличие ДНК коровы *Bos taurus*.

Таблица 2 – Режим проведения ПЦР

Наименование	1 стадия ПЦР Активация фермента ДНК-полимеразы	2 стадия ПЦР	
		Кол-во циклов	1 цикл
		Денатурация ДНК	Отжиг праймеров
Температура	95°C	95°C	60°C
Время	10 минут	15 секунд	1 минута

В таблице 2 представлен режим проведения ПЦР. ПЦР проводили в объеме 25 мкл, использовали 50 нг ДНК в объеме 5 мкл. В ПЦР микс (20 мкл) входили 7,2 мкл - Beef Master и 12,5 мкл - Master Mix General (рисунок 1).



Примечания

1 - Финская новая, 2 - Пикантная, 3 - Ветчина из индейки, 4 - Халал, 5 - Степная, 6 - Нежная, 7 - Докторская, 8 - Говяжья, 9 - Германская, 10 - Мусульманская

Рисунок 1 – Результаты ПЦР анализа образцов ДНК

Из рисунка 1 видно, что из 6-ти колбас, в состав которых по данным маркировки продукта входит говядина, только для 5-ти получено подтверждение: Докторская, Пикантная и Халал (отечественные) и Финская новая и Говяжья (Беларусь и Россия). ДНК коровы не обнаружена в Ветчине из индейки, Нежной и Германской колбасах, изготовленных из мяса птицы. Сырьевой состав отечественных колбас: Мусульманская и Степная не соответствует заявленной маркировке.

Заключение В результате проведенных исследований сырьевого состава 10 образцов отечественных и импортных колбас методом РТ-ПЦР в 2-х образцах местных колбас обнаружена фальсификация, то есть выявлена замена одного мяса другим, не соответствующим данным маркировки продукта.

Литература

1. 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.

2. 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.

3. 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.

4. Козлова Т.А. К вопросу безопасности и контроля качества мясного сырья и мясных продуктов / г. Орел, РФ, 2012. - 6 с.

5. Шалимова, О.А., Козлова, Т.А., Зубарева, К.Ю., Радченко, М.В. Анализ основных тенденций фальсификации мясопродуктов, реализуемых на потребительском рынке Орловской области // Сборник докладов 14-ой МНПК памяти В.М. Горбатова. – 2011. – С. 252 - 259.

6. Комарова, И.Н. Разработка ПЦР-тест-систем для видовой идентификации и количественной оценки мясного сырья в составе мелкоизмельченных полуфабрикатов и готовых мясных продуктов // И.Н. Комарова; Автореф. дис. канд. вет. наук. М. 2005. 182 с.

7. Маниатис, Т., Фритч, Э., Сэмбрук, Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование // М.: Мир, 1984. С. 159 - 172.

8. Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G., and Erlich, H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction // Erlich Cold Spring Harbor Symp Quant Biol, 1986. 51:263 - 273.

Сведения об авторах

Сарбаканова Ш.Т. - 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, старший научный сотрудник отдела по разработке методов исследования и контроля продукции и сырья животного происхождения ТОО «КазНИВИ»

Касымова К.Т. - магистр ветеринарных наук, 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

ОТАНДЫҚ ЖӘНЕ ШЕТЕЛДІК ШҰЖЫҚТАРЫН НУ - ПТР ӘДІСІМЕН АНЫҚТАУ

Сарбаканова Ш.Т., Аубекерова Л.С., Касымова К.Т., Байбатырова
Л.А.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада отандық және шетелдік шұжықтардың шикізат құрамын анықтау үшін сиыр (*Bos taurus* L., 1758) ДНҚ-ын НУ-ПТР әдісімен идентификациялау нәтижелері келтірілген.

Кілттік сөздер: идентификациялу, праймерлер, ДНК, сиыр еті, шұжықтар

Summary

DEFINITION OF RAW MATERIAL COMPOSITION OF DOMESTIC AND IMPORT SAUSAGES BY RT-PCR

Sarbakanova Sh.T., Aubekerova L.S., Kasymova K.T., Baibatyrova L.A.

LLP «Kazakh Scientific-Research Veterinary Institute»

The article presents the results on identification DNA of cow (*Bos taurus* L., 1758) for determination of raw material composition of sausages of domestic and imported production by RT-PCR.

Keywords identification, primers, DNA, beef, sausages

УДК 639.371.52(574)

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ КАРПА *CYPRINUS CARPIO CARPIO* (LINNAEUS, 1758) КАПШАГАЙСКОГО НВХ

Сарбаканова Ш.Т., Муналбаева А.А.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В результате микросателлитного анализа ДНК карпов *Cyprinus Carpio Carpio* (Linnaeus, 1758) Капшагайского НВХ, определены STR локусы и аллели, характеризующие генетический полиморфизм данной популяции рыб.

Ключевые слова: карп, ДНК, олигонуклеотидные праймеры, микросателлитный анализ, генетический полиморфизм

Введение Карп *Cyprinus carpio carpio* (Linnaeus, 1758) является важной промысловой рыбой в РК [1]. Исследования популяций карпа на молекулярно-генетическом уровне у нас в стране находятся на начальном этапе. Для успешного сохранения и поддержания его численности необходимы знания о генетической структуре карпа, обитающего в различных водоемах Казахстана.

Созданная база данных по ядерным микросателлитным ДНК-маркерам карпа, выявленным и используемым в популяционных исследова-

дованиях, представит данные о генетическом полиморфизме этого вида рыб и даст возможность для создания новых биотехнологических подходов для искусственного воспроизводства в аквакультуре.

Целью исследований является изучение генетического полиморфизма карпов Капшагайского НВХ с использованием микросателлитных локусов.

Материалы и методы Работа проводилась на образцах рыбопосадочного материала карпов Капшагайского НВХ. Для исследований использовались молекулярно-генетические методы. Выделение и последующую очистку ДНК из образцов плавников рыб проводили методом абсорбции на колонках (PALL) [2] с контролем качества выделения на спектофотометре. Количественная и качественная оценка выделенных ДНК также оценивалась методом горизонтального электрофореза в агарозном геле в присутствии бромистого этидия [3].

Молекулярно-генетические исследования выполнены по общепринятым методикам: полимеразная цепная реакция (ПЦР) [4], микросателлитный анализ [5].

Результаты и обсуждение Из отобранных образцов плавников карпа выделена и очищена ДНК. Полученные пробы ДНК проверены на чистоту и качество выделения методом горизонтального электрофореза в агарозном геле. Выделенная ДНК по чистоте выделения и по количественному выходу соответствует требованиям для проведения ПЦР и микросателлитного анализа.

Были проведены исследования по изучению аллельного полиморфизма микросателлитных локусов карпа и определены панели полиморфных STR праймеров для микросателлитного анализа исследуемого объекта аквакультуры. Были использованы следующие 12 пар микросателлитных праймеров: Csa01, Csa30, Koi17-18, Koi49-50, Koi55-56, Koi75-76, Koi79-80, Koi83-84 [6-8], а также локусы Hlj1080, Hlj1123, Hlj1145b, Hlj1159, праймеры для которых были разработаны в лаборатории молекулярной генетики ФГБНУ «ВНИРО», РФ.

Последовательности праймеров для каждого микросателлитного локуса приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристика микросателлитных праймеров

Название локуса	Праймер прямой (5'-3') (флуоресцентная метка с 5' конца праймера)	Праймер обратный (5'-3')
Hlj1080	(R6G)-acacatgggctttggcat	actggtgcttttcgagagagt
Hlj1123	(R6G)-agaccgtacacctcaacct	gagaacaggcattttctctgctgg
Hlj1145b	(FAM)-gtagataaaacgatggatagatag	ggcctcttttagctgaccac
Hlj1159	(TAMRA)-agaacgtcctcactgaacca	cgatctgacagttgagtctg

Cca01	(R6G) -tcagatcagatcacaagcagaat	aagacatttcagtggtcaacag
Cca30	(FAM)-cgtccttcttactctacac	ttgccttaagcttgattt
Koi17-18	(FAM)-cagggacagtagaagacaca	gtaggggtaggggatagaaa
Koi49-50	(FAM)-cagaggggaagaagtgag	ggacaaggatttcagaca
Koi55-56	(FAM)-tgccctctcttctctc	aggcttcaacacaaacaca
Koi75-76	(FAM)-cctgaaaaaagacataata	aataacactgcctaccatac
Koi79-80	(FAM)-tgtgtgtgagtagttgtgtg	actgtaggtatgtgggtgac
Koi83-84	(FAM)-ttcagaacatagcgtaatc	atcccaagcagcatacaatc

В таблице 1 представлены прямые и обратные праймеры для микросателлитного анализа ДНК. У анализируемых 90 образцов ДНК карпа Капшагайского НВХ по 5-ти локусам обнаружено наибольшее количество аллелей (от 6 до 9), определена панель полиморфных локусов для исследования полиморфизма ДНК карпа. Ими являются STR локусы: Cca 30, Hj 1080, Hj 1123, Koi 49-50 и Koi 75-76. По этим локусам определена генетическая структура рыбопосадочного материала Капшагайского НВХ [таблица 2].

Таблица 2 – Генетический полиморфизм по микросателлитным локусам ДНК рыбопосадочного материала карпа Капшагайского НВХ

№ п/п	Название локуса	Число аллелей	Размеры аллелей (в парах нуклеотидов)	Частота аллелей (соответственно)
1	Cca 30	9	278, 284, 286, 290, 292, 294, 308, 310, 314	0,182; 0,023; 0,091; 0,500; 0,068; 0,068; 0,023; 0,023; 0,023
2	Hj 1080	9	159, 161, 163, 135, 169, 171, 173, 181, 183	0,021; 0,417; 0,021; 0,042; 0,042; 0,250; 0,021; 0,146; 0,042
3	Hj 1123	6	151, 155, 159 171, 195, 211	0,604; 0,042; 0,021; 0,063; 0,021; 0,250
4	Koi 49-50	9	132, 136, 138, 140, 148, 150, 152, 156, 164	0,042; 0,479; 0,146; 0,021; 0,021; 0,021; 0,188; 0,021; 0,063
5	Koi 75-76	6	114, 116, 118, 122, 130, 136	0,048; 0,286; 0,143; 0,119; 0,167; 0,238

В таблице 2 показаны наиболее полиморфные локусы, количество аллелей по каждому локусу с размерами в парах нуклеотидов и частотой встречаемости в геноме.

Эти локусы выявляют полный спектр разнообразных аллелей у анализируемых образцов карпа, характеризуют генетический полиморфизм изучаемой популяции рыб, что позволит впоследствии провести индивидуальное генотипирование каждой особи.

Заключение В результате проведенных исследований определены полиморфные аллели по 5 микросателлитным локусам: Csa 30, Hlj 1080, Hlj 1123, Koi 49-50, Koi 75-76, размеры и частота встречаемости которых характеризуют генетический полиморфизм популяции карпов Капшагайского НВХ.

Литература

1. Богерук А.К. Породы и одомашненные формы рыб. Породы карпа (*Cyprinus carpio*, L.) // МСХ, Москва. 2004.- 400 с.
2. 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.
3. Маниатис Т., Фритч Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование М.: Мир, 1984. С. 159-172.
4. 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.
5. Liu Z.J., Cordes J.F. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics // *Aquaculture*. 2004. V. 238. P. 1-37.
6. Ludanyi aR.I., Khrisanfova G.G., Prizenko V.K., Bogeruk A.K., Semenova S.K. Polymorphism of microsatellite markers in breeds of common carp (*Cyprinus carpio* L.) of Russian breeding // *Genetika*. 2010. V. 46(5).P.652-658.
7. Li D., Kang D., Yin Q., Sun X., Liang L., Microsatellite DNA marker analysis of genetic diversity in wild common carp (*Cyprinus carpio* L.) populations // *J. Genet. Genomics*. 2007. 34. – P. 984-993.
8. Wei D., Lou Y., Sun X. Isolation of microsatellite markers in the common carp. *Zool. Res.*, 2001, 22 – P. 238-241.

Сведения об авторах:

Сарбаканова Ш.Т. - кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела по разработке методов исследования и контроля продукции и сырья животного происхождения ТОО «КазНИВИ»

Муналбаева А.А. - магистр ветеринарных наук, младший научный сотрудник отдела по разработке методов исследования и контроля продукции и сырья животного происхождения ТОО «КазНИВИ»

Түйін

ҚАПШАҒАЙ ШӨШ-НЫҢ *CYPRINUS CARPIO CARPIO* (LINNAEUS, 1758) ТҰҚЫ БАЛЫҚТАРЫНЫҢ ГЕНЕТИКАЛЫҚ ПОЛИМОРФИЗМІ

Сарбаканова Ш.Т., Муналбаева А.А.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Нәтижесінде Қапшағай ШӨШ-ның *Cyprinus Carpio Carpio* (Linnaeus, 1758) тұқы балықтарының ДНҚ-ын шағынсателит талдау арқылы осы балықтардың популяциясының генетикалық полиморфизмін сипаттайтын STR локустары және аллелдері анықталды.

Кілттік сөздер: тұқы балық, ДНҚ, олигонуклеидті праймерлер, шағынсателит зерттеу, генетикалық полиморфизм

Summary

GENETIC POLYMORPHISM OF CARP *CYPRINUS CARPIO CARPIO* (LINNAEUS, 1758) FROM KAPSHAGAI NVH

Sarbakanova Sh.T., Munalbaeva A.A.

LLP «Kazakh Scientific Research Veterinary Institute»

As a result of the microsatellite analysis of carp *Cyprinus Carpio Carpio* (Linnaeus, 1758) DNA from Kapshagai NVH, STR loci and alleles that characterize the genetic polymorphism of the fish population were identified.

Keywords: carp, DNA, oligonucleotide primers, microsatellite analysis, genetic polymorphism

УДК 619:578.832.1:636.5

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ПОЛУЧЕНИЯ РИБОНУКЛЕОПРОТЕИНА ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ

Сосипаторова В.Ю., Алтунин Д.А., Волкова М.А., Чвала И.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, РФ

Резюме Данное исследование посвящено подбору оптимальных параметров получения рибонуклеопротеина вируса гриппа птиц путем расщепления белков вируса детергентом Тритон Х-100 с последующей очисткой полученного препарата. Степень чистоты и специфичность фракции вирусного антигена оценивали в электрофорезе и вестерн-блоттинге.

Ключевые слова: грипп птиц, рибонуклеопротеин, Тритон Х-100

Введение Вирусы гриппа типа А относится к семейству *Orthomyxoviridae* и способны вызывать заболевания птиц различной степе-

ни тяжести. По структуре - это оболочечные вирусы, которые содержат одноцепочечную РНК отрицательной полярности, состоящую из 8 сегментов, и упакованную белком нуклеопротеином (NP) в нуклеокапсид. В нуклеокапсид также входят антигены полимеразного комплекса PB1, PB2 и PA. В процессе упаковки РНК в NP при участии полимеразного комплекса формируется рибонуклеопротеин (rNP). Геном, упакованный в rNP-комплекс, окружен матриксным белком M1 и липидной оболочкой, которая содержит поверхностные гликопротеины: гемагглютинин (HA) и нейраминидазу (NA), а также вирусный белок M2 [1, 2].

Следует отметить, что внутренние белки (rNP и M1) являются типоспецифическими антигенами, поэтому актуальным является создание на их основе специфических диагностикумов, в частности получения поликлональной сыворотки к rNP для иммуногистохимических исследований [3].

Метод расщепления белков вируса неионным детергентом (Тритон X-100) позволяет получить очищенный препарат rNP [4]. Преимуществом использования неионных детергентов является их способность разрушать межбелковые связи (например, липидной оболочки вируса), при этом не нарушая структуры антигенов вируса [5].

Предложенный способ получения rNP является доступным и легко воспроизводимым в условиях диагностической лаборатории. Однако оптимальные условия выделения антигена могут в значительной степени варьировать для различных штаммов и вирусосодержащих материалов и должны быть определены экспериментально в каждом конкретном случае.

В этой связи целью нашей работы являлась оптимизация метода выделения rNP вируса ГП для его последующего использования в создании иммуноспецифических поликлональных сывороток и оценки возможности их применения в лабораторной практике.

Материалы и методы В работе использовали изолят вируса гриппа птиц (ГП) A/pigeon/Amur/22/12/H9N2, выделенный из образцов биологического материала от дикого голубя, поступивших в ФГБУ «ВНИИЗЖ» из Амурской области в 2012 г. Для наработки вирусного материала проводили заражение 10-суточных эмбрионов СПФ-кур путем инокуляции в аллантоисную полость по 0,2 см³ вирусосодержащей суспензии с титром 4,0 lg ЭИД₅₀/см³. Зараженные куриные эмбрионы (КЭ) инкубировали в течение 72 ч при 37°C, ежедневно овоскопируя. Затем КЭ охлаждали при 4°C в течение 12 ч и отбирали экстраэмбриональную жидкость (ЭЭЖ) с целью проведения последующих исследований. ЭЭЖ, содержащую вирус гриппа H9N2, инактивировали 0,05% β-пропиолактоном при 25°C в течение 24 ч при постоянном перемешивании.

Очистка и концентрирование вирусной суспензии. ЭЭЖ освобождали от балластных белков низкоскоростным центрифугированием в течение 30 мин при 5000 об/мин. Затем вирус концентрировали ультрацентрифугированием надосадочной жидкости в течение 2 ч при 23000 об/мин. Осадки

ресуспендировали в фосфатно-буферном растворе (рН 7,2) (1/10 от исходного объёма).

Определение количества белка. Концентрацию белка измеряли на спектрофотометре при длине волны 585 нм по методу Бредфорда. [6].

Электрофорез в полиакриламидном геле. Распределение фракций вирусных белков оценивали с помощью электрофореза в 12 % ПААГе по Лемли [7].

Вестерн-блоттинг. Для оценки специфичности очищенного препарата белка гNP вируса ГП проводили вестерн-блоттинг [8]. Реакцию осуществляли на нитроцеллюлозной мембране с адсорбированными на её поверхности цельным препаратом вируса ГП подтипа H5N1 и очищенным белком гNP. В качестве первичных антител использовали гипериммунную поликлональную сыворотку крови кролика против ГП А/H5N1.

Результаты и обсуждение Инактивированный очищенный препарат вируса ГП типа А с концентрацией белка $3,3 \text{ мг/см}^3$ подвергали обработке неионным детергентом Тритон Х-100 с целью дезинтеграции вирусных субъединиц.

Для получения гNP вируса подбирали концентрацию детергента и время его взаимодействия с вирусной суспензией. Обработку препарата осуществляли в диапазоне концентраций Тритона Х-100 от 2% до 10% при 25°C на шейкере в течение временного периода от 30 мин до 2 ч. Данные параметры считаются определяющими, так как время экспозиции и количество молекул детергента зависят от степени солюбилизации на его поверхности гликопротеинов вируса, т.е. соединения мицелл Тритона Х-100 с поверхностными белками [9].

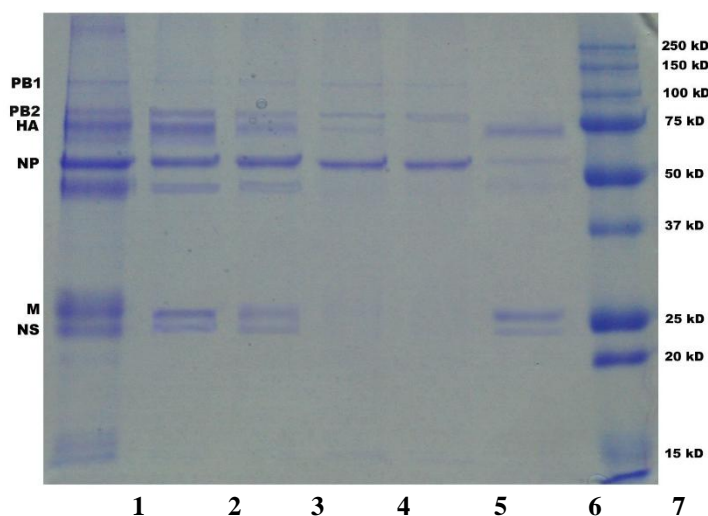
Далее каждую из суспензий с определенным содержанием детергента подвергали ультрацентрифугированию в течение 2 ч при 26000 об/мин, при котором мицеллы тритона с солюбилизированными гликопротеинами и матриксный белок остаются в супернатанте, а в осадок выпадает гNP ГП типа А [4]. Получившиеся осадки ресуспендировали в ФБР (1/10 от исходного объёма), после чего осуществляли контроль очищенных препаратов.

Количество белка в каждом препарате измеряли по методу Бредфорда до и после обработки детергентом (табл. 1).

Таблица 1 - Количество белка в препаратах в зависимости от концентрации детергента Тритон Х-100 и времени экспозиции

Концентрация Тритон Х-100	Время экспозиции		
	30 мин	1 ч	2 ч
0 %	$3,3 \text{ мг/см}^3$	$3,3 \text{ мг/ см}^3$	$3,3 \text{ мг/см}^3$
2 %	3 мг/ см^3	$2,8 \text{ мг/ см}^3$	$2,7 \text{ мг/ см}^3$
4 %	$2,1 \text{ мг/см}^3$	2 мг/ см^3	2 мг/ см^3
6 %	$0,9 \text{ мг/ см}^3$	$0,7 \text{ мг/ см}^3$	$0,6 \text{ мг/ см}^3$
10 %	$0,5 \text{ мг/ см}^3$	$0,5 \text{ мг/ см}^3$	$0,4 \text{ мг/ см}^3$

Затем оценивали степень очистки вирусосодержащих фракций. По данным электрофореза (рис.) в пробе № 5 были обнаружены только белки NP, PB1 и PB2, которые являются структурными компонентами rNP.



Электрофореграмма препаратов вируса ГП типа А до и после обработки детергентом в течение 1 ч: 1 - концентрированный препарат вируса ГП H9N2; 2 – препарат вируса ГП после обработки 2% Тритон X-100; 3 - препарат вируса ГП после обработки 4% Тритон X-100; 4 - препарат вируса ГП после обработки 6% Тритон X-100; 5 - препарат вируса ГП после обработки 10% Тритон X-100; 6 - супернатант препарата вируса ГП после обработки 10% Тритон X-100; 7 – маркер.

Результаты вестерн-блоттинга показали специфичность полученного rNP. На мембране с адсорбированным антигеном rNP вируса ГП были выявлены комплексы связывания антител сыворотки крови кролика против вируса ГП А/Н5N1 только с белками NP и PB1.

Заключение Исходя из представленных данных, обработка вируса 10 % раствором детергента Тритон X-100 в течение 1 ч обеспечивает наилучшие условия выделения очищенной и специфичной фракции rNP при концентрации белка в исходном материале 3,3 мг/см³.

Литература

1. Genome packaging in influenza A virus / E.C. Hutchinson, J.C. von Kirchbach, J.R. Gog, P. Digard // *J. Gen. Virol.* – 2010. – Vol. 91. – P. 313–328.
2. Structure of influenza viruses, connected with influenza life cycle // L. Krejcova¹, P. Michalek, D. Hynek [et al.] // *J. Metallomics and Nanotechnologies.* – 2015. – Vol. 1. – P. 13—19.
3. Pantin-Jackwood M.J. Immunohistochemical staining of avian influenza virus in tissues // *Animal Influenza Virus: Methods in Molecular Biology* / ed. E. Spackman. – London, 2014. – Vol. 1161. – P. 51-58.

4. Препаративный метод выделения гликопротеинов вируса гриппа С.А. Медведев, Н.П. Арбатский, Л.М. Лихошерстов [и др.] // Биоорганическая химия. – 1985. – Т. 11, № 2. – С. 248-253.

5. Johnson M. Detergents: Triton X-100, Tween-20. – URL: <http://www.labome.com/method/Detergents-Triton-X-100-Tween-20-and-More.html>

6. Kruger N. The Bradford method for protein quantitation // Basic Protein and Peptide Protocols. Series Methods in Molecular Biology. – 1994. – Vol. 32. – P. 9-15.

7. Laemlii U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. – 1970. – Vol. 227, № 5259. – P. 680–685.

8. Towbin H., Staehelint T., Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications // Biochemistry. – 1979. – Vol. 76, № 9. – P. 4350-4354.

9. Деревицкая В.А. Гликопротеины РНК-содержащих оболочечных вирусов // Биоорганическая химия. – 1983. – Т. 9, № 5. – С. 581-615.

Сведения об авторах:

Сосипаторова В.Ю. - биолог 1 категории референтной лаборатории вирусных болезней птиц

Алтунин Д.А. - ведущий ветврач референтной лаборатории вирусных болезней птиц

Волкова М.А. - ведущий научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц, кандидат ветеринарных наук

Чвала И.А. - заведующий референтной лаборатории вирусных болезней птиц, кандидат ветеринарных наук

Түйін

ҚҰС ТҰМАУЫ ВИРУСЫНЫҢ РИБОНУКЛЕОПРОТЕИНИН АЛУ ШАРТТАРЫН ЖЕТІЛДІРУ

Сосипаторова В.Ю., Алтунин Д.А., Волкова М.А., Чвала И.А.

Федералды мемлекеттік бюджеттік кәсіпорны «Мал денсаулығын қорғаудың федералды орталығы» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), Владимир қ., Ресей

Зерттеу жұмысы вирус белогын Тритон Х-100 детергентімен ыдыратып, одан ары плынған препаратты тазалау арқылы құс тұмауы вирусының рибонуклеопротеинін алудың қолайлы параметрлерін таңдауға арналған. Вирустық антигеннің фракцияларының өзіне тәнділігі және тазалық дәрежесі электрофорезде және вестерн-блотингте тексерілді.

Кілттік сөздер: құс тұмауы, рибонуклеопротеин, Тритон X-100

Summary

OPTIMIZATION OF CONDITIONS FOR OBTAINING A RIBONUCLEO- PROTEIN OF AVIAN INFLUENZA

Sosipatorova V.U., Altunin D.A., Volkova M.A., Chvala I.A.

FGBI “Federal centre for animal health” (“ARRIAH”), Vladimir, Russia

This study focuses on the selection of optimal parameters for obtaining ribonucleoprotein of the virus of avian influenza by cleavage of virus proteins in the detergent Triton X-100, followed by purification of the obtained product. The purity and specificity of fraction of viral antigen was evaluated in electrophoresis and western-blotting.

Keywords: avian influenza, ribonucleoprotein, Triton X-100.

УДК 619:616-006:577.21

ИЗУЧЕНИЕ АЛЛЕЛЬНОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА BoLA-DRB3 У КОРОВ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ СЕВЕРО - КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ

**Султанов А.А., Сарбаканова Ш.Т., Латыпова З.А., Маманова С.Б.,
Аубекерова Л.С., Касымова К.Т.**

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье представлены результаты исследования аллельного полиморфизма гена BoLA-DRB3 у коров черно-пестрой породы в сравнении с результатами на наличие провирусной ДНК и определения вирусоносительства методом РИД и гематологического анализа.

Ключевые слова: лейкоз, ПЦР-ПДРФ, крупный рогатый скот, РИД, гематологические исследования, устойчивость, предрасположенность

Введение Важным направлением исследований для 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. В работах авторов [1 -

4] показана взаимосвязь между генотипом BoLA-DRB3 и устойчивостью к лейкозу. Показано, что животные, несущие определенные аллели этого гена (*11, *23, *28 – У - аллели), не склонны к переходу лейкоза в стадию персистентного лимфоцитоза (в гематологическую стадию), а животные, несущие в своем генотипе аллели *22, *24, *16, *8 (Ч - аллели), – напротив, чаще других оказываются в выборке гематологических больных. Устойчивость к персистентному лимфоцитозу - доминантный признак, а чувствительность наследуется как сложный рецессивный признак.

Особое значение для оздоровления КРС имеет изучение генетической основы устойчивости к лейкозу, в геноме животных выявлено более 100 аллелей гена BoLA-DRB3, ответственных за формирование иммунного ответа на вирус.

Материалы и методы Работа была проведена на образцах крови коров черно-пестрой породы Северо-Казахстанской области. На первом этапе для проведения молекулярно-генетического анализа по гену BoLA-DRB3 были использованы образцы крови 38 коров.

Выделение ДНК из крови животных проводилось с помощью метода, основанного на сорбции ДНК на тонкодисперсной двуокиси кремния SiO₂.

Качество выделенных препаратов ДНК проверяли с помощью электрофореза в агарозном геле. Электрофорез ДНК в 1 % агарозном геле проводился на этапах выделения ДНК, амплификации и рестрикции ДНК.

Для проведения ПЦР, при амплификации фрагмента гена BoLA-DRB3 использовали методику, предложенную Сулимовой Г.Е. (1995).

Реактивы, используемые для постановки ПЦР, произведены ООО «СибЭнзим». Используемые праймеры позволяют амплифицировать фрагмент гена BoLA-DRB3 размером 284 п.о. Праймеры были заказаны в ООО «Синтол» со следующей последовательностью нуклеотидов:

HLO-30 atc ctc tct ctg cag cac att tcc

HLO-32 tcg ccg ctg cac agt gaa act ctc

ПЦР проводили в термоциклере «Терцик» фирмы «ДНК-технология». Температурный режим амплификации следующий:

- денатурация, 4 минуты при 94°C, 25 циклов: 1 минута при 94°C, - 1 минута при 65°C, - 1 минута при 72°C – каждый цикл;

- финальная элонгация, 5 минут при 72°C.

Результаты и обсуждение Образцы ДНК, выделенной из крови, проверены с помощью горизонтального электрофореза в 1 % агарозном геле (рисунки 1, 2).

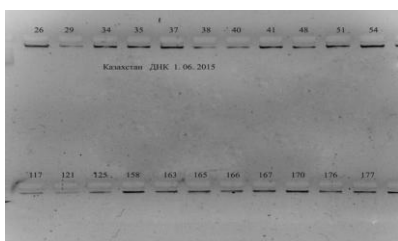


Рисунок 1 - Электрофорез ДНК в агарозном геле (образцы 26-54, 117 – 177)

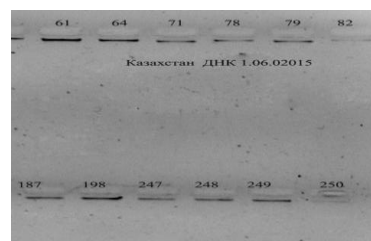


Рисунок 2 - Электрофорез ДНК в агарозном геле (образцы 61-82, 187 – 250)

Как видно на рисунках 1 – 2, качество полученных препаратов удовлетворительное, ДНК не деградирована и ее количество достаточно для проведения дальнейших ПЦР исследований.

По результатам полимеразной цепной реакции с геномной ДНК из образцов крови амплифицирован фрагмент гена *BoLA-DRB* (рисунок 3).

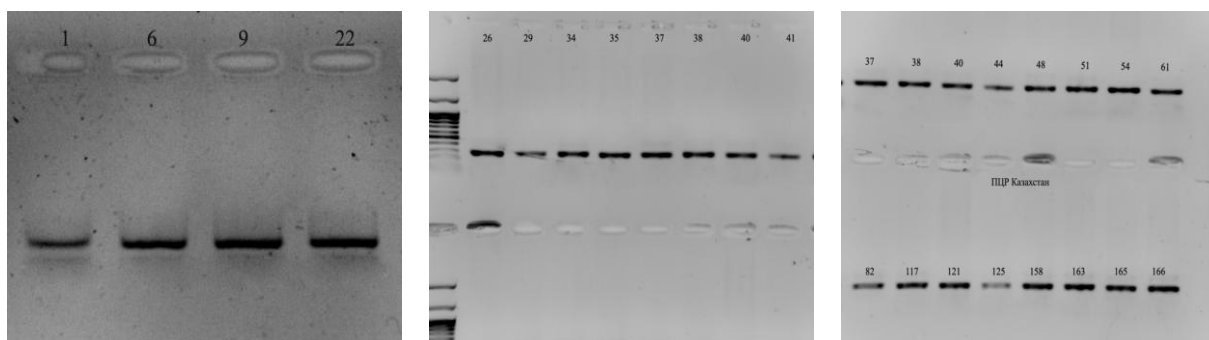


Рисунок 3 - Электрофорез продуктов амплификации

Представленные на рисунке 3 результаты электрофоретического анализа ПЦР продуктов, свидетельствуют об оптимальных условиях ПЦР и выявлении фрагмента ДНК с ожидаемым размером 284 п.о. Отсутствие шмеров свидетельствует о правильном подборе температуры отжига праймеров при проведении амплификации.

Фрагмент 284 п.о. далее расщепляли рестрицирующими эндонуклеазами *RsaI*, *Bst X2I* и *HaeIII* с последующим разделением полученной смеси фрагментов ДНК с помощью вертикального электрофореза в 9% полиакриламидном геле в ТВЕ-буфере.

Рестрикцию проводили путем инкубирования ПЦР-продукта с 5 единицами рестриктазы при соответствующих для фермента температуре и буфере. Всего для анализа необходимо провести серию из трех разных рестрикций амплифицированного отрезка ДНК с тремя ферментами: *Rsa I* (37 °C), *Hae III* (37 °C) и *Bst X2I* (60 °C).

Продукты рестрикции фрагмента ДНК 284 п.о. ферментами: Rsa I, Hae III и Bst X2I разделяли в полиакриламидном геле, результаты визуализировали на приборе GelDoc фирмы BioRad в проходящем УФ-свете с использованием бромистого этидия, в растворе которого выдерживали гель после проведения электрофореза. Далее проводили определение длин полученных рестрикционных фрагментов в каждом образце, анализировали с использованием таблицы рестрикции аллелей гена BoLA-DRB3.2 и по соответствию аллелям гена спектров, полученных по каждой из трех рестриктаз, определяли генотип каждой особи. Наличие в генотипе каждого животного того или иного аллеля устойчивости или предрасположенности в гомозиготе или гетерозиготе позволяет дать молекулярно-генетическую оценку животного по гену BoLA-DRB3.

Спектры рестрикции фрагмента гена BoLA-DRB3 отдельных образцов ДНК приведены в рисунке 4.

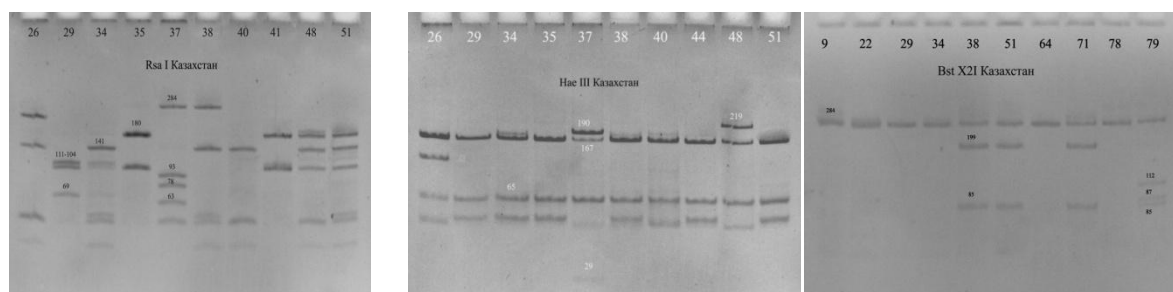


Рисунок 4 - Электрофорез продуктов рестрикции RsaI, Hae III и Bst X2I

Результаты исследований аллельного полиморфизма гена BoLA-DRB3 у коров черно-пестрой породы, наличие провирусной ДНК, представлены в сравнении с определением вирусоносительства методом РИД и гематологических исследований (таблица 1).

Таблица 1 - Аллельный полиморфизм гена BoLA-DRB3 у коров черно-пестрой породы, в т. ч. с выявленными антителами на ВЛКРС и положительной гематологией

№ животного	Результаты исследований				
	РИД	Гем	Провирусная ДНК ВЛКРС	Генотип	Характеристика по BoLA-DRB3
1	2	3	4	5	6
1				23/24	у/ч
6	+			16/16	ч/ч
9	+		+	22/18	ч/н
16	+	+		24/24	ч/ч
22			+	22/27	ч/н
26		+		7/21	н/н

29	+			22/22	ч/ч
34	+	+		22/10	ч/н
35	+	+		23/23	у/у
37		+		16/27	ч/н
38				8/37	ч/н
40				7/7	н/н
44				23/23	у/у
48	+			24/7	ч/н
51		+	+	23/8	у/ч
54	+	+	+	16/16	ч/ч
61				16/16	ч/ч
64			+	22/22	ч/ч
1	2	3	4	5	6
71	+		+	8/22	ч/ч
78	+			16/22	ч/ч
79				11/16	у/ч
82	+			11/3	у/н
117	+			8/16	ч/ч
121	+	+		22/22	ч/ч
125	+			23/32	у/н
158	+			28/24	у/ч
163	+	+		11/16	у/ч
165	+	+		23/24	у/ч
166	+	+		30/45	н/н
167	+	+		24/25	ч/н
170	+	+		23/7	у/н
176	+	+		23/32	у/н
177	+		+	22/24	ч/ч
187	+	+		11/3	у/н
198		+	+	8/3	ч/н
247				16/16	ч/ч
248				22/24	ч/ч
249			+	22/21	ч/н

Как видно из приведенных в таблице 1 результатов, провирусная ДНК закономерно выявляется у животных РИД+ и гем+, такое животное всего одно (№ 54), и оно является чувствительным по гену BoLA-DRB3 – ч/ч. В то же время у РИД+ и гем + животных провирус ВЛКРС может отсутствовать (№ 16, 34, 35, 121, 163, 165, 166, 167, 170, 176, 187). У этих животных нужно повторно провести гематологический анализ, так как повышение лейкоцитов может быть вызвано другим воспалительным заболеванием (мастит, эндометрит, абсцесс и др.).

Из 38 исследованных животных черно-пестрой породы 2 особи имеют аллели устойчивости (у/у) в гомозиготе, 11 - в гетерозиготе (6 - у/н и 5 у/ч), 3 особи являются носителями нейтральных аллелей в гомозиготе (н/н). Остальные 22 коровы имеют аллели чувствительности к лейкозу (ч/ч

и ч/н). Таким образом, 34 % исследованных коров являются носителями аллелей устойчивости к лейкозу, а 66 % - аллелей чувствительности.

Заключение В заключение следует отметить, что 60 % образцов крови при серологическом анализе были РИД+, что подтверждается данными молекулярно-генетического анализа по высокому распространению аллелей предрасположенности к лейкозу у исследованных коров черно-пестрой породы Северо-Казахстанской области.

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:

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

Сарбаканова Ш.Т. - кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник 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»

Маманова С.Б. - кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела эпизоотологического мониторинга и оценки рисков вирусных болезней животных ТОО «КазНИВИ»

Аубекерова Л.С. - кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник группы по подготовке нормативных документов ТОО «КазНИВИ»

Касымова К.Т. – магистр ветеринарных наук, научный сотрудник отдела по разработке методов исследования и контроля продукции и сырья животного происхождения ТОО «КазНИВИ»

Түйін

СОЛТУСТІК ҚАЗАҚСТАН ОБЛЫСЫНДА ҚАРА-АЛА СИЫРЛАРДЫҢ BOLA-DRB3 ГЕНІНІҢ АЛЛЕЛЬДІ ПОЛИМОРФИЗМІН ЗЕРТТЕУ

Сұлтанов А.Ә., Сарбақанова Ш.Т., Латыпова З.А., Маманова С.Б.,
Аубекерова Л.С., Касымова К.Т.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада сиырлардың қара-ала тұқымының BOLA-DRB3 генінің аллельді полиморфизмін провирустық ДНҚ барлығын талдаумен салыстыру және РИД пен гематологиялық талдау әдістерімен вирустасымалдаушылықты анықтау нәтижелерімен салыстыру нәтижелері келтірілген.

Кілттік сөздер: лейкоз, ПТР-РФҰП, ірі қара мал, ИДР, гематологиялық зерттеулер, тұрақтылық, бейімділік

Summary

STUDY OF ALLELIC POLYMORPHISM OF GENE BOLA - DRB3 IN BLACK - MOTLEY BREED COWS IN NORTH KAZAKHSTAN REGION

Sultanov A.A., Sarbakanova Sh.T., Latypova Z.A., Mamanova S.B.,
Aubekerova L.S., Kasymova K.T.

"Kazakh Scientific Research Veterinary Institute" LLP

The article shows the results of a study of allelic polymorphism BOLA-DRB3 gene in black-motley breed cows of a comparison with the analysis for the presence of proviral DNA and comparing the results of determination of virus infection by RID and hematology analysis.

Keywords: leukemia, PCR-RFLP, cattle, RID, hematologic studies, resistance, susceptibility

ХРОМОТА У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И СПОСОБЫ ЕЕ ЛИКВИДАЦИИ

Сущих В.Ю., Канатов Б., Егорова Н.Н., Розямов А.Р.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме Приведены данные о заболевании конечностей у крупного рогатого скота в животноводческом комплексе и предложен план мероприятий по ее ликвидации.

Ключевые слова: хромота, крупный рогатый скот, план противоэпизоотические мероприятия

Введение В настоящее время заболевания конечностей, и как следствие этого, хромота - большая угроза для экономической эффективности молочных ферм многих стран, в том числе и Казахстана.

В частности, в ряде молочно-товарных и племенных хозяйствах, завозящих племенных нетелей из стран западной Европы, лидирующее место среди инфекционных заболеваний занимает некробактериоз, а также вирусные инфекции [1].

По наблюдению практических ветеринарных специалистов Казахстана процент выбраковки дойных коров вследствие болезней копыт вырос с 5-6% в 2006 году до 15-18 % в 2014 году.

Для движения и комфортного состояния животному необходимы хорошие, здоровые конечности. При болезненных конечностях коровы меньше едят, естественно, снижается их продуктивность. Чтобы уменьшить нагрузку на больную ногу, корова меняет позу, в связи с чем происходит неравномерное распределение массы тела на суставы ног. Она с трудом передвигается, чувствует себя угнетённо, залёживается. Удой её снижается на четверть, а иногда она совсем перестаёт давать молоко [2].

Клиническое проявление заболевания животных некробактериозом начинается сразу после отела животных. В начале заболевания у животных отмечается неправильная постановка задних конечностей (разножка), малозаметная хромота, которая в дальнейшем резко усиливается, появляются язвы в межкопытной щели на пяточной части копыт, коровы резко теряют в весе с нарастающей потерей продуктивности, становятся хозяйственно непригодными и без ветеринарного вмешательства погибают или их сдают на вынужденный убой [1].

В последние годы в связи с изменением технологии животноводства, а именно в связи со строительством и эксплуатацией крупных животноводческих комплексов, где технологией содержания животных предусмотрена механизация основных трудоемких процессов, таких как

раздача кормов, водопой, навозоудаление, содержание животных без подстилки, замена грубых кормов - сена, соломы на - силос, сенаж, концентраты, широкое распространение получили болезни дистального отдела конечностей крупного рогатого скота различной этиологии [2].

Кроме того, отмечено, что формирование крупных животноводческих комплексов повсеместно способствовало распространению некробактериоза.

Заболеваемость животных связана с пополнением хозяйств животными, поступившими из-за рубежа. При этом, многие специалисты отмечают, что тенденция импортных закупок нетелей способствовало заносу и распространению хромоты у крупного рогатого скота, это также подтверждается ветеринарными специалистами, обслуживающими ранее благополучные по некробактериозу хозяйства тем, что случаи данного заболевания в их хозяйствах появились после закупки животных за рубежом.

Как правило, у поступающих в хозяйство по импорту стельных нетелей массовое заболевание хроматой регистрируется сразу после отела. Заболевшие животные находятся в очень тяжелом состоянии и не поддаются лечению. Такие животные очень часто выбраковываются из стада.

Причиной, способствующей распространению данной патологии у крупного рогатого скота, считают нарушения ветеринарно-санитарных и технологических нормативов, заключающихся в высокой концентрации животных на ограниченных площадях, неправильной системе их содержания (особенно отсутствия у животных сухой подстилки и моциона, укороченные стойла), сырости в помещениях, недостатке грубых кормов.

Условно причины появления заболеваний конечностей вызывающие хромоту можно разделить на три категории:

1. Воспаление копытной подошвы, язвы подошвы, копытную гниль, воспаление в области межпальцевой щели, дефекты белой линии на подошве, панариций, болезнь Мортелларо и др.

2. Нарушения условий содержания животных, при которых иогут быть травматические повреждения конечностей, особенно дистальной части, что може вызывать хромоту.

3. Некачественное и/или недостаточное кормление. В этом случае у животного может возникнуть недостаток таких минеральных веществ, как кальция, фосфора, селена и других, что ведет к нарушению функции и вызывает хромоту.

Этиологические факторы, ведущие к хромоте, можно разделить на инфекционные (пальцевой дерматит, пяточная эрозия, межпальцевая флегмона) и неинфекционные (повреждения копыт, язвы подошвы, болезнь белой линии).

Большинство ученых, исследовавших причины хромоты коров, сходятся в одном, что этот клинический признак заболевания необходимо

выявлять на ранней стадии. Существует несколько степеней хромоты. Чтобы определить, какая степень присутствует у того или иного животного, нужно провести так называемую оценку локомоции (передвижения). Из множества существующих сегодня способов определения локомоции особенно популярен способ Шпрехера, который выделил пять степеней «походки» коров.

Здоровое животное. Если корова здорова, то она встает с места и передвигается, держа спину прямо, и при этом делает большие шаги.

Легкая хромота. При данной степени хромоты корова стоит с прямой спиной, однако, при передвижении спина ее изогнута, а шаги мелкие. При этом корова не делает упор ни на одну конечность.

Умеренная хромота. Животное стоит и ходит с изогнутой спиной. Из-за боли корова передвигается мелкими шажками, наименьшую нагрузку дает на поврежденную ногу. Когда вес тела переносится на больную конечность, корова опускает голову.

Сильная хромота. Корова стоит и передвигается с изогнутой спиной, при этом очевидно, что животное не делает нагрузок на поврежденную конечность. Скорость передвижения коровы заметно снижается, она часто останавливается при ходьбе. При сильной хромоте часто появляются вторичные признаки, такие как явная потеря веса, аппетита, скрежет зубов, повышенное слюноотделение.

Крайняя хромота. Спина у коровы изогнута, животное не может двигаться. Нагрузка на больную конечность полностью отсутствует [4].

Все вышеперечисленные стадии хромоты были отмечены и у отдельных животных в одном из хозяйств Алматинской области.

Выявление конкретных причин заболевания конечностей, при которых появляется хромота необходимо для их устранения и проведения профилактических мероприятий, что является актуальной задачей, требующей своевременного решения.

Цель исследований Выявление заболеваний конечностей, вызывающих хромоту и разработка лечебно-профилактических мероприятий при данной патологии.

Материалы и методы исследований Условия содержания и кормления завезенных животных, к сожалению, привели к распространению заболеваний конечностей, вызывающих у них хромоту различной этиологии. Так, при первичной диагностике болезней, вызывающих хромоту у животных, брали биоматериал для лабораторных исследований. Биоматериалом служили срезы пораженной конечности на границе здоровой и паталогической ткани. В условиях лаборатории каждая проба материала в пяти-семи повторностях заседалась на бактериологические питательные среды (МПА, МПБ, МППБ под вазелиновым маслом) с последующей микроскопией полученных культур и постановкой биопробы на лабораторных животных (белые мыши, кролики).

Всего за период работы было исследовано 126 проб, отобранных от хромых животных (дойные коровы, нетели, первотелки и быки-производители).

Результаты и обсуждение Проведенные исследования показали, что в единичных пробах был обнаружен возбудитель некробактериоза. В остальных пробслучаях была выделена как аэробная, так и анаэробная микрофлора. При этом введение полученных культур лабораторным животным показало на их высокую вирулентность. Культуры вызывали заболевание и гибель белых мышей в дозе 0,2-0,3 см³, а кроликов в объеме 0,5 см³.

Ветеринарным специалистам данного животноводческого комплекса для борьбы с заболеваниями конечностей с проявлением хромоты был предложен комплекс мероприятий, включающий – «Организационные», «Противоэпизоотические» и «Противоэпидемические» мероприятия. Каждый раздел содержит четкие пошаговые пункты необходимых работ по ликвидации данной патологии на территории животноводческого комплекса.

Раздел «Организационные мероприятия» включает общие положения по недопущению заноса и ликвидации болезней. Например, изучить возможные пути заноса возбудителя некробактериоза на территорию животноводческого комплекса; провести эпизоотологическое обследование всего поголовья животноводческого комплекса, а также прилегающих территорий; оценить и проанализировать условия содержания животных на территории животноводческого комплекса; выявить и отделить больных, подозрительных в заболевании и подозреваемых в заражении животных; при обнаружении больных некробактериозом животных запретить- ввоз (ввоз) или вывоз (вывод) восприимчивых к болезни животных за пределы неблагополучного пункта, кроме вывоза продуктивных животных на убой; перегруппировку животных; размещение здоровых животных в помещениях, где содержались больные животные, до проведения очистки, санитарного ремонта, дезинфекции, дезинсекции и дератизации; ветеринарным специалистам провести информационно- разъяснительную работу с населением о введении ограничений на территории неблагополучного пункта.

В разделе «Противоэпизоотические мероприятия» приведены методы клинического осмотра и диагностики болезней конечностей, включающие взятие биоматериала для исследований от больных и подозрительных по заболеванию животных. Организовать обязательную и систематическую расчистку копыт всех восприимчивых к болезни животных; организовать обработку расчищенных копыт путем прогона через дезинфекционные ванны: у здоровых, восприимчивых к болезни животных, заполненные растворами формалина (5-7%) или сульфата цинка (10%), или медного купороса (10%) не реже 1 раза в месяц; больных и подозрительных по

заболеванию животных, через заполненные 5-10% раствором формалина или 5% раствором парформа с интервалом 7-10 дней, 10% растворами сульфата цинка или медного купороса с интервалом 3-5 дней.

Для лечения осложненных форм болезни использовать антибиотики, к которым чувствителен возбудитель болезни. При хирургической обработке ран использовать антисептические средства.

При подтверждении диагноза на некробактериоз приобрести необходимый резерв терапевтических и профилактических (вакцина) препаратов против данной инфекции. Провести вакцинацию против некробактериоза животных всех восприимчивых к болезни животных в соответствии с наставлением по ее применению.

Молоко от больных и подозрительных по заболеванию пастеризовать при 85 °С в течение 5 мин. или использовать после кипячения в хозяйстве

Умерщвление больных висцеральной формой и не поддающихся лечению животных проводить на убойном пункте хозяйства или на санитарной бойне мясокомбината. При отсутствии санитарной бойни убой животных осуществлять в убойном пункте в конце смены или в отдельную смену.

Проводить ветеринарно- санитарную оценку продуктов убоя от больных животных в соответствии с действующими Правилами ветеринарно- санитарного осмотра убойных животных и ветеринарно- санитарной экспертизы мяса и мясных продуктов. Шкуры и шерсть, полученные от убитых и павших от некробактериоза животных, высушивать в хозяйстве в изолированном помещении и дезинфицировать согласно действующей Инструкции по дезинфекции сырья животного происхождения и предприятий по его заготовке, хранению и обработке. Трупы животных, павших от некробактериоза, пораженные ткани копыт и другие зараженные отходы уничтожать путем сжигания или биотермической обработки в биотермических ямах Беккари.

Помещения, выгульные дворы (площадки), где содержались больные животные, а также инвентарь, транспорт и подстилки очищать от навоза, и провести вынужденную дезинфекцию согласно действующей инструкции по проведению ветеринарной дезинфекции объектов животноводства. Навоз и инфицированную подстилку обеззараживать биотермическим способом в навозохранилище или штабелях. Провести дератизацию производственных помещений комплекса. Провести контроль качества проведенной дезинфекции. Обеспечить контроль за выполнением организационных и противозoonотических мероприятий.

Третий, заключительный раздел «Противоэпидемические мероприятия» включает в себя перечень мероприятий, соблюдение которых позволит снизить риски заражения и не допустить заболевания обслуживающего персонала комплекса. Так, закрепить отдельный персонал по уходу за больными и подозрительными по заболеванию животными.

Персонал обеспечить спецодеждой и средствами защиты. Организовать дезинфекцию спецодежды в конце рабочего дня. Организовать отдельное хранение верхней одежды. Организовать медицинский осмотр и медицинское наблюдение за персоналом, контактировавшим с больными и подозрительными по заболеванию животными, с кратностью 1 раз в 10 дней.

Провести информационно-разъяснительную работу с населением о мерах по профилактике некробактериоза.

Заключение Таким образом, выполнение предложенных ПЭМ позволит в короткие сроки ликвидировать массовую заболеваемость у животных с признаками хромоты, значительно снизить процент ее распространенности и избежать появления новых случаев заболевания.

Литература

1. Мельник М.В. Методы лечения и средства ветеринарно-санитарных и лечебно-профилактических мероприятий при заболевании некробактериозом крупного рогатого скота. www.farmer.ru/sovet/zhivotnovodstvo/39599

2. Писаренко В.Ф., Коваленко А.М., Суворова В.Н. Разработка препарата для профилактики и лечения крупного рогатого скота при развитии инфекционного пальцевого дерматита. Вестник курской государственной сельскохозяйственной академии. 6. 2014., С. -23-25.

3. Болезни копыт. Животноводство и ветеринария. Ветеринарный справочник. 2. 2014., С.- 35-37.

4. Почему корова хромот. Агро-ньюс / www.agronews.by/news/razvedeniye-KRS/9656.html

Сведения об авторах:

Сущих В.Ю. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела по научно-методическому обеспечению эпизоотологического и ветеринарно-санитарного благополучия ТОО «КазНИВИ»

Канатов Б. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела по научно-методическому обеспечению эпизоотологического и ветеринарно-санитарного благополучия ТОО «КазНИВИ»

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

Розямов А.Р. – старший лаборант отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Түйін

ІРІ ҚАРА МАЛДЫҢ АҚСАНДАУЫ ЖӘНЕ ОНЫ ЖОЮДЫҢ АМАЛДАРЫ

Сущих В.Ю., Канатов Б., Егорова Н.Н., Розямов А.Р.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада мал кешеніндегі ірі қара малдардың ақсандау мәселесі келтірілген және оны жоюға арналған, осы індетке қарсы шаралар жүйесі ұсынылған.

Кілттік сөздер: ақсандау, ірі қара мал, індетке қарсы шаралар жоспары

Summary

LAMENESS OF CATTLE AND THEIR SOLUTIONS

Sushih V.Y., Kanatov B., Egorova N.N., Rozyamov A.R.

«Kazak scientific research veterinary institute» LLP

The data on the problem of lameness in cattle in the cattle-breeding complex and a plan of anti-epizootic measures to eliminate it.

Keywords: limp, cattle, plan protivoepizo-otic events

УДК 619:614.01636.2

ОПЫТ ЛЕЧЕНИЯ ПАТОЛОГИЙ КОНЕЧНОСТЕЙ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В ХОЗЯЙСТВАХ АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ

Сущих В.Ю., Канатов Б., Розямов А.Р.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье представлены данные по определению оптимальных антимикробных средств для лечения различных форм дерматитов конечностей, и предложена многокомпонентная мазь, которая была успешно проверена и апробирована в лабораторных и производственных условиях

Ключевые слова: хромота, дерматиты, лечение, сельскохозяйственные животные

Введение В настоящее время патология конечностей крупного рогатого скота имеет широкое распространение как в Республике Казахстан, так и за рубежом.

Известно, что болезни конечностей крупного рогатого скота наносят значительный экономический ущерб хозяйствам. При этом снижаются удои, живая масса, приплод, увеличиваются затраты на лечение больного животного и на проведение ветеринарно-санитарных мероприятий.

Заболевают, как правило, высокопродуктивные животные. При этом заболеваемость копытцев может достигать до 50% к общему поголовью.

Причиной, способствующей распространению болезни среди крупного рогатого скота, считают нарушение ветеринарно-санитарных и технологических нормативов, заключающихся в высокой концентрации животных на ограниченных площадях, неправильной системе их содержания (особенно отсутствия у животных сухой подстилки и моциона, укороченного стойла), сырости в помещениях, недостатке грубых кормов.

Цель работы – установить главный этиологический фактор заболевания дистального отдела конечностей у животных и разработать средства лечения.

Материалы и методы Сотрудниками ТОО «КазНИВИ» был проведен клинический осмотр всего поголовья крупного рогатого скота на одной из ферм хозяйствующий субъектов Алматинской области на предмет поражения (хромоты) дистального отдела конечностей.

От больных животных выборочно рандомизированным методом был взят патологический материал – срезы пораженных тканей для подробных бактериологических исследований.

В лабораторных условиях была проведена микроскопия материала, а также сделаны высевы на питательные среды – МПА, МПБ и МППБ под вазелиновым маслом.

Полученные культуры были идентифицированы на основании культурально-морфологических и биологических свойств.

После постановки биопробы и получения положительных результатов с выделенной вирулентной культурой были проведены опыты по определению антибактериальной эффективности терапевтических средств.

Результаты и обсуждения Проведенный обследования показали, что из 240 голов, содержащихся на ферме 16 имели признаки поражения дистального отдела конечностей. У больных животных отмечали различную степень тяжести поражения копытцев. При этом, большинство имело гнойно-некротический характер.

Нами установлено, что большинство коров и первотелок (до 60%) заболевает в первые три недели после отела, являясь при этом самыми высокопродуктивными животными.

В 85-90% случаев поражаются задние (тазовые) конечности, и только у 3% животных поражения имелись как на задних, так и на передних конечностях.

Клинические исследования показали, что доминирующими заболеваниями являлись ламиниты и пододерматиты (53-66%), также были отмечены дерматиты свода пальцевой щели и пяточной части копыльца (16-18%), флегмоны венчика (12-14%).

При бактериологическом исследовании 16 проб патматериала установлено, что в 70-80% случаев выделены культуры золотистого и эпидермального стафилококка, ассоциация их со стрептококками – в 32% проб с бактериями кишечной палочки – в 53%. В десяти пробах выделили анаэробные микроорганизмы, аналогичные по культурально-морфологическим признакам *Cl. perfringens* и *Cl. septicum*. В трех пробах были обнаружены длинные грамотрицательные палочки, идентифицированные как *Fus. necrophorum*.

Биопроба, на белых мышах показала, что вирулентными свойствами обладали стафилококки.

Осмотр площадок для содержания животных показал также имеющиеся несоответствия с зоогигиеническими нормами. Постоянное нахождение животных на мокрой поверхности приводит к мацерации рогового слоя и подлежащих тканей копылец. Недостаток в надлежащем уходе за копытцами и качественной регулярной дезинфекции животноводческих помещений усугубляют развитие патологического процесса.

Для определения оптимальных препаратов для терапии данных патологий были проведены опыты по определению антимикробной активности антибактериальных препаратов к выделенной культуре. В опыте были использованы такие препараты как: амикацин, ампициллин, тетрациклин, бензипенициллин, левомецетин, ристомидин, ванкомицин, фурудонин, цефуроксим, гентамицин и доксициклин. Чувствительность выделенной микрофлоры к последним двум препаратам устанавливали с использованием Е-тестов, остальные средства были протестированы на антимикробных дисках.

Для подтверждения достоверности полученных результатов в сравнительном аспекте были проведены опыты в двух повторностях, а именно с культурами I генерации (нативные) и с культурами III генерации (двукратные пересев на МППБ). Полученные результаты представлены в таблице 1 и на рисунке 1.

Таблица 1 - Чувствительность опытных культур к антибактериальным препаратам

Наименование антибактериальных препаратов	Зоны задержки роста, мм		
	Проба № 1	Проба № 2	Проба № 3
Использованы диски			

Амикацин	18/20	15/18	20/22
Ампициллин	-	-	-
Тетрациклин	-	-	-
Левомецетин	20/20	18/20	20/22
Ристомицин	-	-	-
Ванкомицин	22/25	22/25	20/22
Фуродонин	10/10	8/10	10/10
Цефуроксин	10/15	13/15	15/15
Бензилпенициллин	-	-	-
Использованы Е-тесты			
Исходные показатели зоны задержки роста, мкг			
Гентамицин	1,0-1,5	1,0-1,5	1,5-3,0
Доксициклин	-	-	-
Примечание: числитель - культуры I генерации (нативные) знаменатель - культуры III генерации			

Таким образом, из данных, приведенных в таблице 1, видно, что все опытные культуры являются чувствительными к амикацину, левомецетину, ванкомицину, гентамицину и цефуроксину. Более низкая чувствительность культур отмечена к фуродонину; а к таким препаратам как - ампициллин, тетрациклин, бензилпенициллин, доксициклин и тетрациклин все культуры являются устойчивыми.

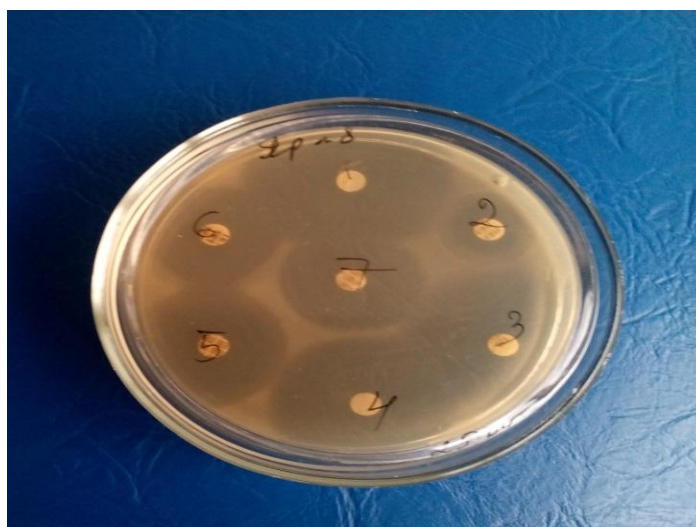


Рисунок 1- Чувствительность опытной культуры к антимикробным средствам

Данные рисунка 1 показывают, что выделенная культура высокочувствительна к амикацину, левомецетину, ванкомицину, гентамицину и цефуроксину и слабо чувствительна к фуродонину.

На основании полученных данных нами приготовлен опытный образец мази для лечения гнойно-некротических поражений конечностей у коров.

Предлагаемая мазь является многокомпонентной. Основным действующим антибактериальным веществом является - левомицетин. В качестве вспомогательных веществ мазь содержит вазелин, стрептоцид, ихтиол и демитилсульфоксид.

Предлагаемая мазь после подробных лабораторных испытаний была успешно апробирована на больных животных в ТОО «Байсерке-Агро».

Мазь, после тщательной хирургической обработки (обрезка, расчистка и обработка асептическим раствором) наносили на рану с последующей фиксацией ватно-марлевой повязкой и водонепроницаемым гольфом. Такая процедура проводилась один раз в сутки, в течение 3-5 суток (в зависимости от тяжести патологического процесса). Предварительные производственные испытания опытной мази показали, что терапевтическая эффективность при ее применении составляет 92-95%, при среднем курсе лечения 4,5-4,8 суток.

Заключение Таким образом, в процессе опытов были определены оптимальные антимикробные средства для лечения различных форм дерматитов конечностей, и предложена многокомпонентная мазь, которая была успешно проверена и апробирована в лабораторных и производственных условиях.

Сведения об авторах:

Суших В.Ю. – кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела эпизоотологического мониторинга и оценки рисков бактериальных и паразитарных болезней животных ТОО «КазНИВИ»

Канатов Б. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела по научно-методическому обеспечению эпизоотологического и ветеринарно-санитарного благополучия ТОО «КазНИВИ»

Розямов А.Р. – старший лаборант лаборатории бактериологии ТОО «КазНИВИ»

Түйін

АЛМАТЫ ОБЛЫСЫНДАҒЫ ШАРУАШЫЛЫҚТАРЫНДА ІРІ ҚАРА МАЛДЫҢ ТҮЯҚ АУРУЛАРЫНЫҢ ЕМДЕУ ТӘЖІРИБЕСІ»

Суших В.Ю., Канатов Б., Розямов А.Р.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада түяқ ауруларын емдеуге қолданылатын микробтарға қарсы дәрмектерді анықтап, таңдау мәліметтері көрсетілген және зертханалық, сонымен қатар шаруашылық жағдайында тексерілген, апробациядан өткен күрделі құрамды жақпа май ұсынылады.

Кілттік сөздер: малдың ақсауы, дерматиттер, емдеу, ауыл шаруашылық малдары

Summary

EXPERIENCE OF TREATMENT OF LIMB PATHOLOGIES IN FARMS OF ALMATY REGION

Sushchikh V.Y., Kanatov B., Rozyamov A.R.

LIP "Kazakh scientific-research veterinary institute"

The article presents the data to determine the optimal antimicrobial agents for the treatment of various forms of dermatitis of the extremities, and offered multicomponent ointment, which has been successfully tested and tested in laboratory and production environments

Keywords: lameness, contact dermatitis treatment, livestock

УДК:619:616.988:636.1

ПАСТЕРЕЛЛЕЗ ОВЕЦ

Тургенбаев К.А., Мусаева А.К., Егорова Н.Н.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приводятся результаты бактериологических исследований биоматериала и патматериала от больных и павших овец с подозрением на пастереллез.

Ключевые слова: инфекция, диагностика, пастереллез, овцы, ягнята, *Pasteurella multocida*

Введение Инфекционные болезни молодняка наносят огромный экономический ущерб животноводству Республики Казахстан.

Пастереллез (геморрагическая септицемия) – инфекционная болезнь молодняка сельскохозяйственных и диких животных, вызываемая микроорганизмами из рода *Pasteurella*, которая имеет большое количество видов и разновидностей [1,2]. Заболевание проявляется сепсисом, энтеритами, крупозными пневмониями, воспалением суставов, отеками [3]. Пастереллы постоянно обитают в верхних дыхательных путях здоровых животных, их часто обнаруживают на слизистых оболочках, могут быть слабопатогенными или апатогенными. Но при ослаблении организма вследствие болез-

ни, климатических условий пастереллы могут повысить свою вирулентность, перепассироваться и вызвать эпизоотию, которую невозможно остановить одной антибиотикотерапией. Необходимы лечебные мероприятия с применением специфической противопастереллезной сыворотки.

К пастереллезу восприимчивы ягнята с первых дней жизни, могут заболеть и взрослые особи. Болеют пастереллезом и дикие животные, которые становятся разносчиками инфекции. Ослабление организма молодняка сельскохозяйственных животных приводит к усилению патогенности микроба. Резистентность организма молодняка к инфекционным болезням снижается в результате неполноценного кормления, плохими условиями содержания и кормления, стрессового состояния, вызванного перевозкой, переохлаждением или вследствие профилактических прививок.

Заражение происходит в основном через дыхательные пути – пастереллез является воздушно-капельной инфекцией, но заражение возможно через корма, предметы ухода, зараженные помещения. Антисанитарные условия содержания молодняка в сырых, темных, плохо вентилируемых и грязных помещениях способствуют быстрому развитию болезни. Переболевшие животные являются источниками инфекции в течение 18-24 месяцев. Здоровые животные также могут носить возбудителя в себе и выделять его во внешнюю среду, длительное время оставаясь бактерионосителями. Пастереллез представляет опасность и для обслуживающего персонала [4,5].

Инкубационный период продолжается от нескольких часов до двух суток, в зависимости от вирулентности возбудителя пастереллеза и устойчивости молодняка. Комплектование групп молодняка на крупных фермах для доращивания животных из различных хозяйств может вызвать развитие заболевания, так как происходит обмен различными штаммами пастерелл среди животных с неодинаковой устойчивостью к болезни.

На слизистых оболочках дыхательных путей и всего организма возбудитель пастереллеза быстро размножается, выделяя токсины, которые повреждают стенки кровеносных сосудов. Пастереллы, попадая в кровь, обуславливают септицемию. Чаще пастереллез протекает подостро и хронически или в виде вторичной болезни, осложняя вирусные и бактериальные инфекции [6,7, 8].

Цель – индикация и идентификация бактерий, выделенных из биологического и патологического материала от больных и павших животных на основании изучения биологических свойств полевых изолятов микроорганизмов.

Материал и методы При выполнении работы используют бактериологические, биологические методы исследований. Культуральные свойства пастерелл изучают путем посева проб патологического материала на МПБ, МПА с добавлением 10% сыворотки крупного рогатого скота и 1 % глюкозы, биохимические – путем посева пастерелл на среды с углеводами. Морфологию микроорганизмов изучают путем проведения микроскопии маз-

ков, приготовленных из суточных агаровых культур, окрашенных по Граму и Романовскому-Гимза. Культивирование пастерелл также осуществляют на бульоне и агаре Хоттингера, содержащем 1% глюкозы и 10% нормальной сыворотки крупного рогатого скота. 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 ватно-марлевой 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 3%-ный раствор перекиси водорода. При наличии фермента каталазы отмечается выделение пузырьков отщепленного кислорода из перекиси водорода, добавленной в ростовую среду. Вирулентность культур определяют в опыте на белых мышах.

Идентификацию выделенных микроорганизмов проводят согласно определителю Берджи [9].

Результаты и обсуждение 2-8 августа 2015 года с диагностической миссией выезжали в Жанакорганский район Кызылординской области. В районе имеются 2 сельских кента, 24 сельских округов, где содержится 270000 голов мелкого рогатого скота. Эпизоотия инфекционных болезней овец началась 4 июня, начался массовый падеж животных, начиная от ягнят и распространился к овцематкам.

В Жанакорганском районе отары овец принадлежат частным лицам, поэтому некоторые отары были иммунизированы против инфекционной энтеротоксемии, некоторые – против пастереллеза, некоторые – против контагиозной эктимы, некоторые – против чумы мелких жвачных, а некоторые владельцы ограничивались симптоматическими лечебными мероприятиями в ожидании постановки точного диагноза болезни.

В с/о Көк-Төбе в частном хозяйстве заболели 55 голов МРС, из них 12 голов молодняка и 2 овцы пали. Проводились лечебные мероприятия с применением антибиотиков - нитокс, ампициллин, гентаприм в/м и окситетрациклин в/в.

В с/о Бесарық КХ «Көбелдес» больные животные были изолированы. У больных овец отмечалась повышенная температура тела до 41 °С. 40 голов животных, в основном ягнята 5-6 месячного возраста, стояли в изоляторе, из которых 14 голов пали. У заболевших животных за 5-6 часов температура тела поднималась до 42°С, это время животные стояли без движения, после чего падали и погибали. У больных овец из клинических признаков, кроме подъема температуры тела отмечали кашель, дыхание затруднено, хрипы, стоны. Некоторым больным животным в/м вводили антибиотики – нитокс, аламицин, окситетрациклин. При изнуряющем кашле у ягнят отмечались слизисто-гнойные

истечения из носа, от 3 животных отобран биоматериал – носовая слизь для бактериологического исследования.

При вскрытии трупа павшего 5 месячного ягненка наблюдали: верхушечная часть легких была почерневшая, на разрезе отмечались гнойные выделения и гнойно-некротические очажки, полосчатые кровоизлияния на перикарде сердца, паренхима печени потемневшая кровенаполненная с кровоизлияниями по всей поверхности, желчный пузырь переполнен, желчь густой консистенции. В кишечнике и селезенке особых изменений не обнаружено. Высевы на МПБ, МПА из внутренних органов павших овец проводили в полевых условиях, на месте вскрытия трупов. Из проб био- и патматериала были сделаны посевы на питательные среды: МПБ (мясо-пептонный бульон), МПА (мясо-пептонный агар), МППБ (мясо-пептонный печеночный агар- среда Китт-Тароцци).

В с/о Акүйік в КХ «Ақсеңгір» на одном пастбище пасутся животные 2 хозяйств: КХ «Ақсеңгір» и ТОО «Ынтымак». Из этих двух хозяйств больные животные были помещены в один изолятор. Овцы сильно кашляли, хрипели. У больных животных наблюдалась лихорадка, выраженное угнетение общего состояния сопровождалось развитием отеков подкожной клетчатки передней части туловища и фибринозной плевропневмонией. Больные ягнята и овцы погибали на 2-5-й день.

У некоторых овец и ягнят отмечались симптомы затяжной фибринозной плевропневмонии, кератита, слизисто-гнойного ринита, артритов и прогрессирующего истощения.

Со времени начала эпизоотии части заболевших животных проводились лечебные (вводили в/м антибиотики тетрациклинового ряда: нитокс, аламицин, оксижект, окситетрацилин), остальным животным проводились профилактические мероприятия, но гибель животных продолжалась. С начала эпизоотии (с июня месяца) количество павших животных составило 270 голов, в к началу августа - к нашему приезду в изоляторе стояло больных 170 голов. Был отобран биоматериал – носовая слизь от 5 голов больных 4- 5 месячных ягнят.

При вскрытии павшего 4 месячного ягненка обнаруживали кровоизлияния в подкожной клетчатке, мышцах, на серозных оболочках, лимфатических узлах, кишечнике и сердце. Легкие были увеличены, синюшные, в трахее наблюдалось скопление пенистой жидкости. Верхушечная часть легких ягненка была почерневшая, на разрезе были гнойные выделения, полосчатые кровоизлияния на перикарде сердца, в печени и почках изменений не обнаруживалось. На месте вскрытия ягненка из проб био- и патматериала были сделаны посевы на питательные среды: МПБ, МПА и МППБ.

Были изучены культуральные свойства выделенных от овец культур, посевы из патматериала от павших животных на МПБ и МПА простояли 20 ч в теплом месте. В высевах из легкого и сердца на МПБ

Романовскому-Гимза, наблюдали грамотрицательные мелкие палочки, у которых преобладало биполярное окрашивание по полюсам.

Суточная культура пастерелл в мазке, окрашенной по Граму, представлена на рисунке 2.

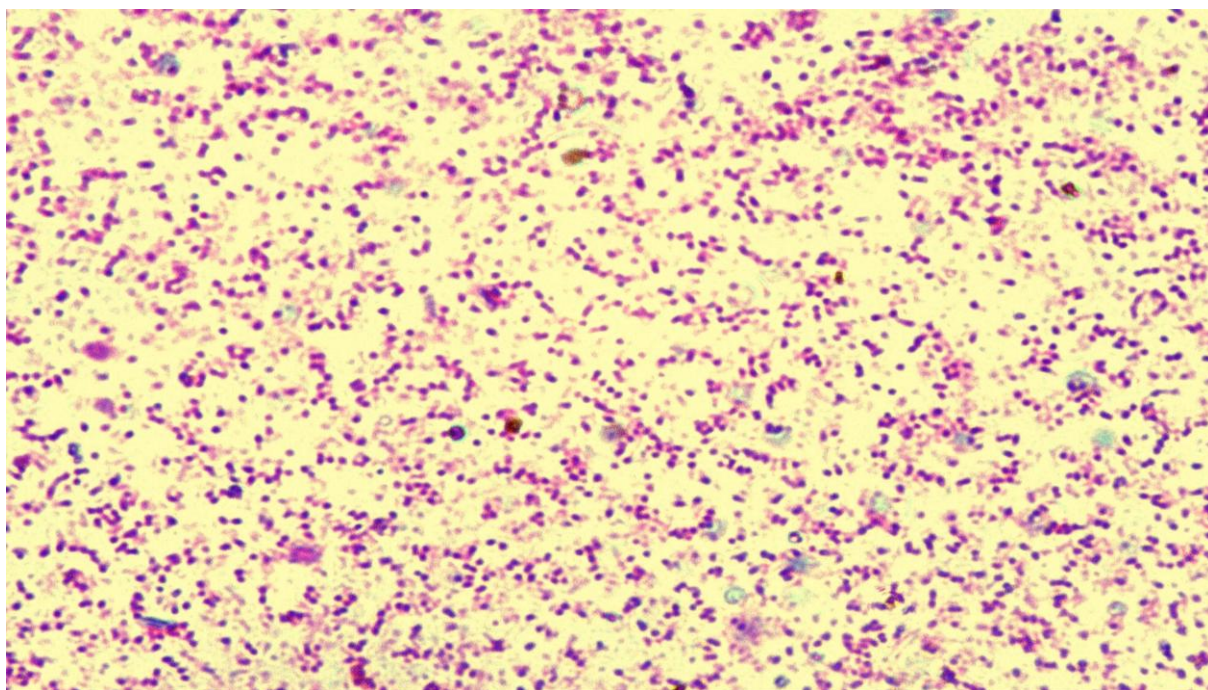


Рисунок 2 - Суточная культура *Pasteurella multocida*, в мазке окрашенной по Граму

На рисунке 2 видны пастереллы – грамотрицательные мелкие палочки, окрашенные биполярно, овоиды, которые располагались сплошным слоем по всему полю зрения микроскопа.

При изучении биохимических свойств установлено, что выделенная культура *Pasteurella multocida* обладала типичными для пастерелл биохимическими свойствами. Результаты изучения биохимических свойств пастерелл представлены на рисунке 3.



Рисунок 3 - Биохимическая активность пастерелл на среде Гисса

На рисунке 3 показано изменение цвета сред с углеводами, что свидетельствует об активности ферментативных свойств пастерелл, об образовании пастереллами кислоты, разлагая углеводы. На рисунке не видно пузырьков газа, пастереллы не продуцируют газ при ферментации углеводов.

Результаты проведенных исследований биохимических ферментативных свойств эпизоотической культуры *Pasteurella multocida ovis* в сравнении с эталонным коллекционным штаммом В-0229 *Pasteurella multocida* биовар *ovis* отражены в таблице 1.

Таблица 1 - Биохимические характеристики бактерий рода *Pasteurella*

Наименование тестов	<i>Pasteurella multocida ovis</i> (эпизоотический штамм)	В-0229 <i>Pasteurella multocida</i> биовар <i>ovis</i> (эталонный коллекционный штамм)
1	2	3
Индол	+	+
Сероводород	+	+
Реакция Фогеса- Проскауэра	-	-
Редукция нитратов в нитриты	+	+
Мочевина	-	-
Подвижность	-	-
Глюкоза	К	К
Сахароза	К	К
Желатин	-	-
Фруктоза	+	+
Сорбит	-	-

Галактоза	К	К
Лактоза	-	+
Сахароза	-	-
Маннит	К	К
Дульцит	-	-
Арабиноза	-	-
Мальтоза	-	+
Сорбит	К	К
Ксилоза	К	К
Манноза	К	К
Раффиноза	-	+
D-Галактоза	К	К
Каталаза	+	+
Мальтоза	-	-
Арабиноза	-	-
Глицерин	-	-
Примечание: + - положительный результат через 24 часа; - отрицательный результат; К - образование кислоты без газа.		

Из таблицы 1 следует, что *Pasteurella multocida ovis* образовывала индол, сероводород, реакция Фогес-Проскауэра отрицательная, нитраты восстанавливала до нитритов, разрушала перекись водорода. *Pasteurella multocida bovis* ферментировала углеводы: глюкозу, сахарозу, фруктозу, сорбит, галактозу, маннозу, маннит, ксилозу и трегалозу с образованием кислоты без газа (менялась окраска среды, рис. 3).

Маркерным признаком *Pasteurella multocida* является отсутствие ферментации лактозы, а также дульцита, раффинозы, рамнозы, глицерина, салицина, мальтозы и арабинозы. Видовым признаком пастерелл является способность ферментировать глюкозу, сахарозу, маннозу, галактозу. Особенностью пастерелл также является ферментация углеводов с образованием кислоты без газа. Биохимические свойства эпизоотического штамма *Pasteurella multocida ovis* были типичными для пастерелл и соответствовали эталонному штамму В-0229 *Pasteurella multocida* биовар *ovis*.

Вирулентность *P. multocida ovis* проверяли в опыте на 3 белых мышях массой 16-18 г. Опытным животным вводили подкожно по 0,2 мл суточной бульонной культуры пастерелл. На вторые сутки отмечалась гибель всех опытных мышей, что свидетельствует о высокой вирулентности культуры. При посеве патологического материала (легкое, сердце) от павших мышей на МПА выростала характерная по культурально - морфологическим признакам культура пастерелл в виде мелких нежных прозрачных колоний, не контаминированная посторонней микрофлорой.

Таким образом, по клинико-эпизоотологическим данным, результатам исследований культурально-морфологических, тинкториальных, биохимических свойств и постановкой биопробы установлено, что

возбудителем инфекции являлась *Pasteurella multocida*, возбудитель болезни – пастереллеза овец.

Заключение Клинико-эпизоотологические данные, результаты патологоанатомических, бактериологических, биохимических исследований пастерелл, изолированных из патматериала от овец, а также постановка биопробы на белых мышах позволили установить диагноз, выделить и идентифицировать возбудителя пастереллеза овец- *Pasteurella multocida* ovis.

Литература

1. Туманова Е.И. Пастереллезы телят, поросят, ягнят М.: Россельхозиздат, 1982. – 10 с.
2. Кадымов Р.А. и др. Ветеринарная микробиология. М.: Колос, 1982- С. 177-180
3. Куриленко А. Н., Крупальник В. Л. Инфекционные болезни молодняка сельскохозяйственных животных. М.: Колос, 2001- С.60-67.
4. Осидзе Д. Ф. Инфекционные болезни животных. М.: Агропромиздат, 1987. - С.188-191.
5. Дорош М.В. Болезни овец и коз. М.: Агропромиздат, 2007. - С.38 - 40.
6. Антонов Б. И. Лабораторные исследования в ветеринарии. М.: Агропромиздат, 1986.- С.175 -177.
7. Сидорчук А.А. и др. Инфекционные болезни животных. М.: Колос, 2007- 671 с.
8. Бакулов И.А. Эпизоотология с микробиологией. М.: Колос, 1981- С. 36-77.
9. Хоулт Дж. Определитель бактерий Берджи. Т. 1, М.: Мир, 1997.- С. 202 - 203, Т.2 , -С. 568.

Сведения об авторах:

Тургенбаев К.А. – доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник отдела по разработке и внедрения биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

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»

Түйін

ҚОЙ ПАСТЕРЕЛЛЕЗІ

Тургенбаев Қ.А., Мұсаева А.Қ., Егорова Н.Н.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада ауырған және пастереллезге күманды өлген қойлардан алынған биологиялық және патологиялық материалдарды зерттеудің нәтижелері келтірілген. Клиника-эпизоотологиялық мәліметтерге, бактериологиялық, биохимиялық зерттеулердің нәтижелеріне сүйеніп қой пастереллезінің қоздырғышы *Pasteurella multocida ovis* бөлініп алынғаны дәлелденді.

Әдебиет 9, кесте 1, сурет 3.

Кілттік сөздер: инфекция, диагностика, пастереллез, қойлар, қозылар, *Pasteurella multocida*

Summary

PASTEURELLOSIS OF SHEEPS

Turgenbaev K.A., Mussayeva A.K., Yegorova N.N.

«Kazakh scientific-research veterinary institute» LLP

The article presents the results of a study of the biological and pathological material from sick and dead sheep with suspected animals pasteurellosis. Based on clinical and epizootic data, bacteriological, biochemical studies isolated the pathogen *Pasteurella sheeps Rasteurella multocida ovis*.

Bybl. 9, tabl. 1, pict. 3.

Keywords: infection, diagnosis, pasteurellosis, sheep, lambs, *Pasteurella multocida*

УДК619:637.07

ВЛИЯНИЕ НЕФТЕГАЗОКОНДЕНСАТНОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КОРОВ

Туяшев Е.К., Канатбаев С.Г., Нысанов Е.С.

Филиал «Западно - Казахстанская научно – исследовательская ветеринарная станция ТОО «КазНИВИ»

Резюме В рамках научного проекта по теме: «Комплексное изучение состояния экосистем на территориях, прилегающих к Карачаганакскому нефтегазоконденсатному месторождению (КНГКМ), проведен биохимический анализ крови коров. В статье авторы приводят данные по составу крови коров, находящихся в зоне Карачаганакского месторождения. Полученные результаты сравнены с данными, полученными в других регионах.

Ключевые слова: анализ, сыворотка, месторождение, элементы

Введение Активная антропогенная деятельность способствует созданию техногенных районов, характеризующихся аномальным содержанием тяжелых металлов. Передаваясь по трофическим цепям, они накапливаются в почве, кормах и в организме животных. Тяжелые металлы считаются основными загрязнителями, так как их техногенное накопление в окружающей среде идет особенно высокими темпами. Данные элементы обладают большим сходством с физиологически важными органическими соединениями и способны подавлять наиболее значимые процессы метаболизма, тормозить рост и развитие животных, что приводит к снижению продуктивности и ухудшению качества продукции. Основная опасность тяжелых металлов для организма животных заключается не столько в проявлении острого отравления, сколько в постоянной их кумуляции [1].

Превышение в кормах ПДК тяжелых металлов приводит к изменению биохимических показателей крови, что в свою очередь сказывается на нарушении структуры и функций специфических клеток печени – гепатоцитов вследствие токсического воздействия тяжелых металлов [2,3].

В санитарно-защитной зоне КНГКМ в кормах концентрация цинка, меди, железа, кадмий, никеля и хрома не превышает ПДК, в то же время содержание свинца, кадмий и хрома в поверхностных водах этого региона превышает ПДК в 1,5 - 2 раза. Содержание свинца, кадмия и ртути в молоке коров не выявлено [4,5].

Исследования проводились в следующих населенных пунктах Бурлинского района: п. Березовка (находится вблизи КНГКМ), п. Пугачево (западнее КНГКМ), п. Жанаталап (восточнее КНГКМ) и прилегающие к ним территории. Для сравнения полученных результатов, контрольными объектами служили п. Долинный Теректинского района и п. Ащысай Чингирлауского района Западно-Казахстанской области.

Территории месторождений расположены в Казахстанской провинции сухостепной зоны, в сухом, очень теплом агроклиматическом районе, который характеризуется резкой континентальностью. Проявляющейся в больших температурных колебаниях дня и ночи, зимы и лета, в быстром переходе от зимы к лету, при короткой дружной весне. Годовое количество осадков составляет 220 - 290 мм. Продолжительность периода с температурой выше 10 °С составляет 150 - 160 дней. Безморозный период 145-155

дней. Тепловые ресурсы районов обеспечивают вызревание большинства сельскохозяйственных культур. Однако, условия увлажнения здесь очень жесткие и в большинстве лет влаги для удовлетворения водоснабжения посевов не хватает. Климатические условия районов с малым количеством атмосферных осадков и большой сухостью воздуха, вызывающей усиленное испарение, позволяют получить удовлетворительные урожаи овощных культур лишь при регулярном орошении.

Цель исследований Изучить биохимические показатели крови коров, находящихся в санитарно-защитной зоне и определить влияние КНГКМ.

Задача исследований Провести биохимический анализ крови КРС и разработать рекомендации по реабилитации объектов исследований.

Материалы и методы исследований Биохимические исследования проводились выборочно, у 10 – 15 % животных. Для биохимического анализа кровь отбирали в пробирки с гель - активатором для свертывания крови.

Результаты и обсуждение Результаты биохимических исследований сыворотки крови коров приведены в таблице.

Таблица - Биохимические показатели сыворотки крови коров

Показатели	Норма	Населенные пункты				
		Березовка (n=12)	Пугачево (n=12)	Жанаталап (n=12)	Долинный (n=12)	Ащысай (n=12)
		М ± m	М ± m	М ± m	М ± m	М ± m
Глюкоза ммоль/ л	2,2-3,2	0,9± 1,4	0,8±0,8	0,9±0,7	0,6± 1,4	0,7±0,8
Кальций мг%	10-12,5	8.2±0,7	9,1± 0,5	10± 0,5	10,4±0,8	8,3± 0,5
Магний, ммоль/ л	1 - 2	0,41±0,8	0,31± 1,4	0,4± 0,5	0,3±0,7	0,2± 0,5
Железо, мкг %	316-495	407±0,7	469± 2,3	455±1,9	436± 2,3	461± 1,4

Примечание: М – средняя арифметическая; m – ошибка среднего арифметического; n – количество животных; уровень вероятности (P) в сравниваемых группах 99,9%.

Как видно из таблицы, в сыворотках крови крупного рогатого скота п. Березовка и п. Ащысай содержание кальция ниже нормы. Так, если норма содержания кальция в крови 10-12,5 мг %, то у животных п. Березовка было выявлено 8,2 мг % и п. Ащысай - 8,3 мг %.

Содержание магния в крови животных во всех населенных пунктах очень низкое – от 0,2 до 0.41 ммоль/л., при норме 1 - 2 ммоль/л. При этом у 25% животных п. Березовка, у 22% животных п. Ащысай и у 33% животных п. Жанаталап этот элемент в крови почти отсутствует.

Снижение кальция в организме крупного рогатого скота связывают с недостатком в рационе животных витамина Д. Недостаток кальция может привести к такому заболеванию животных как остеодистрофия – хронически протекающая болезнь с нарушениями в костной ткани. Животные от-

стают в росте, хромают, появляется извращенный аппетит: поедают тряпки, предметы, облизывают стены. Для регулирования содержания кальция, животным назначают комплексные витамины: тривитамин, тетравит.

Низкое содержание в крови животных магния связано с повышенным содержанием калия в почвах этих поселков. Повышенное содержание калия в почве отрицательно влияет на содержание магния в растениях, что, в свою очередь, отражается и на содержании магния в организме животных. Недостаток магния в организме крупного рогатого скота (гипомагниемия) ранней весной приводит к пастбищной тетании.

Заключение Для лечения недостатка магния в организме крупного рогатого скота (гипомагниемия) рекомендуется использовать раствор сульфата магния, добавлять в рационы животных гидроксид магния (препарат «АгроМаг»), глауконитовый концентрат или магниевый оксид кормовой. Добавка в рационы животных гидроксида магния (препарата «АгроМаг») приводит к восполнению дефицита этого элемента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Новиков В.А., Тремасов М.Я. Техногенное воздействие тяжелых металлов // Ветеринария. 2004. № XI. – С. 51 - 55.
2. Грибовский Г.П. Научное обоснование комплекса мероприятий по снижению влияния аномального содержания микроэлементов на организм животных и санитарное качество продуктов животноводства в биогеохимических провинциях Южного Урала. – М., 1996 – 145 с.
3. Ларионов Г.А. Содержание тяжелых металлов в почве, кормах и молоке коров // Ветеринария. 2005. № 5. – С. 45 - 47.
4. Канатбаев С.Г., Туяшев Е.К. Действие тяжелых металлов на биохимические и гематологические показатели крови коров // Материалы международной конференции, посвященные 80-летию Самарской НИВС Россельхозакадемии. Самара, 2009. – С. 189 - 193.
5. Туяшев Е.К., Канатбаев С.Г. Содержание тяжелых металлов в воде и молоке коров // Теория и практика борьбы с болезнями животных в Республике Казахстан: Сб. научн. тр. КазНИВИ. Том LY. Алматы, 2009.-С. 233 – 236.

Сведения об авторах

Канатбаев С. Г.- доктор биологических наук, гл. научный сотрудник филиала «Зап. Каз. НИВС» ТОО «КазНИВИ»

Туяшев Е.К. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник филиала «Зап. Каз. НИВС» ТОО «КазНИВИ»

Нысанов Е. С. – научный сотрудник филиала «Зап. Каз. НИВС» ТОО «КазНИВИ»

Түйін

МҰНАЙГАЗКОНДЕНСАТЫ КЕН ОРНЫНЫҢ СИЫРЛАР ҚАНЫНЫҢ БИОХИМИЯЛЫҚ КӨРСЕТКІШТЕРІНЕ ӘСЕРІ

Туяшев Е.К., Канатбаев С.Г., Нысанов Е.С.

«Батыс-Қазақстан ветеринариялық ғылыми- зерттеу стансасы» Қазақ
ҒЗВИ филиалы

«Қарашығанақ мұнайгазконденсаты кен орнына (ҚМГКК) тиісілі аймақтың экожүйесінің жағдайын кешенді анықтау» ғылыми жоба тақырыбы шеңберінде ірі қара мал қанның биохимиялық талдау жасалды. Мақалада авторлар Қарашығанақ кен орны аймағындағы ірі қара малдарының қан құрамының мәліметтерін келтіреді. Алынған мәліметтер басқа аймақтың мәліметтерімен салыстырылған.

Кілттік сөздер: талдау, сарысу, кен орны, элементтер

Summary

INFLUENCE OF THE OIL AND GAS FIELDS ON THE BIOCHEMICAL INDICATORS OF COWS BLOOD

Tuyashev E.K, Kanatbayev S. G., Nysanov E. S.

Branch "West - Kazakhstan scientific - research Veterinary Station"

In the framework of a research project on the topic: Comprehensive studying of ecosystem at the territories adjacent to the Karachaganak oil and gas field (KOGF) biochemical indicators of blood of cattle was conducted. In article authors cite the data on biochemical composition of blood of the horned cattle in Karachaganak oil and gas field zone. The received results was compared to the data received in other regions.

Keywords: analysis, serum, field, elements

УДК 619:616.9-036.22; 619:616.9

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПО БРУЦЕЛЛЕЗУ ЖИВОТНЫХ В ЗАПАДНО-КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ

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

Резюме В статье приводятся результаты эпизоотологического мониторинга по бруцеллезу крупного и мелкого рогатого скота в Западно-Казахстанской области. Изучены особенности эпизоотологии бруцеллеза сельскохозяйственных животных в Западно-Казахстанской области. Приведены основные опасные факторы распространения инфекции.

Ключевые слова: эпизоотология, мониторинг, исследование, профилактика

Введение Бруцеллез крупного и мелкого рогатого скота наносит большой экономический ущерб хозяйствам из-за снижения продуктивности, преждевременной выбраковки животных, затрат на профилактические и оздоровительные мероприятия [1].

Эпизоотологический анализ, а также реализация их результатов для успешного обеспечения профилактики и борьбы с бруцеллезом животных, являются насущными задачами ветеринарной науки и практики [2,3].

Цель исследований Мониторинг бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота в разрезе районов Западно-Казахстанской области за последние годы.

Материалы и методы исследований Материалами для исследования явились сельскохозяйственные животные, неблагополучные по бруцеллезу хозяйства, материалы ветеринарной отчетности и данные собственных исследований, собранные во время экспедиций.

Результаты и обсуждение Поголовье сельскохозяйственных животных в Западно-Казахстанской области в последние годы медленно, но неуклонно увеличивается.

Животноводство области сосредоточено, в основном, в частных подворьях (54,86%), крестьянских хозяйствах (42,98%) и сельхозпредприятиях (2,16%).

Животноводство области характеризуется стойловым, стойлово-пастбищным, отгонно-пастбищным содержанием животных. В Западно – Казахстанской области на 01.01. 2016г. имеется 4450 зарегистрированных крестьянских хозяйств.

Мелкие и личные подсобные хозяйства порождают риск ухудшения стабильности эпизоотической ситуации и усложняют в значительной степени проведение плановых диагностических исследований на бруцеллез.

В области на 01.04. 2016 г. насчитывается 467260 голов крупного рогатого скота, из них 216545 гол. в частном подворье и 250715 гол. в с/х формированиях, 1 113140 голов мелкого рогатого скота, из них 532825 гол. в частном подворье и 580315 гол. в с/х формированиях

Данные по заболеваемости КРС и МРС бруцеллезом в ЗКО представлены на рис.1.

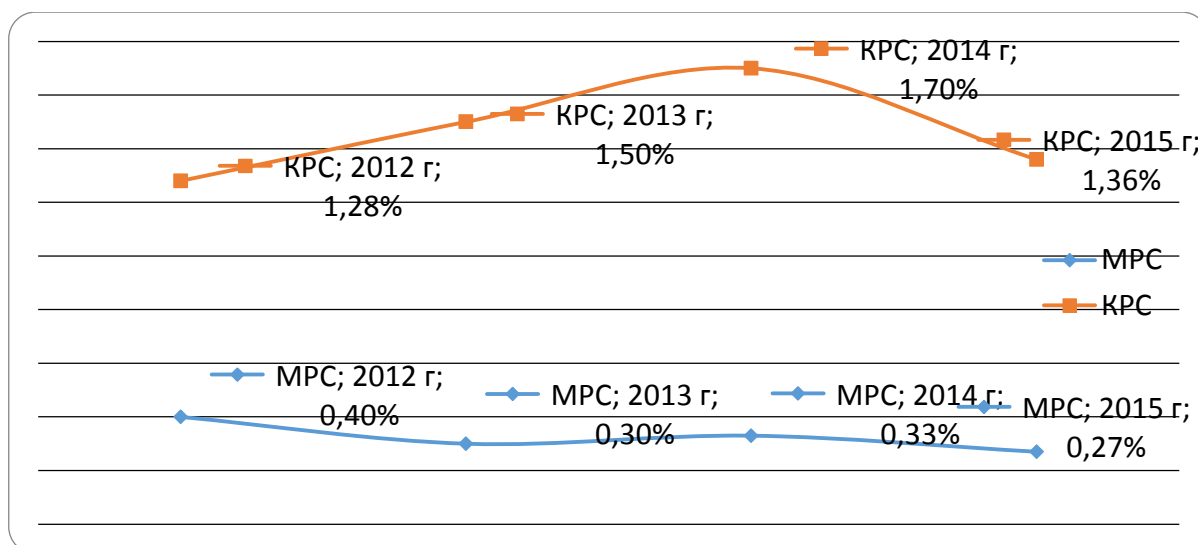


Рисунок 1 – Динамика заболеваемости (%) крупного и мелкого рогатого скота в ЗКО бруцеллезом за 2012-2015 гг.

Как видно из рисунка 1, показатель заболеваемости крупного и мелкого рогатого скота бруцеллезом в 2015 году, хотя и незначительно, но снизился. Так, если в 2014 году заболеваемость КРС бруцеллезом равнялась 1,70%, то в 2015 году – 1,36%, т.е. этот показатель уменьшился на 0,34%. Аналогичная ситуация снижения числа заболевших бруцеллезом животных наблюдалась, наблюдалась и среди МРС, но менее выраженная, чем у КРС. В 2015 году относительное количество выявленного положительно реагирующего бруцеллезом МРС в ЗКО составило 0,27%, что на 0,06% ниже такового предыдущего года.

Высокий процент зараженности крс бруцеллезом в 2015г. отмечен в Жангалинском (2,32%), Бокейординском (1,78%) и Акжайкском (1,77%) и Казталовском (1,71%) районах.

Нет заметного улучшения ситуации и по бруцеллезу МРС, особо опасного в эпидемиологическом отношении. Заболеваемость среди этого вида скота в области сохраняется в пределах 0,3-0,4%, показатель которого особенно высок в Бурлинском (1,6%) и Акжайкском районах (0,57%) и в г. Уральске (1,6%).

Определена структура заболеваемости КРС, МРС и верблюдов бруцеллезом в области за прошлый год (рис.2).

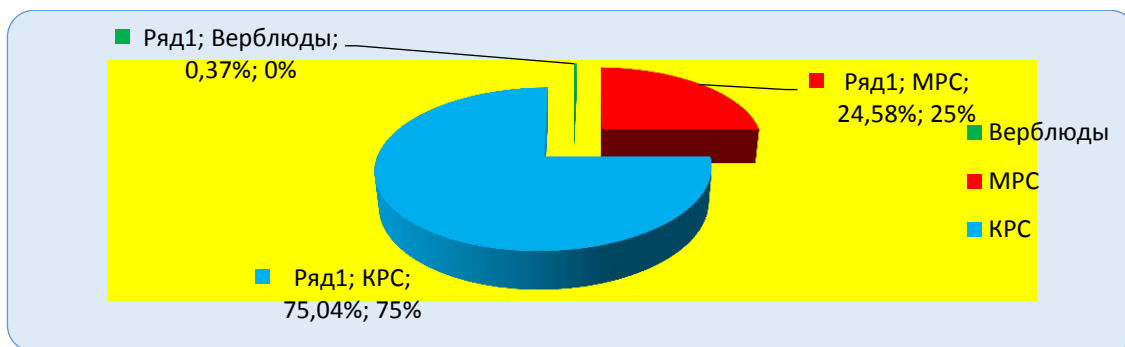


Рисунок 2 - Структура заболеваемости животных бруцеллезом в ЗКО за 2015г.

Как видно из рисунка 2, по области чаще болеют бруцеллезом крупный рогатый скот (75,04%), затем мелкий рогатый скот (24,58%) и верблюды (0,37%).

Как известно из литературных сообщений ряда исследователей эпидемиологическая обстановка в том или ином регионе прямо или косвенно зависит от степени напряженности эпизоотической ситуации по бруцеллезу животных. На рисунке 3 представлены статистические данные по заболеваемости людей бруцеллезом в ЗКО с 2011 по 2015 годы.

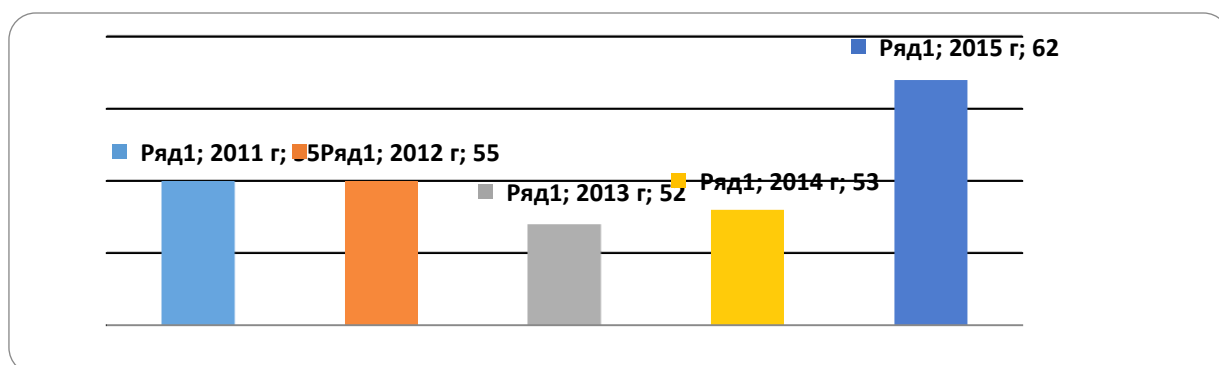


Рисунок 3 - Количество больных бруцеллезом людей в Западно-Казахстанской области за 2011-2015 гг.

Как видно из рисунка 3, в области ежегодно заболевает от 52 до 62 человек, что свидетельствует о постоянно существующей неблагоприятной по бруцеллезу животных обстановке в районах ЗКО и низкой эффективности проводимых противоэпизоотических мероприятий в них.

Неустойчивая эпидемическая ситуация по бруцеллезу людей имеет прямую коррелятивную связь с эпизоотическим неблагополучием среди мелкого рогатого скота. Чаще люди, больные бруцеллезом, регистрируются в 5 районах области (Акжайыкском, Бурлинском, Казталовском, Сырымском, Шынжирлауском), в отдельных сельхозформированиях, которых в 2013-2014 годы зарегистрировано наибольшее число неблагополучных пунктов по бруцеллезу мелкого рогатого скота.

Заклучение В области эпизоотическая ситуация по бруцеллезу с/х животных очень напряженная. Для стабилизации эпизоотической ситуации по бруцеллезу с/х животных необходимо увеличить план серологических исследований для полного охвата животных, ограничительные мероприятия по бруцеллезу животных проводить в целом по с/округу.

Литература

1. Косилов И.А. Бруцеллез сельскохозяйственных животных.- Новосибирск: Сибирское отделение РАСХН, 1992. - 260 с.
2. Сидорчук А.А. Общая эпизоотология / Сидорчук А.А., Воронин Е.С., Глушков А.А./ - М.: Колос, 2004. – 62 с.
3. Отчеты отдела ветеринарного надзора Западно-Казахстанской областной территориальной инспекции МСХ РК.

Сведения об авторах:

Туяшев Е.К. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник филиала «ЗапКазНИВС» ТОО «КазНИВИ»

Канатбаев С.Г.- доктор биологических наук, главный научный сотрудник филиала «ЗапКазНИВС» ТОО «КазНИВИ»

Нысанов Е.С. – научный сотрудник филиала «ЗапКазНИВС» ТОО «КазНИВИ»

Түйін

БАТЫС-ҚАЗАҚСТАН ОБЛЫСЫНДАҒЫ МАЛ БРУЦЕЛЛЕЗИНІҢ ЭПИЗООТИЯЛЫҚ ТАЛДАУ НӘТИЖЕСІ

Туяшев Е.К., Канатбаев С.Г., Нысанов Е.С.
«Батыс-Қазақстан ғылыми-зерттеу ветеринариялық стансасы»
«ҚазҒЗВИ» ЖШС филиалы

Мақалада Батыс Қазақстан облысындағы мiк және ұмқ бруцеллез ауруы бойынша эпизоотиялық мониторинг нәтижесi көрсетiлген. Батыс Қазақстан облысы бойынша ауылшаруашылық малдар бруцеллезiнiң ерекшiлiгi зерттелген. Индет тарататын негiзгi қауыпты факторлар келтiрiлген.

Кiлттiк сөздер: эпизоотология, мониторинг, зерттеу, алдын-алу

Summary

RESULTS OF EPIZOOTOLOGICAL ANALYSIS OF ANIMAL BRUCELLOSIS IN WESTERN KAZAKHSTAN

Tuyashev E.K., Kanatbayev S.G., Nysanov E.S.

Branch "West-Kazakhstan scientific-research Veterinary Station"

The article presents the epizootological monitoring Western Kazakhstan region brucellosis of bovine and sheep. According to reports, the epizootic situation brucellosis animals in Western Kazakhstan region escalates.

Keywords: epizootology, monitoring, research, prevention

ӘОЖ 619:616.992.28.:636

ЖЫЛҚЫ ТРИПАНОСОМОЗЫН ИФТ ӘДІСІМЕН БАЛАУ ТӘСІЛІ

Шалабаев Б.Ә., Бердіахметқызы С., Қадыров С.О.

Түйін Мақалада жылқы трипаносомозын ИФТ әдісімен балау тәсілі және иммунды ферментты талдау әдісін қолдану маңыздылығы қарастырылған.

Кілттік сөздер: Trypanosoma equiperdum штаммы, антиген, ИФТ

Өзектілігі Жылқы шаруашылығы ауыл шаруашылығының аса маңызды салаларының бірі. Нарықтық экономикаға өтуге байланысты еліміздің ауыл шаруашылық саласында недәуір өзгерістер болды. Ауыл шаруашылығы беретін өнімдермен еліміздегі халық сұранысын толық қанағаттандыру жылқы шаруашылығының санын көбейту және алатын өнімдердің сапасын халқаралық стандарт дәрежесіне көтеру мал дәрігері мамандарының елеулі міндеттерінің бірі. Алайда кейбір инфекциялық-инвазиялық аурулар еліміздің экономикасына айтарлықтай шығын келтіруде. Жылқы киенкі ауруын осылардың біріне жатқызуға болады.

Жылқының трипаносомозы (киенкі, шыжың, қарақаптал, орысша – случная болезнь, подседал, Dourine) немесе киенкі ауруының қоздырғыштары қан паразиттеріне жататын қарапайымдылар тобының түрі Trypanosoma equiperdum тудырады. Ауру сау малдарға шағылысқан кезде ауру малдардан жұғады. Алғашқыда малдардың жыныс мүшелерінің қабыну процессі мен байқалады, кейіннен ауруға тән клиникалық белгілері тері мен орталық жүйке жүйесінің зақымдалуымен, салдануымен сипатталады. Айғырларда ұрық беру қабілеті төмендеп бедеулікке әкеледі, биелерден өте әлсіз құлын туылады немесе 2-3 айлығында түсік тастайды, қынаптан ашық сары түсті қан аралас жалқаяқ ағады, аурудың соңғы сатысында малдың тәбеті төмендеп қатты арықтайды, бел аумағындағы

жүйке тамырлары салданып, артқы аяқтары ұстап тұра алмай жатып қалады, аурудың соңы малдың өлуі мен аяқталады.

Сол себепті бұл аурудың алдын алу мақсатында шаруашылықтағы барлық мал бастарын тексеріп, серологияда оң реакция көрсеткен малдарды бөліп алу қажет. Қазіргі заман талабына сай ауруды тез әрі нақты анықтай алатын серологиялық әдістердің бірі иммунды ферменттік талдау әдісі.

1972 жылы Е.Энгвал мен П.Перлман иммуноферменттік анализді шығарып, оны enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) деп атаған. Бұл әдіс антидене молекулалары мен фермент молекулалары әрекеттескенде өздерінің функционалдық белсенділігін сақтап, антидене антигенді қосып алады да, ал фермент субстратты ыдыратып жібереді. Классикалық нұсқасында (қатты фазалы ИФТ) антиген қатты фазалық негізінде бекемделеді. Антиген-антидене конъюгатымен байланысқаннан кейін реакцияға субстратты енгізді. Гетерогендік (қатты фазалық) ИФТ-ден басқа гомогендік ИФТ тіркелген. Бұлардың әрқайсысының тура және тура емес (жанама) нұсқалары анықталған. Олардың кез-келгені шектелген (тежелген) реакция ретінде жүргізілуі.

Иммундық ферментті талдау (сараптама) – антиденелер мен антигендерді сандық және сапалық анықтау иммунологиялық зертханалық әдісі. 70-шы жылдардың басында ИФТ әдісін ашқан ғалымдар: Швеция ғалымдары – Engvall және Perlmann Нидерланд ғалымдары - van Weemen және Schuur, АҚШ ғалымы – Rubenstein. Әдіс антиген мен оған сәйкес антидене арасындағы спецификалық әрекеттесу принципімен жасалады. Комплексті анықтау үшін ферментті белгімен (пероксидаза, сілтілі фосфатаза, глюкозооксидаза, ацетилхолинэстераза, каталаза және т.б.) байланысқан антиген -антидене болып табылатын арнайы конъюгат (жануар Ig қарсы қоян антиденелері немесе моноклондық антиденелер) қолданылады. Қазіргі кезде коммерциялық ИФТ қолданылып жүр. Онда тазартылған және антиген отырғызылған планшеттер пайдаланылады. Тексерілетін қан сарысуын планшетке енгізіп, рентгенпен өзара әрекеттесуге мүмкіндік береді. Одан ары қарай жылқыға тән фермент және белгілі антиглобулин және хромген қосады. Егер ерекше антидене белгіленген энзим-антиглобулин бар болса түсі өзгергені анықталады.

Жылқы трипаносомозын балаудағы ИФТ-дың диагностикалық тиімділігін басқа серологиялық реакциялармен (АР, КБР, РБС, КҰБР, ГАР, ИФР) салыстырғанда сезімталдылығы жоғары.

Иммунды ферментті тестілеуді жүргізу кезінде аса маңызды мәселелердің бірі прогностикалық құндылығына сезімталдығы туралы, бұл зерттеуге пайдаланылған тестінің ерекшелігіне байланысты болып табылады.

Компоненттері мен әдістері Иммунды ферментты талдау әдісі жинағының компоненттеріне келсек, үш аса қажетті ИФТ реагенттерін қамтиды: иммундық, конъюгирленген және субстрат. ИФА жиынтықтар

әдетте мыналарды қамтиды: Антидене қапталған 96-ұяшықты ақ тақта, стандарттар. Бастақы анықтау антиденелер (әдетте биотинилированы), орта анықтау реагенті (әдетте стрептавидинды-HRP), еріткіш буфері, жуу буфері, субстрат және тоқтату шешімдері, Plate қақпақтар.

Қатты фазалы иммунды ферментті талдаманың негізгі кезеңдері:

- үлгілер мен бақылауларды енгізу;
- инкубациядан кейіннен жуып-шаю;
- конъюгаты енгізу;
- инкубациядан кейіннен жуып шаю;
- хромогенді субстратты енгізу;
- инкубация;
- тоқтату ферментативті реакцияның тоқтауы; - санамалап есептеу.

Спецификалық антиденелерді анықтау әдісі (сэндвич әдісі)

■ Планшет ойықтарына қоздырғыштың антигенін орнатып, зерттелетін сары сумен бірге инкубациялаймыз. Спецификалық антиденелер болған жағдайда олар бір-бірімен байланысып, антиген-антидене комплексін түзеді.

■ Одан кейін бұл комплекс конъюгатпен инкубацияланған кезде анти-антиденелер антиген-антидене комплекстерімен байланысады.

■ Ферменттік реакция (түрлі-түсті реакция) сутегі тотығы мен пероксидазды реакция процесінде тотығып, боялатын субстраттың қатысумен жүреді.

■ Боялу қарқыны анықталатын спецификалық антиденелердің санына байланысты болады.

■ Нәтижесі спектрофотометр көмегімен немесе визуалды көру арқылы бағаланады.

Антиденелерді анықтауға арналған иммуноферментті сынама-жүйелерінің түрлері:

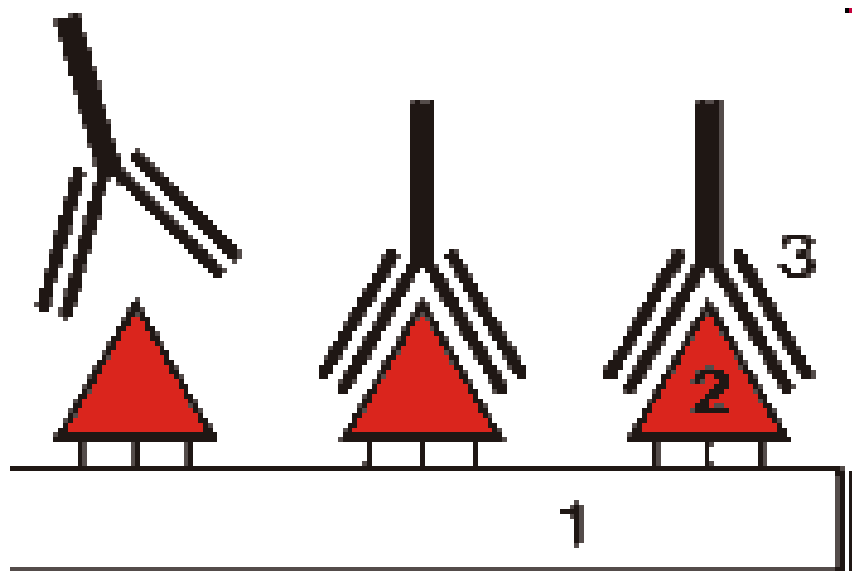
- Лизатты – ультрадыбыспен лизистенген немесе өңделген қоздырғыштар қолданылады.

- Рекомбинантты – қоздырғыштардың гендік-инженерлік тәсілмен алынған антигендік ақуыздары қолданылады.

- Пептидтік – ақуыздардың химиялық жолмен синтезделген фрагменттері қолданылады.

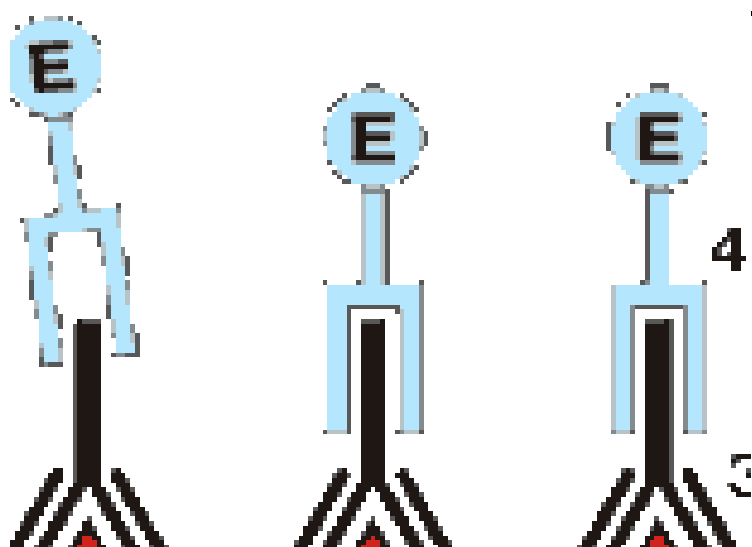
- **Қатты фазалы Иммундық ферментті талдау**

Қатты фаза ретінде полистирольды 96 ұяшықты планшет пайдаланылады



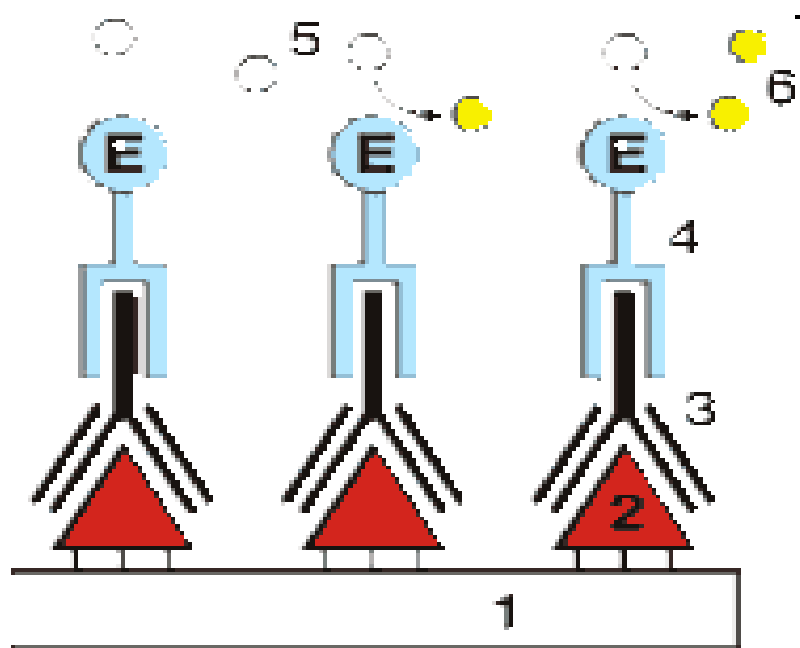
1 сурет - Плашеттегі антиген мен зерттелетін сарысудаға антиген – антидене байланысу көрінісі

Көрсетілген тізбекте антиген [2] планшет ұяшықтарына [1] орнатылған. Ұяшыққа зерттелетін сарысу енгізіледі. Сарысуда антигенге қарсы антидене [3] болса, инкубациялану кезінде антиген/антидене байланысы түзіледі.



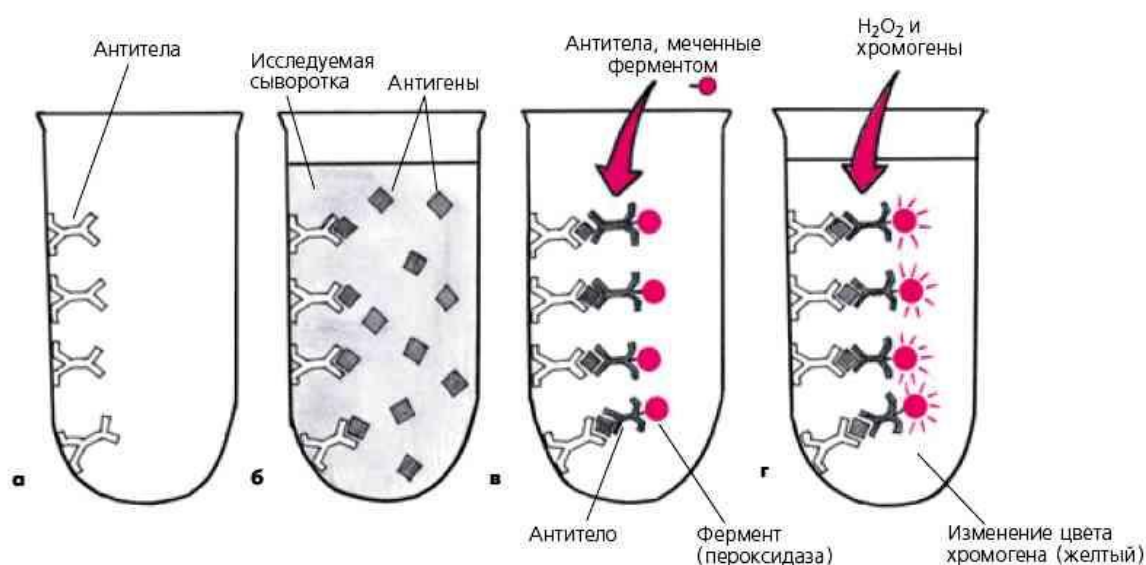
2 сурет - Конъюгатпен инкубацияланған кезіндегі анти-антиденелер антиген-антидене комплекстерімен байланысуы

Планшеттің ұяшықтарын байланыспаған субстанциялардан (яғни спецификалық емес антиденелерден) тазалап, оған екінші антидене [4] қосылады. Бұл антиденеге белсенді фермент (E) бекітілген. Мұндай комплекстік байланысу конъюгат деп аталады. Инкубациялану кезінде ұяшыққа сэндвич тәрізді құрылым түзіледі.



3 сурет - Ферменттік реакция

Планшеттің ұяшықтарындағы байланыспаған конъюгаттан тазалап, оған түссіз субстрат [9] қосылады, бұл субстратқа фермент (E) әсер етіп, оны бояйды.



4 сурет - ИФТ жүргізу тізбесі

а – пробирканың қабырғасында белгілі антигенге қарсы антиденелер;
 б – зерттелуші сарысу қосылады, егер онда антиген болса, олар антиденелермен байланысып, пробирканың қабырғасына бекітіледі;
 в – белгілі антигенге қарсы ферментпен белгіленген антиденелерді енгізу, олар қабырғадағы иммундық комплекспен байланысады;

г – сутегі асқын тотығы мен хромогенді қосқанда оттегінің әсерімен сары түске боялады.

Иммуноферментті талдамада – антиген-антидене қарсылығы кешенін анықтауға негізделген антиген мен антидене қарсылығын анықтау әдісі. Аг+Ад кешенін анықтау, реакциялар құрауыштарының біріне ферментті таңбаны енгізу есебінен, кейіннен таңбаны өз түсін өзгертетін тиісті субстратпен детекциялау арқылы жүреді. ИФТ кез келген жүргізудің негізі тестіленетін үлгілерді зерттеу кезінде терісімен және оң бақылауымен салыстыру арқылы ферментті реакция өнімін анықтау қызметін атқарады.

Антиген мен антидене қарсылығын анықтау үшін, негізінен, иммундыферментті талдаманың қатты фазасы қолданылады. Қатты фазаны қолдану, қатты фазадаға құрауыштардың бөлшектену үдерісін ықшамдауға және реакцияға қатыспайтын субстанцияларды жоюға мүмкіндік береді.

Әдебиеттер

1. Шортанбаев А.А., Қожанова С.В., Шайкенов Т.Е. Иммунология // (оқу құралы). Алматы, 1994.
2. Калиакбарова Г.Т., Қожанова С.В., Шортанбаев А.А., Балпанова Г.Т. Гуморалды иммунитет жүйесі // (оқу-әдістемелік нұсқау). Алматы., 2002.
3. Қожанова С.В., Шортанбаев А.А., Калиакбарова Г.Т., Бижигитова Б.Б., Клеткалық иммунитет жүйесі // (оқу-әдістемелік нұсқау). Алматы, 2002.
4. Покровский В.И. (ред). Иммунология инфекционного процесса // Руководство. -М. -1994.
5. Сапин М.Р., Этиген Л.Э. Иммунная система человека// -М. Медицина, 1996.
6. Р.В.Петров, А.А.Михайлов, Л.А.Фонина, В.Н.Степаненко. 10. Миелопептиды. «Наука», Москва, 2000.- 180 с.
7. Адамович М.М., Бандацкая М.И., Близнюк А.М. и другие. Иммунопрофилактика инфекционных болезней // - Минск, 2002.
8. Тотолян А.А., Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы // СПб, 2000.

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, магистрант

Резюме

СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ ТРИПАНОСОМОЗА ЛОШАДЕЙ МЕТОДОМ ИФА

Шалабаев Б.А. , Бердияхметкызы С., Кадыров С.О.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

В статье приведены способы диагностики трипаносомоза лошадей методом ИФА

Ключевые слова: штамм Trypanosoma equiperdum, антиген, ИФА

Summary

METHOD OF DIAGNOSIS BY ELISA IN HORSES TRYPANOSOMIASIS

Shalabaev B.A., Berdyakhmetkyzy S., Kadyrov S.O.

LLP «Kazakh Scientific research veterinary institute»

To the article the methods of diagnostics are driven by the method of ИФА at trypanosome horse.

Keyword: strain Trypanosoma equiperdum, antigen, ELISA test

УДК 619: 616.5-002.828:615.371/372

КОМИССИОННО-ЛАБОРАТОРНОЕ ИСПЫТАНИЕ ОПЫТНО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СЕРИИ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ТРИХОФИТИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Умитжанов М., Боранбаева Р.С.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приведены результаты комиссионно-лабораторного испытания опытно-экспериментальной серии инактивированной вакцины против трихофитии крупного рогатого скота, изготовленной из штамма *Trichophyton verrucosum* F-0271, на лабораторных животных (кроликах).

Ключевые слова: вакцина, инактивация, вакцинный штамм, иммуногенность, эффективность, кролики

Введение Значительное увеличение сельхозпродукции в сравнительно короткие сроки способна обеспечить одна из традиционных отраслей животноводства Казахстана – скотоводство. Мясо говядины не уступает по питательности баранине, а молоко обладает уникальными свойствами.

Полноценному развитию скотоводческой отрасли препятствует такое грибковое инфекционное заболевание, как трихофития. В настоящее время для изготовления вакцины против трихофитии крупного рогатого скота используется вакцинный штамм *Trichophyton verrucosum* F-0271.

Материалы и методы исследований На инактивированную вакцину против трихофитии крупного рогатого скота, а также на указанный вакцинный штамм получены инновационные патенты Республики Казахстан [1, 2].

Инактивированная вакцина против трихофитии крупного рогатого скота, включающая антиген штамма гриба *Trichophyton verrucosum* F-0271, который получен ресуспендированием солевого раствора натрия хлорида с добавлением геля гидроокиси алюминия, а также дополнительно содержал глицерин и формалин.

Накопление биологической массы и жизнеспособности макро- и микробиот вакцинного штамма определяли в камере Горяева по общепринятой методике.

Результаты исследований Для получения инактивированной вакцины против трихофитии крупного рогатого скота брали 18-ти суточную культуру штамма *Trichophyton verrucosum* F-0271, которую выращивали в матровых колбах Тартаковского на суслоагаре при pH 7,2-7,4 и температуре 28 °C в течение 18-21 суток. Выращенную грибницу культуры в условиях асептики снимали с поверхности питательной среды стеклянными грибными скребками и помещали в стерильные банки. В собранную биомассу вакцинного штамма (300 г) добавляли по 300,0 см³ стерильного физиологического раствора. Грибковую массу вакцинного штамма гомогенизировали в миксерах, затем с помощью стерильного физиологического раствора грибковый гомогенат штамма инактивировали 3%-ным формалином. Затем биомассу дополнительно подвергали разрушению ультразвуком на УЗДН-А частотой волн 22 кГц, интенсивностью 100 Вт/см² в течение 1 часа. После разрушения гомогенную массу гриба помещали в холодильник при температуре 4 °C на 1 сутки. 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 см³. Полученную гомогенную массу вакцинного штамма центрифугировали при 6000 об/мин в течение 20 мин. Гомогенная биологическая масса гомогената необходима для изготовления инактивированной вакцины. С помощью фотоэлектроко-

лориметра определяли концентрацию полученного белка в $1,0 \text{ см}^3$ полученной суспензии. К грибковой суспензии антигена физиологическом растворе добавляли гель гидрата окиси алюминия в концентрации 8-12% по сухому веществу. Посуточную 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 $200,0 \text{ см}^3$ по $10,0$ - $200,0 \text{ см}^3$, закрывали резиновыми пробками, завальцовывали алюминиевыми колпачками и этикетировали.

Таким образом, согласно приказу №30 от 29 мая 2015 года ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», были проведены комиссионно-лабораторные испытания опытно-экспериментальной серии инактивированной вакцины против трихофитии крупного рогатого скота на лабораторных животных.

Комиссионно-лабораторные испытания профилактической и лечебной эффективности опытно-экспериментальной серии инактивированной вакцины против трихофитии крупного рогатого скота проводили на 30-ти кроликах породы «Шиншилла» весом $2,5$ - 3 кг , разделенных на три группы (1-ая группа: для испытания профилактической дозы вакцины; 2-ая группа: для испытания терапевтической дозы вакцины; 3-я группа: контрольная) по 10 голов в каждой группе.

С профилактической целью кролики были иммунизированы внутримышечно в область бедра двукратно с интервалом 14 суток в дозе $1,0 \text{ см}^3$. Спустя 21 сутки после второй инъекции, опытные (1-ая группа), опытно-контрольные (2-ая группа) и контрольные (3-я группа: не вакцинированная) кролики были заражены накожно в область левой лопатки (гомологичной эпизоотической вирулентной культурой гриба *Trichophyton*). Перед заражением эпизоотическую вирулентную культуру *Trichophyton verrucosum* высевали в пробирки с суслоагаром и культивировали в течение 21 суток в термостате при температуре $28 \text{ }^\circ\text{C}$. В пробирки с выросшей культурой гриба *Trichophyton verrucosum* наливали по $5,0 \text{ см}^3$ стерильного физиологического раствора, после этого пробирки с культурой встряхивали для получения споровой суспензии. Из пяти пробирок с культурами отбирали по $3,0 \text{ см}^3$ споровой взвеси, одновременно смешивали в стерильной посуде, затем подсчитывали концентрацию спор в $1,0 \text{ см}^3$ суспензии с использованием камеры Горяева и микроскопа, а затем концентрацию споровой части для заражения довели до 2 млн/см^3 .

Заражение 1-ой, 2-ой и 3-ей групп кроликов проводили нанесением (втиранием) $0,5 \text{ см}^3$ споровой суспензии с концентрацией спор 2 млн/см^3 на поверхность скарифицированного участка кожи, подготовленного заранее, размером $5 \times 5 \text{ см}^2$ в области левой стороны лопатки.

Учет результатов проводили через 10 суток после заражения. Опытная (1-ая группа) группа кроликов, иммунизированная

профилактической дозой, была защищена от заражения гомологичной эпизоотической культурой гриба *Trichophyton*. Опытные (2-ая и 3-я группы) кролики заболели с появлением выраженных клинических признаков трихофитии на зараженных участках кожи. Опытных кроликов (2-ая группа), заболевших после заражения эпизоотической культурой *Trichophyton verrucosum*, подвергали лечению двойной профилактической дозой опытно - экспериментальной серии инактивированной вакцины против трихофитии КРС для определения лечебной эффективности вакцины. Больные кролики (3-я группа) с выраженными клиническими признаками трихофитии, оставались в общей контрольной группе.

В течение 15-30 суток за опытной и контрольной группами кроликов вели наблюдение. В контрольной группе (3-я группа) заболели все кролики с проявлением выраженных клинических признаков трихофитии. Иммунизированные профилактической дозой вакцины (1-ая группа) кролики были защищены от заражения гомологичной эпизоотической культурой трихофитии крупного рогатого скота, а лечебная эффективность вакцины (двойная профилактическая доза) была испытана на больных трихофитией опытных кроликах (2-ая группа). Установлено, что после применения терапевтической дозы (два раза с интервалом 14 суток) кролики выздоровели на 15-30 сутки после последнего введения указанной вакцины. На местах дерматофитозных очагов происходило заживление и самопроизвольное отпадение корок, чешуек и ростом новой шерсти.

Больные трихофитией кролики (3-я группа) с выраженными клиническими признаками трихофитии оставались до конца опыта в общей контрольной группе.

Результаты профилактической и терапевтической эффективности вакцины представлены в таблицах 1 и 2.

Из данных таблиц 1 и 2 видно, что опытно-экспериментальная серия инактивированной вакцины против трихофитии крупного рогатого скота обладает высокой профилактической и лечебной эффективностью, то есть профилактическая доза вакцины защищает от заражения гомологичной эпизоотической культурой трихофитии крупного рогатого скота, а двойная профилактическая доза указанной вакцины обладает лечебными свойствами.

В результате исследований установлено, что профилактическая и лечебная эффективность опытно-экспериментальной серии инактивированной вакцины против трихофитии крупного рогатого скота в проведенном опыте составили 100%.

Обсуждение результатов Для изготовления вакцины против трихофитии крупного рогатого скота используется вакцинный штамм *Trichophyton verrucosum* F-0271, который культивируется в течение 18-21 суток при температуре 28 °С. Для профилактической иммунизации инактивированная вакцина против трихофитии крупного рогатого скота применя-

ется двукратно с интервалом 10-14 суток, больным животным вводится двукратно с интервалом 10-14 суток в удвоенной профилактической дозе.

Приготовленная таким образом инактивированная вакцина позволяет надежно профилактировать заболеваемость поголовья крупного рогатого скота трихофитией.

Заключение Испытанная профилактическая доза инактивированной вакцины против трихофитии крупного рогатого скота защищает кроликов от заражения через 21 сутки после последней иммунизации, а лечебная доза указанной вакцины обладает терапевтическими свойствами и может быть рекомендована для применения в ветеринарной практике.

Литература

1. Инактивированная вакцина против трихофитии крупного рогатого скота. Инновационный патент РК №29588, Бюл.№4.-2014 г.

2. Штамм гриба *Trichophyton verrucosum* F-0271, используемый для изготовления инактивированной вакцины против трихофитии крупного рогатого скота. Инновационный патент РК №29619, Бюл.№2.-2014 г.

Сведения об авторах:

Умитжанов М. – доктор ветеринарных наук, ас.профессор, главный научный сотрудник отдела консалтинга и коммерциализации

Боранбаева Р.С. – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела по научно-методическому обеспечению эпизоотического и ветеринарно-санитарного благоплучия

Түйін

ІРІ ҚАРА МАЛЫНЫҢ ТРИХОФИТИЯСЫНА ҚАРСЫ ДАЙЫНДАЛҒАН
ТӘЖІРИБЕЛІК ИНАКТИВТЕНДІРІЛГЕН ВАКЦИНА СЕРИЯСЫН
КОМИСИЯЛЫҚ-ЗЕРТХАНАЛЫҚ СЫНАҚТАН ӨТКІЗУ

Умитжанов М., Боранбаева Р.С.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада *Trichophyton verrucosum* F-0271 ірі қара малының вакциналық штаммынан дайындалған тәжірибелік инактивтендірілген вакцина сериясын зертханалық жануарлар (қояндар) арқылы комиссиялық-зертханалық сынақтан өткізу кезінде алынған мәліметтер жарияланған.

Кілттік сөздер: вакцина, инактивтендіру, вакциналық штамм, иммуногендігі, тиімділігі, қояндар

Summary

FEE AND COMMISSION AND LABORATORY TESTING OF EXPERIMENTAL SERIES INACTIVATED VACCINE AGAINST TRICHOPHYTON CATTLE

Umitzhanov M. Boranbaeva R.S.

LLP "Kazakh Scientific Research Veterinary Institute"

The article shows the results of a commission and laboratory testing of experimental series of inactivated vaccine against Trichophyton cattle in laboratory animals (rabbits) with the use of the vaccine strain Trichophyton verrucosum F-0271.

Keywords: vaccine, inactivated, the vaccine strain, immunogenicity, efficacy, rabbits

Таблица 1 – Результаты профилактической эффективности инактивированной вакцины против трихофитии КРС

Наименование вакцин	Кол-во животных (гол.)	Дата вакцинации животных	Порядок применения профилактической дозы вакцины, см ³	Дата заражающей дозы гомологичной эпизоотической культуры, 2 млн/см ³	Результаты наблюдения, в днях		Профилактическая эффективность вакцины, (%)
					24 августа 2015 г	09 сентября 2015 г	
					14 августа 2015 г	Заболело	
Опытно-экспериментальная инактивированная вакцина против трихофитии КРС (1-ая группа)	10	10 июля 2015 г	1,0	0,5 см ³	-	10	100
		24 июля 2015 г	1,0				
Контроль (физ.р-р)	10	-	-	0,5 см ³	10	-	-

Таблица 2 – Результаты терапевтической эффективности инактивированной вакцины против трихофитии КРС

Наименование вакцин	Кол-во животных (гол.)	Дата вакцинации животных	Порядок применения терапевтической дозы вакцины, см ³	Дата заражающей дозы гомологичной эпизоотической культуры, 2 млн/см ³	Результаты наблюдения, в днях		Терапевтическая эффективность вакцины, (%)
					24 августа 2015 г	17 сентября 2015 г	
					14 августа 2015 г	Больные	
Опытно-экспериментальная инактивированная вакцина против трихофитии КРС (2-ая группа)	10	24 августа 2015 г	2,0	-	10	10	100
		06 сентября 2015 г	2,0				
Контроль (физ.р-р)	10	-	-	0,5 см ³	10	-	-

СОДЕРЖАНИЕ

Султанов А.А. Эпизоотическая опасность почвенных очагов сибирской язвы, выявленных на территории Казахстана	4
Абдыбекова А.М., Джусупбекова Н.М., Абдибаева А.А., Жақсылықова А.А., Керімбаева Р.А. Эхинококкоз індетінің Қазақстан Республикасы аймақтарында таралуы.....	10
Әбутәліп Ә., Базарбаев М.Б., Қанатбаев С.Г., Аманжол Р., Мәтіхан Н., Шытырбаева З. ҚР облыстары аумағындағы соңғы жылдардағы мал бруцеллезінің індеттанулық жағдайы	16
Барамова Ш.А., Аманжол Р., Түсіпқанұлы О., Шманова Б. Бруцелланың S- және R- пішіндеріне гипериммунды қан сарысуын алу жолдары	22
Барамова Ш.А., Даугалиева А.Т., Адамбаева А.А. Усербаев Б.С. Молекулярно-генетические методы диагностики бруцеллеза животных	29
Бахтаунов Ю.Х., Маманова С.Б., Бижанов А.Б., Кутумбетов Л.Б., Каратаев Б.Ш., Карабасова А.С., Маукиш А. Лейкоз крупного рогатого скота, основные направления его профилактики и оздоровления.....	43
Бекбаев Б., Беркінбай О. Жамбыл облысы қойларының эймериялары	54
Даутпаева З.Ж., Мырзахметова Б.Ш., Каймолдина С.Б. Кутумбетов Л.Б., Риски появления и распространения ящура на территории зон, благополучных от этой болезни с вакцинацией	57
Егорова Н.Н., Мусаева А.К., Даугалиева А.Т., Нурмуханбетова М.К. Изучение стабильности биологических свойств вакцинного штамма <i>Salmonella dublin</i> после хранения в холодильнике.....	63
Ешмухаметов А.Е., Бейсембаев К.К., Асауова Ж.С., Султанова А.О. Мониторинг и анализ эпизоотической ситуации по бруцеллезу мелкого рогатого скота в РК за 2007 по 2015 годы.....	72
Жумаш А.С., Шаймбетова А.К., Бакиева Ф.А., Наутиев Н.И., Еспанов Ж.У., Боранбаева Р.С., Сейтжанова У.У. Прижизненная дифференциация туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота	77
Жумаш А.С., Горелов Ю.М., Иванов Н.П., Шаймбетова А.К. Боранбаева Р.С., Алиев М. Влияние интоксана на показания аллергических реакций при туберкулезе крупного рогатого скота.....	91
Иванов Н.П., Арысбекова А.Т., Бакиева Ф.А. Изучение возможности исследования цельного молока верблюдиц с помощью цветного антигена, предназначенного для исследования молока коров.....	105
Иванов Н.П., Саттарова Р.С., Бакиева Ф.А., Егорова Н.Н. Определение чувствительности к антибиотикам патогенной микрофлоры, выделенной из пораженных глаз КРС	108

Кухар Е.В., Саттарова Р.С., Бакиева Ф.А., Смагулова А.М. Возбудители дерматомикозов, выделенные от крупного рогатого скота в хозяйствующих субъектах Алматинской области.....	118
Лозовой Д.А. Анализ эпизоотической ситуации по ящуру в мире и меры борьбы с ним в современных условиях	126
Лозовой Д.А., Михалишин Д.В. Преимущества использования эмульсионных противоящурных вакцин	132
Мусаева А.К., Егорова Н.Н., Даугалиева А.Т. Биологические свойства вакцинного штамма <i>Salmonella abortus – equi</i> E-841 B-0088 после хранения в холодильнике.....	136
Садуакасова М.А., Кутумбетов Л.Б. Значение лабораторной диагностики в борьбе с ящуром	147
Сарбаканова Ш.Т., Аубекерова Л.С., Касымова К.Т., Байбатырова Л.А. Определение сырьевого состава отечественных и импортных колбас методом РТ – ПЦР	152
Сарбаканова Ш.Т., Муналбаева А.А. Генетический полиморфизм карпа <i>surginus carpio carpio</i> (linnaeus, 1758) Капшагайского НВХ	157
Сосипаторова В.Ю., Алтунин Д.А., Волкова М.А., Чвала И.А. Оптимизация условий получения рибонуклеопротеина вируса гриппа птиц	161
Султанов А.А., Сарбаканова Ш.Т., Латыпова З.А., Маманова С.Б., Аубекерова Л.С., Касымова К.Т. Изучение аллельного полиморфизма гена <i>BOLA-DRB3</i> у коров черно-пестрой породы Северо-Казахстанской области	166
Суших В.Ю., Канатов Б., Егорова Н.Н., Касымбеков Е.Е., Абеуов Х.Б., Розямов А.Р. Хромота у крупного рогатого скота и способы ее ликвидации	173
Суших В.Ю., Канатов Б., Розямов А.Р. Опыт лечения патологий конечностей у крупного рогатого скота в хозяйствах Алматинской области.....	179
Тургенбаев К.А., Мусаева А.К., Егорова Н.Н. Пастереллез овец	184
Туяшев Е.К., Канатбаев С.Г., Нысанов Е.С. Влияние нефтегазо-конденсатного месторождения на биохимические показатели крови коров.....	193
Туяшев Е.К., Канатбаев С.Г., Нысанов Е.С. Результаты эпизоотологического анализа по бруцеллезу животных в Западно-Казахстанской области	197
Шалабаев Б.Ә., Бердіахметқызы С., Қадыров С.О. Жылқы трипаносомозын ИФТ әдісімен балау тәсілі	202
Умитжанов М., Боранбаева Р.С. Комиссионно-лабораторное испытание опытно-экспериментальной серии инактивированной вакцины против трихофитии крупного рогатого скота	208