

ISSN 2518-1483 (Online),
ISSN 2224-5227 (Print)

2020 • 5

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
ҰЛТТЫҚ ҒЫЛЫМ АКАДЕМИЯСЫНЫҢ

БАЯНДАМАЛАРЫ

ДОКЛАДЫ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

REPORTS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

PUBLISHED SINCE 1944



ALMATY, NAS RK

Бас редакторы
х.ғ.д., проф., ҚР ҰҒА академигі
М.Ж. Жұрынов

Редакция алқасы:

Адекенов С.М. проф., академик (Қазақстан) (бас ред. орынбасары)
Бенберин В.В., проф., академик (Қазақстан)
Березин В.Э., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Величкин В.И. проф., корр.-мүшесі (Ресей)
Вольдемар Вуйцик проф. (Польша)
Елешев Р.Е., проф., академик (Қазақстан)
Жамбакин Қ.Ж., проф., академик (Қазақстан)
Иванов Н.П., проф., академик (Қазақстан)
Илолов М.И. проф., академик (Тәжікстан)
Кригер Виктор проф. (Германия)
Кененбаев С.Б., проф., академик (Қазақстан)
Леска Богуслава проф. (Польша)
Локшин В.Н. проф., академик (Қазақстан)
Неклюдов И.М. проф., академик (Украина)
Нур Изура Удзир проф. (Малайзия)
Нургожин Т.С., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Перни Стефано проф. (Ұлыбритания)
Потапов В.А. проф. (Украина)
Прокопович Полина проф. (Ұлыбритания)
Рамазанов Т.С. проф., академик (Қазақстан)
Раманкулов Е.М., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Садықұлов Т., проф., академик (Қазақстан)
Семенов В.Г., проф., академик (Россия)
Сикорски Марек проф., (Польша)
Такибаев Н.Ж. проф., академик (Қазақстан), бас ред. орынбасары
Уразалиев Р.А., проф., академик (Қазақстан)
Харин С.Н. проф., академик (Қазақстан)
Харун Парлар проф. (Германия)
Чечин Л.М. проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Энджун Гао проф. (Қытай)

«Қазақстан Республикасы Ұлттық ғылым академиясының баяндамалары»

ISSN 2518-1483 (Online),

ISSN 2224-5227 (Print)

Меншіктенуші: «Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы» Республикалық қоғамдық бірлестігі (Алматы қ.).

Қазақстан Республикасының Ақпарат және қоғамдық даму министрлігінің Ақпарат комитетінде 29.07.2020 ж. берілген № KZ93VPY00025418 мерзімдік басылым тіркеуіне қойылу туралы куәлік.

Тақырыптық бағыты: *наноматериалдар алу, биотехнология және экология саласындағы бірегей зерттеу нәтижелерін жариялау.*

Мерзімділігі: жылына 6 рет.

Тиражы: 500 дана.

Редакцияның мекенжайы: 050010, Алматы қ., Шевченко көш., 28; 219, 220 бөл.; тел.: 272-13-19, 272-13-18,

<http://reports-science.kz/index.php/en/archive>

© Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы, 2020

Типографияның мекенжайы: «NurNaz GRACE», Алматы қ., Рысқұлов көш., 103.

Главный редактор
д.х.н., проф., академик НАН РК
М. Ж. Журинов

Редакционная коллегия:

Адекенов С.М. проф., академик (Казахстан) (зам. гл. ред.)
Бенберин В.В., проф., академик (Казахстан)
Березин В.Э., проф., чл.-корр. (Казахстан)
Величкин В.И. проф., чл.-корр. (Россия)
Вольдемар Вуйцик проф. (Польша)
Елешев Р.Е., проф., академик (Казахстан)
Жамбакин К.Ж., проф., академик (Казахстан)
Иванов Н.П., проф., академик (Казахстан)
Илолов М.И. проф., академик (Таджикистан)
Кригер Виктор проф. (Германия)
Кененбаев С.Б., проф., академик (Казахстан)
Леска Богуслава проф. (Польша)
Локшин В.Н. проф., академик (Казахстан)
Неклюдов И.М. проф., академик (Украина)
Нур Изура Удзир проф. (Малайзия)
Нургожин Т.С., проф., чл.-корр. (Казахстан)
Перни Стефано проф. (Великобритания)
Потапов В.А. проф. (Украина)
Прокопович Полина проф. (Великобритания)
Рамазанов Т.С. проф., академик (Казахстан)
Раманкулов Е.М., проф., чл.-корр. (Казахстан)
Садыкулов Т., проф., академик (Казахстан)
Семенов В.Г., проф., академик (Россия)
Сикорски Марек проф., (Польша)
Такибаев Н.Ж. проф., академик (Казахстан), зам. гл. ред.
Уразалиев Р.А., проф., академик (Казахстан)
Харин С.Н. проф., академик (Казахстан)
Харун Парлар проф. (Германия)
Чечин Л.М. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Энджун Гао проф. (Китай)

Доклады Национальной академии наук Республики Казахстан»

ISSN 2518-1483 (Online),

ISSN 2224-5227 (Print)

Собственник: Республиканское общественное объединение «Национальная академия наук Республики Казахстан» (г. Алматы).

Свидетельство о постановке на учет периодического печатного издания в Комитете информации Министерства информации и общественного развития Республики Казахстан № **KZ93VPY00025418**, выданное 29.07.2020 г.

Тематическая направленность: *публикация оригинальных результатов исследований в области получения наноматериалов, биотехнологии и экологии.*

Периодичность: 6 раз в год.

Тираж: 500 экземпляров

Адрес редакции: 050010, г. Алматы, ул. Шевченко, 28; ком. 219, 220; тел. 272-13-19, 272-13-18,

<http://reports-science.kz/index.php/en/archive>

© Национальная академия наук Республики Казахстан, 2020 г.

Адрес типографии: «NurNaz GRACE», г. Алматы, ул. Рыскулова, 103.

E d i t o r i n c h i e f

doctor of chemistry, professor, academician of NAS RK

M.Zh. Zhurinov

E d i t o r i a l b o a r d :

Adekenov S.M. prof., academician (Kazakhstan) (deputy editor in chief)**Benberin V.V.**, prof., academician (Kazakhstan)**Berezin V.Ye.**, prof., corr. member. (Kazakhstan)**Velichkin V.I.** prof., corr. member (Russia)**Voitsik Valdemar** prof. (Poland)**Eleshev R.E.**, prof., academician (Kazakhstan)**Zhambakin K.Zh.**, prof., academician (Kazakhstan)**Ivanov N.P.**, prof., academician (Kazakhstan)**Iolov M.I.** prof., academician (Tadjikistan)**Krieger Viktor** prof. (Germany)**Kenenbayev S.B.**, prof., academician (Kazakhstan)**Leska Boguslava** prof. (Poland)**Lokshin V.N.** prof., academician (Kazakhstan)**Nekludov I.M.** prof., academician (Ukraine)**Nur Izura Udzir** prof. (Malaysia)**Nurgozhin T.S.**, prof., corr. member. (Kazakhstan)**Perni Stephano** prof. (Great Britain)**Potapov V.A.** prof. (Ukraine)**Prokopovich Polina** prof. (Great Britain)**Ramankulov E.M.**, prof., corr. member. (Kazakhstan)**Sadykulov T.**, prof., academician (Kazakhstan)**Semenov V.G.**, prof., academician (Russia)**Sikorski Marek** prof., (Poland)**Ramazanov T.S.** prof., academician (Kazakhstan)**Takibayev N.Zh.** prof., academician (Kazakhstan), deputy editor in chief**Urazaliev R.A.**, prof., academician (Kazakhstan)**Kharin S.N.** prof., academician (Kazakhstan)**Kharun Parlar** prof. (Germany)**Chechin L.M.** prof., corr. member (Kazakhstan)**Endzhun Gao** prof. (China)**Reports of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan.****ISSN 2224-5227****ISSN 2518-1483 (Online),****ISSN 2224-5227 (Print)**

Owner: RPA "National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan" (Almaty).

The certificate of registration of a periodical printed publication in the Committee of information of the Ministry of Information and Social Development of the Republic of Kazakhstan **No. KZ93VPY00025418**, issued 29.07.2020.Thematic scope: *publication of original research results in the field of obtaining nanomaterials, biotechnology and ecology.*

Periodicity: 6 times a year.

Circulation: 500 copies.

Editorial address: 28, Shevchenko str., of. 219, 220, Almaty, 050010, tel. 272-13-19, 272-13-18,

<http://reports-science.kz/index.php/en/archive>

© National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, 2020

Address of printing house: «NurNaz GRACE», 103, Ryskulov str, Almaty.

УДК 619:616.98:579.844

Н.П. Иванов¹, Н.Н. Егорова²,
С.Н. Саримбекова², В.Ю. Сущих², А.К. Илимбаева²

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Алматы, Казахстан.

E-mail: akademik-vet@mail.ru; natalya-egorova60@mail.ru;
sarimbekova@yandex.kz; vladasali@mail.ru; almira577@mail.ru

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА FUSOBACTERIUM NECROPHORUM, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОРАЖЕННЫХ ТКАНЕЙ КРС В АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ

Аннотация. Некробактериозом поражаются многие виды животных. Наиболее восприимчивы и чувствительны к *Fusobacterium necrophorum* северные олени, крупный и мелкий рогатый скот, свиньи, кролики. Установлено постоянное носительство возбудителя некробактериоза в рубце и кишечнике жвачных животных, обнаруживают его в частицах корма при жвачке, а также в фекалиях. Возбудитель некробактериоза широко распространен в окружающей среде (животноводческие помещения, выгульные дворы, навоз, почва, пастбища, непроточные водоемы и т.д.). Заражение животных происходит при попадании возбудителя на травмированные участки кожи или слизистые оболочки животных. В результате длительного содержания животных во влажных помещениях, при пастьбе их на сырых, заболоченных участках, а также при мацерации тканей конечностей нарушается кровообращение, возникают трещины, отслоение рога.

От больных животных с симптомами хромоты выделены четыре культуры возбудителя некробактериоза крупного рогатого скота *Fusobacterium necrophorum*, изучены их биологические свойства. Изучена патогенность выделенных культур на лабораторных животных. Работа выполнялась в лабораторных и производственных условиях ТОО «КазНИВИ» и на МТФ населенного пункта с. «Аркабай» Талгарского района Алматинской области, где практикуется стойловое содержание животных. Срезы с больного копыта коров брали на границе больной и здоровой ткани. Пробы отобранного биологического материала высевали на среду Китт-Тароцци на месте отбора на ферме. Отобранный от больных животных биологический материал исследовали в течение нескольких часов после взятия в соответствии с методическими указаниями по лабораторной диагностике некробактериоза. Материал для лабораторного исследования (срезы с роговой ткани копыта на границе со здоровой) отбирали в свежем виде и делали высевы на питательную среду для анаэробов.

Для освобождения от многочисленной сопутствующей микрофлоры и получения чистой культуры *F. necrophorum* поставлена биопроба на лабораторных животных – кроликах. На 14-15 сутки после заражения опытные кролики погибали. Из внутренних органов кроликов высевалась чистая культура *F. necrophorum*, не контаминированная посторонней микрофлорой.

Установлено, что кролики являются оптимальной биомоделью для очищения культуры *F. necrophorum*. Приведены результаты культивирования возбудителя некробактериоза на плотных и жидких питательных средах. Изучены биохимические свойства выделенных культур. Установлено, что эпизоотические культуры возбудителя некробактериоза выделяли сероводород и обладали гемолитическими свойствами. В опытах *in vitro* и *in vivo* установлено, что у выделенных культур *F. necrophorum* отмечена гиалуронидазная активность. Культуры *F. necrophorum* обладали высокой каталазой активностью, расщепляли перекись водорода с образованием кислорода (пузырьков газа). При изучении биохимических свойств установлено, что *F. necrophorum* выделяет аммиак в течение 2-3 часов. Четыре культуры *F. necrophorum*, выделенные из биологического материала от крупного рогатого скота, были идентичны по биологическим свойствам. Все выделенные культуры обладали высокой патогенностью для кроликов.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, белые мыши, кролики, животные, биопроба, некробактериоз, культура микроорганизмов.

Введение. Некробактериоз (Necrobacteriosis) – инфекционная болезнь, характеризующаяся гнойно-некротическими поражениями тканей преимущественно нижних частей конечностей, особенно в области венчика, а в отдельных случаях в ротовой полости, на вымени, в половых органах, печени, легких и других тканях и органах.

Возбудитель болезни *Fusobacterium necrophorum* - грамотрицательная полиморфная палочка, не обладают подвижностью, растет в строго анаэробных условиях, не образует спор и капсул. В специальной литературе отсутствуют полные данные о патогенетических факторах, вызывающих некротический процесс в окологрызательных тканях. Исследования по выявлению механизма действия возбудителя болезни на разложение тканей в месте его обитания позволяют более успешно осуществлять борьбу с этим заболеванием.

Эпизоотологические данные. Некробактериозом поражаются многие виды животных. Однако наиболее восприимчивы и чувствительны к *Fusobacterium necrophorum* северные олени, крупный и мелкий рогатый скот, свиньи, кролики и др. [1,2]. Установлено постоянное носительство возбудителя некробактериоза в рубце и кишечнике жвачных животных, обнаруживают его в частицах корма при жвачке, а также в фекалиях. Возбудитель некробактериоза широко распространен в окружающей среде (животноводческие помещения, выгульные дворы, навоз, почва, пастбища, непроточные водоемы и т.д.) [3,4].

Заражение животных происходит при попадании возбудителя на травмированные участки кожи или слизистых оболочек животных. В результате длительного содержания животных во влажных помещениях, при пастбые их на сырых, заболоченных участках, а также при мацерации тканей конечностей нарушается кровообращение, возникают трещины, отслоение рога, т.е. создаются благоприятные условия для проникновения и размножения возбудителя некробактериоза [5]. В части ткани, а затем патологическому действию подвергается венчик и дистальная часть копыта. Течение болезни нередко осложняется развитием секундарной инфекции [6].

Диагноз на некробактериоз устанавливают, в основном, на основании клинических признаков болезни. При этом характерным является наличие гнойно-некротических поражений копыта со специфическим гнилостным запахом. Для подтверждения диагноза на некробактериоз проводят бактериологические исследования с постановкой биопробы [7].

Лечение больных животных осуществляли на специально оборудованных площадках с сухими полами, защищенными от дождя и ветра. Места поражений копыта тщательно очищают, омывают антисептическими растворами и наносят сульфаниламидные препараты или антибиотики тетрациклинового или пенициллинового ряда. Однако отсутствие данных о патогенетических факторах возбудителя сдерживает эффективность оздоровительных мер [8].

Цель исследований - изучение биологических свойств *Fusobacterium necrophorum*, определение факторов патогенности для разработки эффективных способов борьбы с некробактериозом животных.

Материалы и методы. Работа выполнялась в лабораторных и производственных условиях ТОО «КазНИВИ» и на МТФ населенного пункта с. «Аркабай» Талгарского района Алматинской области, где практикуется стойловое содержание животных. Бактериологические исследования проводят общепринятым методом. Отобранный биологический материал исследовали в течение нескольких часов после взятия в соответствии с методическими указаниями по лабораторной диагностике некробактериоза [9]. Материал для лабораторного исследования (срезы с роговой ткани копыта на границе со здоровой) отбирали в свежем виде и делали высевы на питательную среду для анаэробов.

Результаты исследований и обсуждение. Массовость заболевания некробактериозом обусловлена неблагоприятными условиями содержания, ухода и кормления животных, которые способствуют мацерации кожи, венозным застоям в тканях, снижению их резистентности, в результате чего образуются микротравмы и в них внедряется различная аэробная и анаэробная микрофлора.

Все стадии некробактериоза у животных разных групп идентичны и наблюдаются в каждой неблагополучной по некробактериозу эпизоотологической единице. Пробы отбирали с роговой ткани копыта на границе больной и здоровой ткани (рисунки 1,2).



Рисунок 1 – Копыто коровы, пораженное некробактериозом



Рисунок 2– Отбор проб патологического материала у коровы

На рисунке 1 показано копыто коровы, больной некробактериозом. Видны поражения рогового слоя копыта и прилегающей к нему ткани. На рисунке 2 представлен отбор проб из копыта, пораженного некробактериозом. Виден воспалительный процесс копыта и прилегающей к нему ткани. Отобранные от животных с симптомами хромоты пробы высевали, как указано выше, на специальные питательные среды для последующего изучения биологических свойств (культурально-морфологических, биохимических, вирулентных и т.д.), идентификации и типовой принадлежности выделенных культур. Всего от животных с симптомами хромоты выделено 4 эпизоотических культуры *F. necrophorum*.

Из выращенных культур готовили мазки и окрашивали по Граму. *F. necrophorum* в мазке показана на рисунке 3.

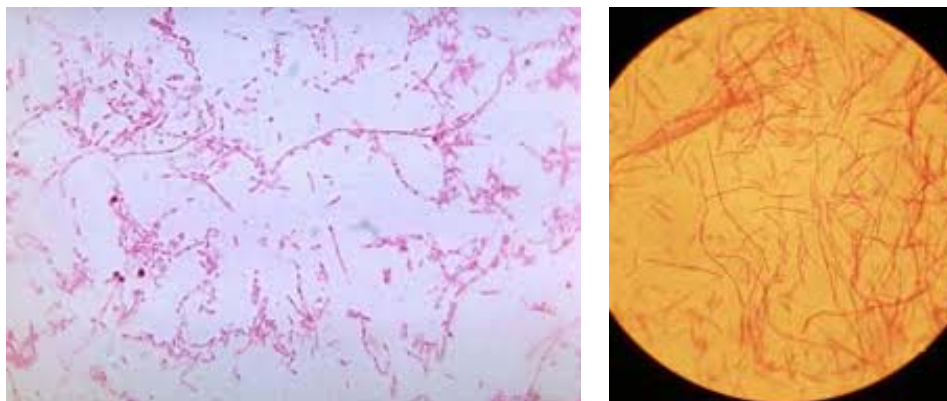


Рисунок 3 – *F. necrophorum* в мазке, окрашенном по Граму

На рисунке 3 показаны тонкие длинные грамотрицательные нитеобразные палочки, типичные для возбудителя некробактериоза.

Для получения чистой культуры *F. necrophorum* ставили биопробу на кроликах весом 3-3,5 кг. С этой целью опытным кроликам подкожно в область корня уха вводили суспензию, приготовленную из биологического материала, взятого от больных коров. Биопробу проводили одновременно с посевом материала на питательные среды. Наблюдение за опытными животными осуществляли в течение 10 суток. На месте введения заражающего материала через 3-4 дня или позднее развивался воспалительный процесс с некрозом кожи. Через 4-5 суток у зараженных кроликов наблюдали развитие воспалительного, а через 10-12 суток некротического процессов, рисунок 4.

На рисунке 4 виден воспалительный процесс и некротический очажок у основания уха кролика, зараженного *F. necrophorum*.

На 14-15 сутки опытные кролики погибали. Из внутренних органов кроликов делали посевы на среду Китт-Тароцци, где отмечался рост чистой культуры *F. necrophorum*.

На агаре Цейсслера в анаэробных условиях через 48 часов культивирования наблюдался обильный рост круглых матовых выпуклых колоний с неровными краями размером от 1 до 3 мм, рисунок 5.



Рисунок 4 – Некроз ткани у основания уха кролика



Рисунок 5 – Рост колоний *F. necrophorum* на плотной питательной среде

На рисунке 5 показаны мелкие круглые матовые колонии *F. necrophorum*.

В мазках, приготовленных из суточной бульонной культуры *F. necrophorum*, просматривались тонкие длинные грамотрицательные нити и палочки, рисунок 6.

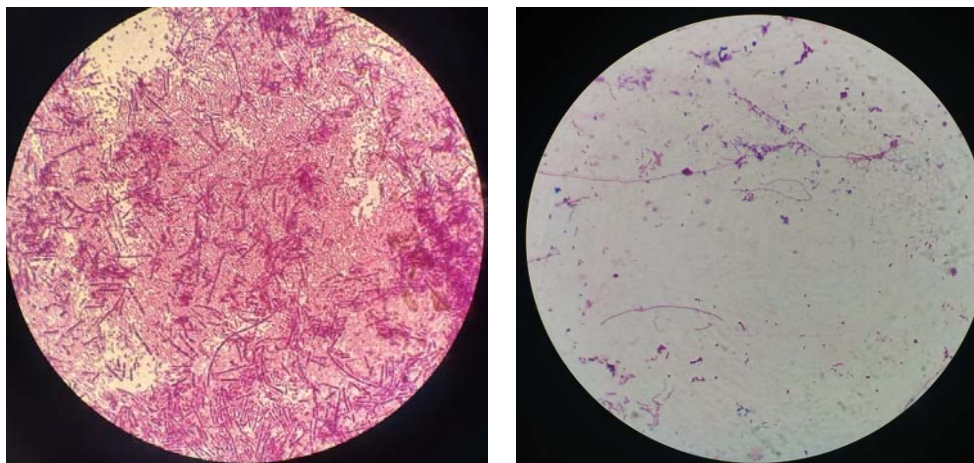


Рисунок 6 – *F. necrophorum*, очищенная от сопутствующей микрофлоры в мазке, окрашенном по Граму

На рисунке 6 представлены грамотрицательные тонкие палочки и нити, не контаминированные посторонней микрофлорой.

Определяли способность *F. necrophorum* гидролизовать гиппурат, эскулин, образовывать индол, сероводород, разлагать углеводы с образованием кислоты. Для *F. necrophorum* характерно: отсутствие способности к гидролизу гиппурата, эскулина, образованию кислоты из галактозы, маннозы, целлобиозы, мелибиозы, сахарозы, трегалозы, раффинозы, салицина; возбудитель непостоянно расщепляет глюкозу, дает кислотообразование на среде с фруктозой, сахарозой, мальтозой. Отдельные штаммы *F. necrophorum* могут ферментировать маннит, дульцит, глицерин; расщепляют желатин, не редуцируют нитраты в нитриты, образуют индол и сероводород. Биохимические свойства возбудителя некробактериоза представлены в таблице 1.

Таблица 1- Биохимические характеристики *F. Necrophorum*

Культура	Наименование углеводов										
	Ман-нит	Глюкоза	Лактоза	Арабиноза	Мальтоза	Сахароза	Рафиноза	Рамноза	Дульцит	Образование газа	Гемолиз
№1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
№2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
№3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
№4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Условные обозначения: + - наличие ферментативной активности.

Из таблицы 1 видно, что все 4 культуры *F. necrophorum* обладали высокой ферментативной активностью: разлагали с образованием кислоты и газа глюкозу, лактозу, арабинозу, мальтозу, сахарозу, рафинозу, рамнозу, дульцит. Протеолитические свойства выделенных культур *F. necrophorum* показаны в таблице 2.

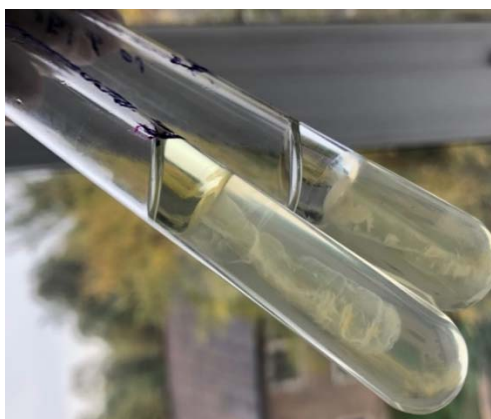
Таблица 2 – Протеолитические свойства *F. Necrophorum*

Культура	Протеолитические свойства			
	Образование сероводорода	Образование индола	Разжижение желатина	Свертывание молока
№1	+	+	+	-
№2	+	+	+	-
№3	+	+	+	-
№4	+	+	+	-

Условные обозначения:
+ - наличие ферментативной активности; - - отсутствие ферментативной активности.

Из таблицы 2 следует, что все культуры *F. necrophorum* образовывали сероводород и индол, разжижали желатин и не сбраживали молоко. Все 4 эпизоотические культуры возбудителя некробактериоза, выделенные нами от крупного рогатого скота МТФ с. Аркабай Талгарского района Алматинской области, были идентичны по биохимическим свойствам, протеолитической активности и патогенности.

На рисунках 7 и 8 показана протеолитическая активность и гемолитические свойства возбудителя некробактериоза.

Рисунок 7 – Протеолитическая активность *F. necrophorum*Рисунок 8 – Гемолитические свойства *F. necrophorum*

На рисунке 7 представлено разжижение желатина, *F. necrophorum* интенсивно разжижает желатин. На рисунке 8 показано просветление среды Кит-Тароцци с добавлением крови барана, что свидетельствует о гемолитической активности культуры *F. necrophorum*.

Возбудитель некробактериоза обладал высокой каталазной активностью. Колонию 2-х суточной культуры *F. necrophorum*, выращенную на агаре Цейслера в анаэробных условиях, брали

бактериологической петлей и тщательно растирали в капле свежеприготовленного 3% раствора перекиси водорода на предметном стекле. Через 0,5-1,0 минуту на стекле наблюдалось интенсивное образование пузырьков газа, происходило расщепление H_2O_2 с выделением атомарного кислорода. Определение сероводорода осуществляли с помощью полосок фильтровальной бумаги, пропитанной насыщенным раствором уксусно-кислого свинца. Учет реакции осуществляли через 24 часа выдерживания культуры в термостате. По истечении указанного времени проводили замеры величины потемнения полосок фильтровальной бумаги и делали оценку степени выделения сероводорода изучаемой культурой. Каталазная активность *F. necrophorum* и образование сероводорода показаны на рисунках 9 и 10.

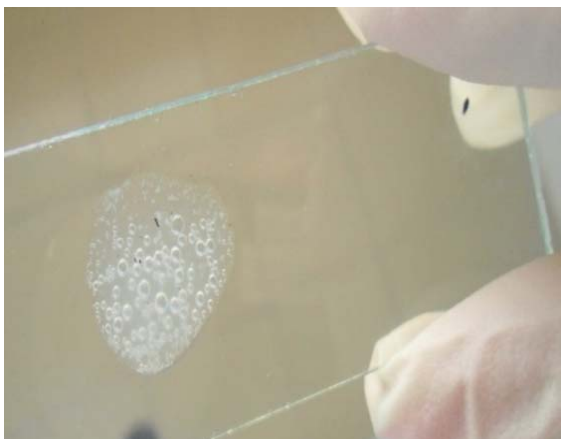


Рисунок 9 – Каталазная активность *F. necrophorum*



Рисунок 10 – Продукция сероводорода *F. necrophorum*

На рисунке 9 видны пузырьки газа при расщеплении *F. necrophorum* перекиси водорода, что свидетельствует о высокой каталазной активности. На рисунке 10 представлена почерневшая фильтровальная бумажка, пропитанная уксусно-кислым свинцом, что свидетельствует об интенсивном образовании *F. necrophorum* H_2S .

Следующим этапом в изучении биохимических свойств *F. necrophorum* являлось определение уреазной активности. С этой целью производили посевы *F. necrophorum* на питательную среду Китт-Тароцци с добавлением в 0,002% фенолрота и 2% мочевины (карбамида) с последующим выдерживанием посевов в термостате при 37-38 °С в течение 24 часов. Продукцию аммиака устанавливали визуально по изменению цвета питательной среды от светло-лимонного до красно-малинового. Оценка уреазной активности *F. necrophorum* проводили по четырёх балльной системе:

+++ - полное изменение цвета среды в течение 2 часов роста;

++- красно-малиновый цвет среда приобретала по истечению 4 часов роста;

+ - изменение цвета среды от желто-лимонного до красно-малинового наступало по истечению 8 часов роста бактериальной культуры;

- отсутствие изменений цвета среды в течение 24 часов выдерживания культуры в термостате.

При изучении аммиакообразования *F. necrophorum* отмечалось интенсивное выделение аммиака в течение 2-3 часов, о чем свидетельствовало покраснение среды Китт-Тароцци, рисунок 11.

На рисунке 11 показано покраснение среды Китт-Тароцци вследствие интенсивного выделения аммиака через 2-3 часа после посева *F. necrophorum*. Видно полное изменение цвета среды, окрасившейся в малиновый цвет. Таким образом, нами впервые выявлена способность *F. necrophorum* выделять аммиак, на что выдан охранный документ [10].

Гиалуронидазную активность *F. necrophorum* определяли в опытах *in vitro* и *in vivo*. В 4 пробирки помещали 1%-ный раствор гиалуроновой кислоты (официальный препарат) и добавляли взвесь изучаемой культуры. Для создания анаэробных условий сверху наслаивали вазелиновое масло (высота столбика 1 см) и выдерживали культуру в термостате 12 часов. Проводили оценку степени просветления раствора гиалуроновой кислоты с последующим выдерживанием реактивной смеси в термостате в течение 3-4 часов и затем с добавлением 20%-ного раствора ТХУ, наличие

гиалуронидазной активности у всех выделенных четырех культур. Дополнительно гиалуронидазную активность *F. necrophorum* определяли *in vivo*. С этой целью готовили 8-10 миллиардную бактериальную взвесь культуры и смешивали ее в соотношении 1:1 с 1%-ным раствором трипановой сини, затем вводили кролику - альбиносу весом 3-3,5 кг внутривенно в область спины в дозе 1 см³. Учет у результатов проводили через 12 и 24 часа. Гиалуронидазная активность *F. necrophorum* *in vitro* и *in vivo* видна на рисунках 12 и 13.



Рисунок 11 – Продукция аммиака *F. necrophorum*



Рисунок 12 – Определение гиалуронидазной активности *in vitro*



Рисунок 13 – Определение гиалуронидазной активности *in vivo*

На рисунке 12 видно просветление среды, что свидетельствует о продукции возбудителем некробактериоза гиалуронидазы. На рисунке 13 видно увеличение синего пятна у кролика до размеров 2 см в радиусе через 48 часов после инъекции. Установлено, что *F. necrophorum* обладает широким спектром ферментативной активности. Ферменты возбудителя, в том числе и гиалуронидаза, значительно усиливают и отягощают течение патологического процесса у животных, ускоряют микробное распространение в тканях.

Все четыре эпизоотические культуры *F. necrophorum* обладали высокой патогенностью для кроликов и белых мышей. Опытные животные, как правило, по истечению определенного времени погибали. Патологоанатомические изменения у павших животных были специфичны для

некробактериоза и характеризовались массовыми некротическими очажками и кровоизлияниями во внутренних органах. Отмечались патологические и дистрофические изменения во внутренних животных. От павших животных выделены заражающие культуры *F. necrophorum*, не контаминированные посторонней микрофлорой.

Заключение. В Талгарском районе Алматинской области имеют место случаи некробактериоза у крупного рогатого скота. Возбудителем некробактериоза является *F. necrophorum*, выделенная из биоматериала от больных животных. Культуры *F. necrophorum* обладали высокой патогенностью для лабораторных животных. Все четыре культуры *F. necrophorum*, выделенные от больных некробактериозом коров, обладали высокой ферментативной активностью: разлагали с образованием кислоты и газа глюкозу, лактозу, арабинозу, мальтозу, сахарозу, рафинозу, рамнозу, дульцит.

Культуры *F. necrophorum* продуцировали сероводород, выделяли аммиак, обладали протеолитической, каталазной, гиалуронидазной и гемолитической активностью, являющихся факторами патогенности возбудителя некробактериоза.

Биологические свойства и особенности *F. necrophorum* будут использованы при разработке терапевтических и профилактических препаратов при некробактериозе животных.

Н.П. Иванов¹, Н.Н. Егорова²,
С.Н. Саримбекова², В.Ю. Суших², А.К. Илимбаева²

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС, Алматы, Қазақстан

АЛМАТЫ ОБЛЫСЫНДАҒЫ ІРІ ҚАРА МАЛДЫҢ
ИНФЕКЦИЯЛАНҒАН ТІШІНЕН БӨЛІНГЕН
FUSOBACTERIUM NECROPHORUM БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРІ

Аннотация. Некробактериоз (некробактериоз) – тұяқ ұлпаларының ірінді-некротикалық зақымданатын инфекция ауруы, әсіресе, тұяқ ашасында, ал кейбір жағдайда ауыз қуысы, желін, жыныс мүшесі, бауыр, өкпе және басқа ағзаларда кездеседі.

Көптеген жануар түрлері некробактериозға бейім болып келеді. *Fusobacterium necrophorum*-ға бұғы, ірі қара және ұсақ күйіс қайыратын жануарлар, шошқа және қояндар сезімтал болып келеді.

Некробактериоз қоздырушысының тұрақты тасымалдаушысы күйіс қайыратын малдың ішегі мен қарнында пайда болып, ол күйіс қайыру кезінде азық бөлшектері, нәжіс, сыртқы орта объектілерінде кездеседі. Ауру, әсіресе, зоогигиеналық жағдайы нашар ылғалды жерде ұсталатын жануарларда жиі байқалады. Жануарлар инфекциясын қоздырушы зақымданған теріге немесе шырышты қабықтан енгенде қабықтың мацерациясында пайда болады.

Жұмыс «ҚазҒЗВИ» ЖШС-нің зертханалық және өндірістік жағдайында және Алматы облысы Талғар ауданы «Арқабай» елдімекенінің МТФ-да жануарды қорада күтіп-бағу жағдайында жүргізілді.

Зертханалық зерттеуге арналған материал (тұяқ ұлпасы зақымданған тұстың сау ұлпасы арасындағы шекарасы) жаңа алынған және анаэробтарға арналған қоректік ортаға (Китт-Тароцци ортасы) себілді.

Таңдалған биологиялық материалдың үлгілері фермадағы зертханада Китт-Тароцци ортасына егілді. Ауру жануарлардан алынған биологиялық материал некробактериоздың зертханалық балау жөніндегі нұсқаулыққа сәйкес алынғаннан кейін бірнеше сағат ішінде зерттелді.

Көптеген ұқсас микрофлорадан арылу үшін және *F. necrophorum* таза өсіндісін бөліп алу үшін зертханаға алынған қояндарға биоанализ жасалды. Инфекциядан кейін 14-15-күні оқшауланған өсінділердің жоғары патогенділігінің әсерінен тәжірибеге алынған қояндар өлді. Қоянның ішкі ағзаларына бөгде микрофлорамен ластанбаған таза *F. necrophorum* өсіндісі егілді.

Қоянның *F. necrophorum* өсінділерін тазарту үшін оңтайлы биомодель екендігі анықталды. Некробактериоз қоздырушысын қатты және сұйық қоректік ортада өсіру нәтижелері келтірілді. Оқшауланған өсінділердің биохимиялық қасиеттері зерттелді. Ірі қара малдағы некробактериоз қоздырушысының індет өсінділері күкіртсутек бөліп, аммиак түзіп, гемолитикалық қасиетке ие екендігі анықталды. *In vitro* және *in vivo* тәжірибеде *F. necrophorum* оқшауланған өсінділерінің гиалуронидазаға белсенділігі көрсетілгені дәлелденді. *F. necrophorum* өсінділері жоғары каталаза белсенділігін көрсетті, яғни газ көпіршіктерінің және сутегі асқын тотығының бөлінуі негізінде сипатталады. Биологиялық материалдан ірі қара малдан оқшауланған *F. necrophorum* төрт өсіндісі биологиялық қасиеті бойынша ұқсас болды.

Түйін сөздер: ірі қара мал, қоян, жануар, биосынама, некробактериоз, микроорганизм.

¹ N.P. Ivanov, ² N.N. Egorova,
² S.N. Sarimbekova, ² V. Yu Sushi, ² A.K. Ilimbayeva

LLP «Kazakh scientific-research veterinary institute», Almaty, Kazakhstan

BIOLOGICAL PROPERTIES OF FUSOBACTERIUM NECROPHORUM ISOLATED FROM INFECTED CATTLE TISSUES IN ALMATY REGION

Abstract. Necrobacteriosis (necrobacteriosis) is established as an infectious disease characterized by purulent-necrotic lesions of tissues mainly of the lower parts of the extremities, especially in the area of the corolla, and in some cases in the oral cavity, on the udder, in the genitals, liver, lungs and other tissues and organs.

Many animal species are affected by necrobacteriosis. The most susceptible and sensitive to *Fusobacterium necrophorum* are reindeer, cattle and small ruminants, pigs, and rabbits.

A constant carrier of the causative agent of necrobacteriosis in the rumen and intestines of ruminants has been established, it is found in food particles during chewing, in feces, in objects of the external environment. The disease is especially often observed in animals kept in damp places with poor zoohygienic conditions.

Infection of animals occurs when the pathogen enters the injured skin areas or when the mucous membranes are macerated.

The work was carried out in the laboratory and production conditions of KazSRVI LLC and at the MTF of the Arkabay settlement of the Talgar district of the Almaty region, where stall keeping of animals is practiced.

Material for laboratory research (sections from the horny tissue of the hoof on the border with the healthy one) were taken fresh and inoculated on a nutrient medium for anaerobes (Kitt-Tarozzi medium).

Samples of the selected biological material were plated on Kitt-Tarozzi medium at the sampling site on the farm. The biological material taken from sick animals was examined within several hours after taking in accordance with the guidelines for laboratory diagnostics of necrobacteriosis (YEAR INDICATION METHOD).

To get rid of the numerous accompanying microflora and obtain a pure culture of *F. necrophorum*, a bioassay was set up on laboratory animals - rabbits. On the 14-15th day after infection, the experimental rabbits died, which is evidence of the high pathogenicity of the isolated cultures. A pure culture of *F. necrophorum* from rabbit's internal organs, not contaminated with extraneous microflora, was cultured.

It was found that rabbits are the optimal biomodel for purification of the *F. necrophorum* culture. The results of cultivation of the causative agent of presented necrobacteriosis on solid and liquid nutrient media are. The biochemical properties of the isolated cultures have been studied. It was found that epizootic cultures of the causative agent of necrobacteriosis in cattle emitted hydrogen sulfide, formed ammonia, and had hemolytic properties. In experiments in vitro and in vivo, it was found that the isolated cultures of *F. necrophorum* showed hyaluronidase activity. Cultures of *F. necrophorum* had high catalase activity, i.e. split hydrogen peroxide with the release of gas bubbles. Four cultures of *F. necrophorum*, isolated from biological material from cattle, were identical in biological properties.

Keywords: a cattle, rabbit, animals, bioassay, necrobacteriosis, culture of microorganisms.

Information about authors:

Ivanov N.P., Doctor of Veterinary Sciences, Academician of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, Chief Researcher of LLP «Kazakh scientific-research veterinary institute», Almaty, Kazakhstan; akademik-vet@mail.ru; 0000-0003-1964-241X;

Yegorova N.N., Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher of LLP «Kazakh scientific-research veterinary institute», Almaty, Kazakhstan; natalya-egorova60@mail.ru; 0000-0001-9525-1854;

Sarimbekova S.N., Master of Veterinary Science, Almaty, Kazakhstan; sarimbekova@yandex.kz; 0000-0002-9625-5467;

Sushchikh V.Yu., Candidate of Veterinary Sciences, Leading Researcher of LLP «Kazakh scientific-research veterinary institute», Almaty, Kazakhstan; vldasali@mail.ru; 0000-0002-3520-2257;

Ilimbaeva A.K., Junior Researcher of LLP «Kazakh scientific-research veterinary institute», Almaty, Kazakhstan; almira577@mail.ru; 0000-0002-9847-564X

ЛИТЕРАТУРА

1] Дука О.Н., Култаев Б.Т. Приоритет – животноводство//Известия Национальной академии наук Республики Казахстан. 6 (12). 2012. С. 3-7.

[2] Инфекции наружных покровов// URL: <http://www.bibliotekar.ru/med-3/47.htm>.

[3] Клостридии// URL: http://www.amilguseynov.narod2.ru/chastnaya_mikrobiologiya/lektcii/klostridii, С. 41-42.

[4] Кисленко В. Н. Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии. М., Колос. 2005. 232 с.

[5] Гуславский И.И., Апалькин В.А., Густокашин К.А. г Краевая эпизоотология инфекционных болезней, основы прогнозирования, профилактики и борьбы с ними // Учебное пособие. Барнаул, 2004. 148 с.

[6] Powell Jr. Foot Rot Can Affect Gain// URL: <http://www.mafg.net/AgriDataArticles.aspx.ArticleID>

[7] Чуднов И.Е., Маневский Г.А., Эккерт В.Ю. Болезнь копыт крупного рогатого скота, некробактериоз//Альманах мировой науки.1. 2015. С. 46-47.

[8] Хузин Д.А., Макаев Х.Н., Папуниди К.Х. Пути оздоровления хозяйств от болезней пальцев, копыт и некробактериоза//Ветеринария сегодня. 4. 2013. С. 22-24.

[9] Антонов Б.И. и др. Справочник Лабораторные исследования в ветеринарии. Бактериальные инфекции. М.: Агропромиздат, 1986. С.56-58.

[10] Свидетельство о внесении сведений в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом Республика Казахстан, Методика обнаружения протеолитических (некротических) свойств *F. necrophorum*/ Иванов Н.П., Суших В.Ю., Илимбаева А.К., Саримбекова С.Н. - №9054, опубл. 30.03.2020.

REFERENCES

1] Duka O. N., Kultaev B. T. Priority - animal husbandry // News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. 6 (12). 2012. С. 3-7.

[2] Infections of the outer integument // <http://www.bibliotekar.ru/med-3/47.htm>.

[3] Clostridia // URL: http://www.amilguseynov.narod2.ru/chastnaya_mikrobiologiya/lektcii/klostridii, S. 41-42.

[4] Kislenco V. N. Workshop on veterinary microbiology and immunology. М., Kolos. 2005. 232 p.

[5] Guslavsky I.I., Apalkin V.A., Gustokashin K.A. Regional epizootology of infectious diseases, the basics of forecasting, prevention and control of them // Textbook. Barnaul, 2004. 148p.

[6] Powell Jr. FootRot Can Affect Gain// URL: <http://www.mafg.net/AgriDataArticles.aspx.ArticleID>

[7] Chudnov I. E., Manevsky G. A., Ekkert V. Yu. Disease of cattle hooves, necrobacteriosis// Almanac of world science. 1. 2015. Pp. 46-47.

[8] Khuzin D. A., Makaev Kh. N., Papunidi Kh. Ways of improving farms from diseases of fingers, hooves and necrobacteriosis//Veterinary medicine today. 4. 2013. Pp. 22-24.

[9] Antonov B.I. and other Directory Laboratory research in veterinary medicine. Bacterial infections. М.: Агропромиздат, 1986.- P.56-58.

[10] Certificate of entering information into the state register of rights to objects protected by copyright Republic of Kazakhstan, Methods for detecting proteolytic (necrotic) properties of *F. necrophorum* /Ivanov N.P., Sushchikh V.Yu., Ilimbaeva A.K., Sarimbekova S.N. - No. 9054, publ. 03/30/2020.

**Publication Ethics and Publication Malpractice
in the journals of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan**

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

Submission of an article to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. In particular, translations into English of papers already published in another language are not accepted.

No other forms of scientific misconduct are allowed, such as plagiarism, falsification, fraudulent data, incorrect interpretation of other works, incorrect citations, etc. The National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan follows the Code of Conduct of the Committee on Publication Ethics (COPE), and follows the COPE Flowcharts for Resolving Cases of Suspected Misconduct (http://publicationethics.org/files/u2/New_Code.pdf). To verify originality, your article may be checked by the originality detection service Cross Check <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

The authors are obliged to participate in peer review process and be ready to provide corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. All authors of a paper should have significantly contributed to the research.

The reviewers should provide objective judgments and should point out relevant published works which are not yet cited. Reviewed articles should be treated confidentially. The reviewers will be chosen in such a way that there is no conflict of interests with respect to the research, the authors and/or the research funders.

The editors have complete responsibility and authority to reject or accept a paper, and they will only accept a paper when reasonably certain. They will preserve anonymity of reviewers and promote publication of corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. The acceptance of a paper automatically implies the copyright transfer to the National Academy of sciences of the Republic of Kazakhstan.

The Editorial Board of the National Academy of sciences of the Republic of Kazakhstan will monitor and safeguard publishing ethics.

Правила оформления статьи для публикации в журнале смотреть на сайте:

www.nauka-nanrk.kz

ISSN 2518-1483 (Online), ISSN 2224-5227 (Print)

<http://reports-science.kz/index.php/en/archive>

Редакторы: *М. С. Ахметова, Д. С. Аленов, А. Ахметова*

Верстка на компьютере *А. М. Кульгинбаевой*

Подписано в печать 12.10.2020.

Формат 60x881/8. Бумага офсетная. Печать – ризограф.

8,5 п.л. Тираж 500. Заказ 5.