

5 Лемиш А. П. Генотипирование штаммов серовариантов *Pasteurella multocida* методом полимеразной цепной реакции // Эпизоотология, иммунология, фармакология и санитария. – Минск. – 2011. - № 3. - стр.14-19.

6 Чемерис А.В. Улучшенный способ ПЦР-РВ, ЛЦР-РВ, ГЦР-РВ // Чемерис А.В., Никоноров Ю.М., Чемерис Д.А., Гарафутдинов Р.Р., Романенкова М.Л., Матниязов Р.Т., Гималов Ф.Р., Малеев Г.В., Вахитов В.А. //Вестник биотехнологии, 2005, том 1, № 2, С. 5-12.

7 Montserrat Bosch. *Pasteurella multocida* *exbB*, *exbD* and *tonB* genes are physically linked but independently transcribed.// Montserrat Bosch, Elena Garrido, Montserrat Llagostera, Ana M. Pérez de Rozas, Ignacio Badiola, Jordi Barbé.// FEMS Microbiology Letters Volume 210, Issue 2, pages 201–208, May 2002.

8 Hall W.J. Studies on Pastererellosis: I. A new species of *Pasterella* encountered in chronic fowl cholerae. // Hall W.J., Heddleston K.L., Legenhausen D.H.//Am. J. 1955.Vet. Res. 16:598-604.

Г.Д. Сүгірбаева, М.И. Богданова, В.М. Строчков, С.Ш. Нұрабаев, Ж.К. Қошембетов,
Н.Т.Сандыбаев, В.М. Матвеева, К.Т. Сұлтанқұлова, А.С. Нұрпейсова

PASTEURELLA MULTOCIDA БАЛАМАЛАУ ҮШІН ОТ- ПТР ҚОЮЫНЫҢ ЖАҒДАЙЫН ТИІМДІЛЕУ

Pasteurella multocida анықтау үшін ОТ-ПТР қоюының жағыдайы тиімделінді. ОТ- ПТР жоғарғы деңгейде тәнділік пен сезімталдылықты көрсетті.

Кілт сөздер: ОТ- ПТР, ДНҚ, праймер, нуклеотид, зонд, сынама, амплификатор.

Sugirbaeva G.D., Bogdanova M.I.,Strozkov B.M., Nurabayev S.Sh., Koshemetov Zh.K.,
Sandybayev N.T., Matveyeva V.M., Sultankulova K.T., Nurpeisova A.S.

OPTIMIZATION OF TERMS OF RAISING OF RT-PCR FOR DIAGNOSTICS OF PASTEURELLA MULTOCIDA

The terms of raising of RT-PCR are optimized for authentication of causative agent *Pasteurella multocida*. RT-PCR showed the high level of specificity and sensitiveness

Keywords: RT-PCR, DNA, primer, nucleotide, probe, test, amplifier.

УДК 579.62:636.2

**Ж.К.Тулемисова, Н.П. Иванов, Г.Д. Ильгекбаева, А.А. Новицкий, А.А.Султанов,
Т.Г. Попова, Б.К.Отарбаев, Ф.А.Бакиева, З.А. Кожаметова, С.Н.Саримбекова**

Казахский национальный аграрный университет

ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ТЕЛЯТ, БОЛЬНЫХ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Аннотация. Была изучена бактериальная флора выделенной из патологического материала телят при желудочно-кишечных заболеваниях. Выяснено, что этиологическими факторами желудочно-кишечных заболеваний телят в некоторых хозяйствах Алматинской области (крестьянские хозяйства “Алипов Т”, “Мухаметкали”) являются *Escherichia coli*, *Salmonella dublin*. В развитии патогенеза желудочно-кишечных заболеваний у телят

определенную роль играют такие ядовитые продукты бактериальной флоры, как аммиак, сероводород, которые несомненно оказывают влияние на резистентность организма. Исходя из этого нами изучались свойства выделенной микрофлоры, в частности, выделение сероводорода, аммиака. Кроме того, устанавливали гиалуронидазную активность.

Ключевые слова: escherichia coli, Salmonella dublin, некоторые биологические свойства, сероводорода, аммиака, гиалуронидазная активность, ЭМ-технология (технология получения и применения эффективных микроорганизмов).

Введение. Успешное развитие животноводства может быть достигнуто при строгом обеспечении ветеринарного благополучия, правильной технологии выращивания здорового молодняка, идущего для замены маточного поголовья и получения животноводческой продукции. Наибольший удельный вес при падеже животных наблюдается среди молодняка, который часто болеет желудочно-кишечными болезнями. В целях снижения гибели молодняка сельскохозяйственных животных используются различные средства и методы, включающие химиотерапевтические препараты, биологические добавки, иммуностимуляторы, антибактериальные препараты и т.д.

К настоящему времени в специальной литературе и практической ветеринарной деятельности накоплено достаточно много сведений, свидетельствующих о том, что используемые препараты зачастую не только не дают желаемого эффекта, но и небезопасны с экологической точки зрения. Особенно это относится к антибиотикам, из-за применения которых сформировались расы микроорганизмов с высокой резистентностью к их воздействию [1]. В связи с этим, учеными ведется активная работа по изысканию альтернативных методов защиты здоровья животных и повышения их продуктивности. В этом отношении особого внимания заслуживают пробиотики, которые участвуют в пищеварении и подавлении патогенной микрофлоры, нередко локализуемой в желудочно-кишечном тракте [1, 2].

Разработки японского ученого Теруо Хига, начиная с 1988 г. и далее, обосновавшего использование ЭМ-технологии в повышении продуктивности животных, нашли подтверждение в работах российских исследователей [3, 4, 5, 6, 7].

Большие исследования по изучению влияния пробиотических микроорганизмов на повышение устойчивости млекопитающих и птиц проведены отечественными учеными, под руководством профессора Ж.К.Тулемисовой [2, 8, 9, 10]. Однако, эти исследования не вышли за рамки производственных испытаний. Кроме того, отсутствуют препараты отечественного производства, содержащие набор эффективных микроорганизмов, выделенных из продуктов, получаемых в нашей стране.

Вышеизложенное свидетельствует об актуальности проведения научных исследований по дальнейшему изысканию и изучению препаратов пробиотического действия и использованию их в целях изучения их роли в повышении резистентности организма, увеличении продуктивности животных, а также профилактике и лечении больных желудочно-кишечными болезнями на территории нашей страны в современных рыночных условиях.

Целью наших исследований явилось изучение бактериальной флоры, выделенной из патологического материала телят при желудочно-кишечных заболеваниях.

Материал и методы. Для изучения данного вопроса проводили высевы на питательные среды (МПА, МПБ, с последующим пересевом на среду Эндо и висмут сульфитный агар) из содержимого толстого отдела кишечника и фекалий. У выделенной микрофлоры изучали выделение сероводорода, аммиака и гиалуронидазную активность.

Сероводород определяли с помощью фильтровальных полосок бумаги, пропитанных насыщенным раствором уксусно-кислого свинца. С этой целью готовили насыщенный раствор уксусно-кислого свинца, в котором пропитывали фильтровальную бумагу, которую затем разрезали на полоски длиной 8 см и шириной 1,5 см. Приготовленные полоски

монтировали в ватно-марлевую пробку пробирок с косяками агара, над его поверхностью так, чтобы они не касались поверхности агара. Учет реакции осуществляли через 24 и 48 часов выдерживания бактериальных высевок в термостате. По истечению указанного времени делали замеры величины потемнения полосок фильтровальной бумаги.

Аммиак определяли путем засева выделенных культур микроорганизмов на питательную среду, содержащую 1% желатины, 0,002% индикатора фенолового-красного, 1,15% фосфатного буфера с pH 6,8. После кипячения на слабом огне в питательную среду добавляли 2% мочевины. Среду остужали и использовали для дальнейшей работы. Оценку реакции осуществляли через 24 часов выдерживания в рефрижераторе при температуре 37-38°C по интенсивности покраснения питательной среды и условно выражали в крестах.

Гиалуронидазную активность устанавливали путем добавления 2 млрд бактериальной взвеси в 1% раствор гиалуроновой кислоты с последующим добавлением, после выдерживания посевов в термостате в течение 3-4 часов, 20%-ного раствора трихлоруксусной кислоты. По степени помутнения оценивали наличие гиалуронидазы, продуцируемой выделенными бактериальными культурами.

Результаты и обсуждение. Установлено, что микроорганизмы выделяют сероводород, который вызывал потемнение пропитанных уксусно-кислым свинцом полосок фильтровальной бумаги от 0,5 до 6 см. Из числа изучаемых культур микроорганизмов резко выраженное потемнение полосок фильтровальной бумаги вызывали 4 культуры, 2 из которых являлись *Escherichia coli*, 1 - *Salmonella dublin*.

Количественные показатели выделения сероводорода представлены на рисунке 1.

Как видно из рисунка 1, все выделенные нами культуры обладали выраженной сероводородной активностью.

Как известно, сероводород является ядом, ингибирующим железосодержащие ферменты, вызывает гипоксию и общее отравление организма. При этом отмечается общая слабость, расстройство пищеварения, тошнота и другие клинические признаки [14].

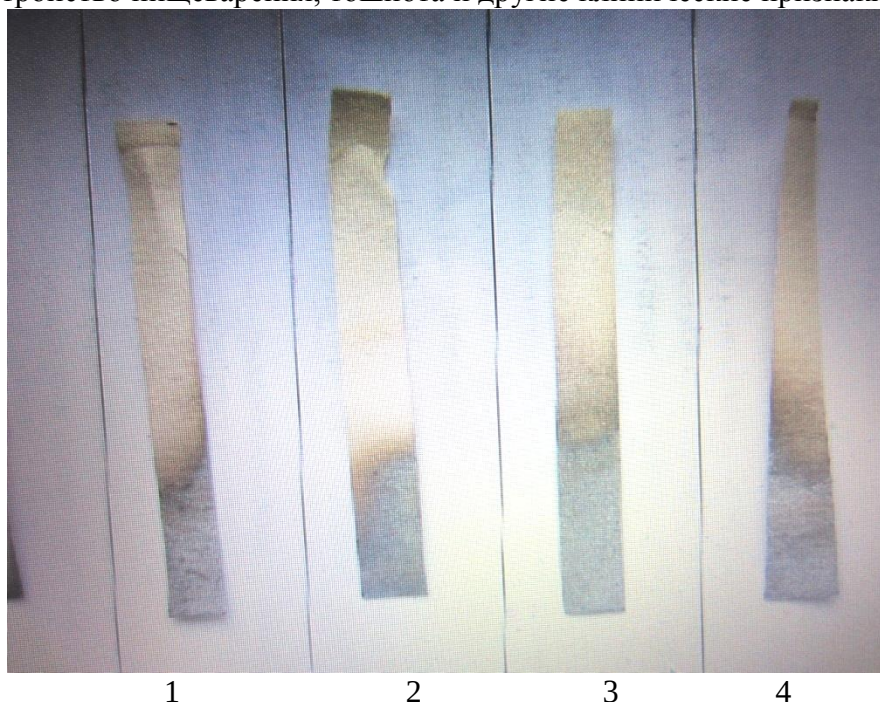


Рисунок 1 – Результаты измерений выделения сероводорода штаммами

Примечание - Пробы 1, 2 - *Escherichia coli*, проба 3, 4 - *Salmonella dublin*

Дифференциацию *Escherichia coli* от *Salmonella dublin* проводили на питательной среде Эндо и висмут сульфитном агаре путем посева на пестрый ряд с добавлением в среду роста различных углеводов [15]. Рост указанных микроорганизмов показан на рисунках 2, 3.



1

2

Рисунок 2 - *Escherichia coli* (1), *Salmonella dublin* (2)

Выделенные культуры по морфологическим признакам являлись палочками, которые окрашивались Грамм отрицательно и всеми анилиновыми красками (Рисунок 4).

Другим важным фактором в развитии патологического процесса является аммиак. При этом аммиак может образовываться при гидролитическом расщеплении мочевины и дезаминировании азотсодержащих веществ. Таким образом, главные факторы патогенности бактериальных культур можно считать аммиак и сероводород.



Рисунок 3 - Биохимические свойства *Salmonella dublin* (пестрый ряд)

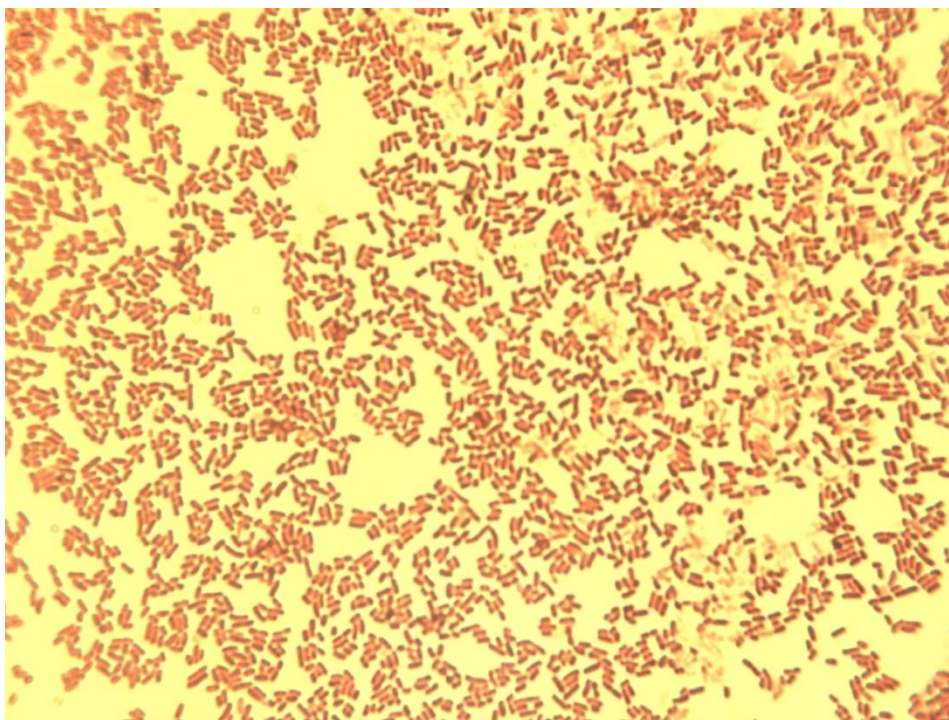


Рисунок 4 - Рост суточной культуры сальмонелл

Обнаружение аммиака, выделяемого бактериями кишечной группы, осуществляли путем калориметрического метода, основанного на изменении pH бактериальной среды в процессе гидролиза мочевины и, в соответствии с этим, изменений ее цвета.

Выделенные культуры (*Escherichia coli*, *Salmonella dublin*) расщепляли мочевины на аммиак и углекислый газ. При этом аммиак подщелачивал питательную среду и изменял ее цвет от лимонно-желтого до малиново-красного (Рисунок 5).

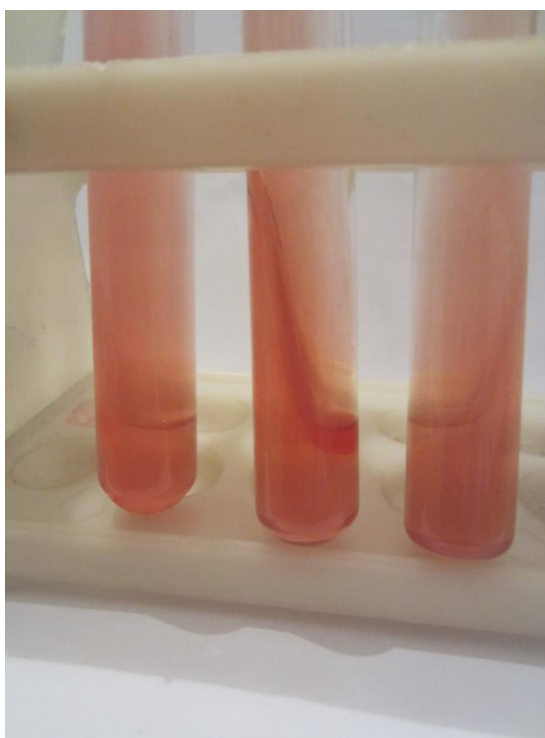


Рисунок 5 – Изменение цвета питательной среды при выделении аммиака микроорганизмами кишечной группы через 12 часов роста (слева) и 24 часа (справа)

Как видно из рисунка 5, культуры *Escherichia coli* и *Salmonella dublin* обладали уреазной активностью, что обуславливало выделение аммиака и, соответственно, отравление организма.

При развитии патологического процесса важное значение имеет гиалуронидазная активность бактериальных культур, выделенных от больных телят.

Определение гиалуронидазной активности *in vitro* показало, что внесение 2 млрд бактериальной взвеси в 1% раствор гиалуроновой кислоты с последующим добавлением в смесь, после выдерживания посевов в термостате в течение 3-4 часов, 20%-ного раствора трихлоруксусной кислоты, наличие фактора распространения во всех выделенных нами культурах. По степени помутнения оценивали наличие гиалуронидазы, продуцируемой выделенными бактериальными культурами (Рисунок 6).

Введение бактериальной взвеси в смеси с трипановой синью вызвало через 48 часов после инъекции увеличение синего пятна до размеров 2 см в радиусе (Рисунок 7).

Из рисунка видно, что гиалуронидазная активность обнаруживалась у патогенных форм *Salmonella dublin*.

Кроме того, нами изучалась патогенность выделенных культур. С этой целью 2 млрд взвесь внутрикожно вводили морским свинкам.

При изучении степени патогенности выделенных штаммов *Salmonella dublin* отмечено, что все культуры, выделенные от больных животных, при внутрикожном введении вызывали выраженную кожную воспалительную реакцию с явлениями некроза (Рисунок 8).

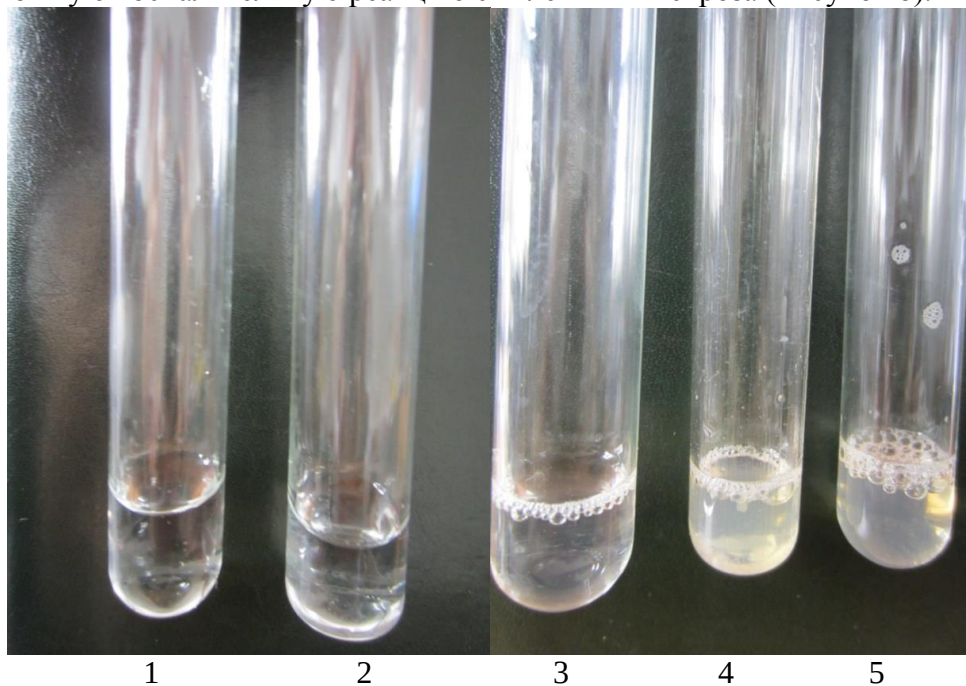


Рисунок 6 – Показания гиалуронидазной активности бактерий рода *Escherichia*, *Salmonella*

Примечание - В пробирках 1, 2, 3 гиалуроновая кислота (1% раствор) с бактериальной взвесью, соответственно, *Escherichia*, *Salmonella*. Пробирка 4 содержит раствор гиалуроновой кислоты, пробирка 5 имеет раствор гиалуроновой кислоты и гиалуронидазы.



Рисунок 7 – Гиалуронидазная активность сальмонелл при внутрикожном введении кролику



Рисунок 8 – Некротический участок кожи при внутрикожной инъекции бактериальной взвеси, культур *Salmonella dublin*

Таким образом, нами обнаружены некоторые патогенетические факторы *Escherichia coli*, *Salmonella dublin*, какими являются сероводород, аммиак и гиалуронидазная активность.

Выводы

1. Этиологическими факторами желудочно-кишечных заболеваний телят в некоторых хозяйствах Алматинской области являются *Escherichia coli*, *Salmonella dublin*.
2. В развитии патогенеза желудочно-кишечных заболеваний у телят определенную роль играют такие ядовитые продукты бактериальной флоры, как аммиак и сероводород,

снижающие резистентность организма. Обеспечение расселения бактерий из мест попадания обеспечивает наличие фермента гиалуронидазы.

3. Патогенность выделенных микробов можно определять по способу С.Н.Саримбековой, путем внутрикожной инъекции бактериальной взвеси.

Литература

1. Колычев Н.М., Гнитецкий В.А. ЭМ-технология — путь решения экологических и продовольственных проблем// Вестник кадровой политики, аграрного образования и инноваций - Москва, 2011.

2. Ерназарова С.Т., Касенова Г.Т. Влияние пробиотиков на физиологическое состояние птицы //Республиканская научно-практическая конференция. Вклад молодых ученых в развитие сельского хозяйства - Ташкент, 2010. - С.85-87.

3. Елисеев А. М. Результаты испытания препарата «Байкал ЭМ-1» на свиномкомплексе межхозяйственного объединения «Южное» /А. М. Елисеев //Журнал «Надежда планеты» – 2001. – №3. – С. 8.

4. Сидоров З. Н. Опыт применения ЭМ-технологии в свиноводстве /З.Н. Сидоров //Журнал «Надежда планеты» – 2001. – №1. – С. 12-17.

5. Левченко И. А. ЭМ-технология и выращивание свиней /И.А. Левченко //Журнал «Надежда планеты» – 2002. – №10. – С. 9-12.

6. Шабанов М. В. Практическое применение ЭМ-технологии /М. В. Шабанов //Сб. материалов – Новосибирск. – 2005. – С. 62.

7. Шаблин П.А. Применение ЭМ-технологии в сельском хозяйстве //Микробиологические препараты «Байкал ЭМ1», «Тамир», «ЭМ-Курунга» //Практическая биотехнология в сельском хозяйстве, экологии, здравоохранении. Сб. трудов. - Москва. – 2006. – С. 23-36.

8. Шабдарбаева Г.С., Касенова Г.Т. Рекомендации по применению биопрепаратов пробиотического действия для телят. //Рекомендации утверждены на научно-техническом совете по животноводству и ветеринарии НАЦАИ РК, изд-во КазНИИЭО АПК. - Алматы, 2002. - 10 с.

9. Касенова Г.Т., Шабдарбаева Г.С. Методические рекомендации по применению лечебно-профилактических биопрепаратов в птицеводстве. //Методические рекомендации утверждены Департаментом ветеринарного надзора МСХ РК. - Алматы, ТОО «Компания PS», 2003. - 20 с.

10 Ерназарова С.Т. Различные способы применения пробиотиков // Ветеринария. - Алматы, 2010. - № 3.- С.59-61.

Ж.К.Төлемісова, Н.П.Иванов, Г.Д.Ілгекбаева, А.А. Новицкий, А.А.Сқлтанов, Т.Г. Попова, Б.К.Отарбаев, Ф.А.Бакиева, З.А. Қожахметова,
С.Н.Сәрімбекова

АСҚАЗАН-ІШЕК АУРУЛАРЫМЕН АУЫРАТЫН БҰЗАУЛАРДАН БӨЛІНГЕН МИКРООРГАНИЗМДЕРДІҢ СИПАТТАМАСЫ

Асқазан-ішек аурулары кезінде бұзаулардан алынған патологиялық материалдағы бактериалды флора зерттелді. Алматы облысының кейбір шаруашылықтарында бұзаудың асқазан-ішек ауруларының этиологиялық факторы болып, *Escherichia coli*, *Salmonella dublin* табылды. Олардың басты патогенетикалық факторлары күкіртті сутегі, аммиак және гиалуронидазды белсенділік анықталды.

Kілт сөздер: escherichia coli, Salmonella dublin, кейбір биологиялық қасиеттер, атап айтқанда, күкіртті сутегінің, аммиактың бөлінуі, гиалуронидазды белсенділік, ЭМ-технология (тиімді микроорганизмдерді алу және қолдану технологиясы)

Zh.K.Tulemisova, N.P.Ivanov, G.D.Ilgekbayeva, A.A.Novitski, A.A.Sultanov, T.G.Popova,
B.K.Otarbayev, F.A.Bakieva, Z.A.Kozhachmetova, S.N.Sarimbekova

THE CHARACTERISTIC OF THE MICROORGANISMS ALLOCATED FROM CALFS, SICK WITH GASTROINTESTINAL DISEASES

The bacterial flora allocated of a pathological material of calfs at gastrointestinal diseases were studied. It was found out, that ethiological factors of gastrointestinal diseases of calfs in some farms of Almaty area are Escherichia coli, Salmonella dublin. Pathogenesis of gastrointestinal diseases in calfs generally cause such poisonous products of bacterial flora, as ammonia, hydrogen sulfide. The main pathogenetic factors of Escherichia coli, Salmonella dublin what are hydrogen sulfide, ammonia and hyaluronidase activity are found.

Keywords: escherichia coli, Salmonella dublin, some biological properties, in particular, allocation of hydrogen sulfide, ammonia and hyaluronidase activity, EM-technology (technology of receiving and application of effective microorganisms).

ӨОЖ 637.12.04/07:576.6.006.354.579.8

**Төлемісова Ж.К., Қасенова Г.Т., Қожахметова З.А.,
Мұзапбаров Б., Әлен А.**

Қазақ ұлттық аграрлық университеті

ӘРТҮРЛІ ЛАКТО- ЖӘНЕ БИФИДОБАКТЕРИЯЛАРДЫҢ ТҮЙЕ СҮТІН АШЫТУ ҮРДІСІН ЗЕРТТЕУ

Аннотация. Сүт қышқылды өнімдердің пробиотикалық қасиеттері ашытқының белсенділігіне байланысты, сондықтан биологиялық белсенді заттар мен ферменттерді түзетін арнайы бактериялар штаммдарын таңдап алу зерттеуіміздің басты мәселесі болып саналады.

Зерттеудің алғашқы сатысы болып, құрамы майы бар сүтті ортада байқалатын әртүрлі сүт қышқылды бактериялар штаммдарының морфологиялық, физиолого-биохимиялық және өндірістік құнды қасиеттерін зерттеу жатады.

Кілтті сөздер: пробиотикалық қасиеттері, дрожжылар, штамм, микрофлора, бифидобактериялар, лактобактериялар, залалсыздандыру.

Кіріспе. Дайындалатын сүт қышқылды өнімді өндіруде шикізат ретінде майлылығы әртүрлі түйе сүті қолданылды. Түйе сүтінің биологиялық және тағамдық құндылығының ерекшелігі басқа жануарлардың сүтіне қарағанда құрамындағы ағзаға қажетті физиологиялық заттардың жеңіл, әрі тез сіңірілуінде және одан бүгінгі күннің талабына сай өнім даярлауға болады. Пробиотикалық сүт өнімдерін даярлау үшін адамдардың қалыпты микрофлорасының өкілдері бифидобактериялар мен лактобациллаларға көп көңіл бөлінген.

Әртүрлі штаммдарды біріктіру арқылы көп штаммдық ашытқы даярлауда олардың түрлері мен штаммдардың сәйкестігі негізгі роль атқарады. Сондықтан мұндай ашытқы даярлауда мүмкіндігінше, олардың өз ара әсерлесуі мен басқа микробтарға қарсы антагонистік қасиеттері зерттелуі қажет.