

применять программу упреждающего скрининга на использование в селекционном процессе выдающихся производителей-носителей мутаций, что существенно снизит темпы коррозии генофонда пород.

Заключение. Установлено, что 82 быка-производителя РУП «Витебское госплемпредприятие» свободны от мутации по гену SVM и их можно использовать в хозяйствах Витебской области.

Установлено, что бык Пик 200330, принадлежащий РУП «Витебское госплемпредприятие», является носителем мутации SVM (гетерозиготное состояние), вызывающей эмбриональную смертность, плоды, не подвергшиеся аборт, рождаются мертвыми, с искривленным позвоночником, аномальными ребрами, сердцем и другими органами. Это животное не имеет фенотипических проявлений заболевания, но является скрытым носителем мутации. Бык Пик 200330 относится к линии Пабст Гвернера 882933, и в его родословной только в трех рядах предков встречаются потомки пяти линий: Пабст Гвернера 882933, Скоки Стейшн 1267271, Вис Айдиала 933122, Монтвик Чифтейна 95679 и Рефлексн Соверинга 198998. Для предотвращения распространения мутации в стадах рекомендуем вывести его из использования в селекционном процессе. Бесконтрольное использование в селекционных программах племенного поголовья крупного рогатого скота, который не тестировали на выявление гена SVM, является экономически неоправданным и небезопасным.

Рекомендуем проводить ДНК-диагностику гена SVM с целью исключения импорта быков-производителей, носителей генетически обусловленной мутации, обеспечения ввода в племенные стада здоровых животных.

Литература. 1. Жигачев, А. И. О накоплении груза мутаций в породах крупного рогатого скота при интенсивных технологиях воспроизводства и улучшения по целевым признакам / А. И. Жигачев, Л. К. Эрнст, А. С. Богачев // Сельскохозяйственная биология. – 2008. – № 6 – С. 25–32. 2. Зиновьева, Н. А. Оценка роли ДНК-микросателлитов в генетической характеристике популяции черно-пестрого скота / Н. А. Зиновьева, Н. И. Стрекозов, Л. А. Малофеева // Зоотехния. -2009. -№1. - С. 2-3. 3. Калашникова, Л. А. Селекция XXI века: использование ДНК-технологий / Л. А. Калашникова, И. М. Дунин, В. И. Глазко; под ред. Калашниковой Л. А. [и др.] - Московская область: Лесные Поляны, ВНИИплем. 2001. - 34 с. 4. Михайлова, М. Е. Использование ДНК-технологий для генетического маркирования хозяйственно-ценных признаков и идентификации скрытых носителей иммунодефицита крупного рогатого скота / М. Е. Михайлова, Е. В. Белая, С. Г. Голенченко, Н. М. Волчок, Н. А. Камыш // Современные методы генетики и селекции в животноводстве: материалы междунар. науч. конф., Санкт-Петербург, 26-28 июня 2007 г. / С-Пт. ВНИИГРЖ; редкол.: П. Н. Прохоренко [и др.]. - Санкт-Петербург, 2007. - С. 267-273. 5. Эрнст, Л. К. Биологические проблемы животноводства в XXI веке / Эрнст Л. К., Зиновьева Н. А. - Москва: РАСХН, 2008. - 508 с. 6. Gentry P.A. Coagulation factor XI deficiency in Holstein cattle: expression and distribution of factor XI activity / Ross M. L. // Can J Vet Res. 1994 –October – 58(4) – pp. 242–247. 7. Labbers R. A comparisons of a linear and proportional hazards approach to analyze discrete longevity data in dairy cows // Anim. Sci. -2000. -V.70. -P. 197-206. 8. Meydan H, Screening for bovine leukocyte adhesion deficiency, deficiency of uridine monophosphate synthase, complex vertebral malformation, bovine citrullinaemia, and factor XI deficiency in Holstein cows reared in Turkey / Yildiz M.A., Agerholm J.S. // Acta Vet Scand. – 2010 – Oct 7; pp. 52–56.

Статья передана в печать 16.08.2013

УДК 619:616.98:578

ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА ВИНТУБ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУБЕРКУЛЕЗА В МОЛОКЕ

*Власенко В.В., **Власенко И. Г. *Войцицкая О.М.

*Винницкий национальный аграрный университет, г. Винница, Украина

**Винницкий торгово - экономический институт КНТЭУ, г. Винница, Украина

В работе исследуется современное состояние и перспективы улучшения качества и безопасности молока в Украине. Предложены новые подходы к совершенствованию качества и безопасности молока с использованием компьютерных технологий и новых питательных сред.

In work the modern state and prospects of improvement of quality and safety of milk in Ukraine is explored. Offered new approaches to the improvement of quality and safety of milk from the use of computer technologies and new nourishing environments.

Ключевые слова: возбудитель туберкулеза, ППД-туберкулин, туберкулинодиагностика, безопасность, качество продуктов, молоко.

Keywords: causative agent of tuberculosis, PPD tuberculin, tuberculin, safety, quality of products, milk.

Введение. Согласно современным международным требованиям по безопасности молока только качественный контроль является уже недостаточным, поскольку он не может гарантировать полную безопасность. Особенно критическая ситуация сложилась с оценкой качества молока от тубинфицированных животных на территориях, загрязненных радионуклидами. Для выявления тубинфицированных коров используют туберкулин для млекопитающих.

Как известно, туберкулин является аллергеном, который изготавливают из высоковирулентного (патогенного) штамма возбудителя туберкулеза.

По сообщению специалистов ветеринарной медицины [1] «в туберкулине могут быть фильтрующиеся формы микобактерий».

Итак, как сообщают авторы [1], при туберкулинодиагностике животных в организм вводят фильтрующиеся формы вирулентного возбудителя туберкулеза, затем этот возбудитель развивается и из организма коров выделяется в значительных количествах с молоком. Известно, что для туберкулеза и многих антропозоонозных заболеваний существует биологическая цепь "животное - молоко - человек", то есть в случае недостаточного контроля продукты питания животного происхождения, пораженные возбудителем туберкулеза, могут передавать возбудитель (инфекцию) людям [2].

Вступление Украины в ВТО обязывает нас выполнять Постановление ЕС № 178 /2002. Действие постановления распространяется на все страны ЕС. Цель постановления - создание основ для высокого уровня защиты здоровья человека и потребительских интересов в области продуктов питания, учитывая многообразие ассортимента пищевых продуктов. Это стало предпосылкой для создания прочной научной основы для распознавания в сыром молоке стадийного развития возбудителя туберкулеза после проведения туберкулинизации у дойных коров [3].

Целью нашей работы было подтвердить или исключить наличие фильтрующихся форм микобактерий в ППД для млекопитающих и разработать экспресс - метод оценки безопасности молока для выявления возбудителя туберкулеза.

Материал и методы исследований. Для определения эффективности компьютерной оценки биологической безопасности молочного сырья контролем служили культуры микобактерий: *M. tuberculosis* H37 Rv, *M. bovis* 8, *M. bovis* BCG, которые восстановили из лиофилизированного состояния сначала на среде Левенштейна - Йенсена, затем - на среде Павловского. Полученные культуры гомогенизировали в стерильном молоке (1 мг культур на 10 мл стерильного молока - суспензия) и использовали для работы в опыте.

В качестве биологической модели использовали морских свинок, которые прошли карантин и были разделены на две группы. Первая группа служила контролем, а вторая - опытом. В работе использовали туберкулин ППД для млекопитающих Сумской биофабрики, серия 45 и 80, который вводили морским свинкам второй (опытной группы), внутривентриально в количестве 3 мл стерильной суспензии на минеральном масле. Через месяц этих животных подвергли диагностическому убою. Для выявления инфицированности подопытных животных исследовали печень, селезенку и легкие. Суспензию внутренних органов обрабатывали 10% раствором трехзамещенного фосфорнокислого натрия. Культуральные и бактериологические исследования проводили на питательных средах согласно Приказу МЗ Украины № 45-2002 года [4].

При исследовании молока использовали обогащение препаратом ВКВ. Предложенный метод обогащения препаратом ВКВ (Власенко В.В., Конопко И.Г., Войцицкая О.М., 2012) дает возможность концентрировать возбудитель туберкулеза. Метод заключается в том, что к молоку в количестве 10 мл добавляли такое же количество препарата ВКВ, смесь подогревали до 50-60° С. После охлаждения содержимое выливали в центрифужные пробирки, центрифугировали при 1500 об/мин в течение 25-30 минут. Надосадочную жидкость сливали, а из осадка делали бактериологические посева и тонкие мазки на предметных стеклах с подложкой, высушивали, фиксировали и окрашивали по методу Циль - Нильсена. При бактериологическом исследовании к осадку добавляли стимулятор роста в соотношении 1:1 и ставили в термостат при температуре 37-38 ° С на 48 ч с последующим посевом на питательную среду Винтуб. Микроскопию мазков проводили по общепринятой методике с помощью иммерсионной системы с использованием компьютерных технологий микрофотографирования, которая запатентована нами в Украине.

Результаты исследований. Установлено, что инокуляция материала (туберкулина), содержащего фильтрующиеся формы МБТ (отсутствие роста на традиционных питательных средах и рост на среде ВКГ и Влакон), в макроорганизме морских свинок за короткое время (месяц после заражения) вызывает развитие характерных для туберкулеза патологических изменений, которые наблюдались только у 8% животных, а при бактериологическом исследовании у всех животных, которым вводили туберкулин выявлялся возбудитель туберкулеза. На посевах контрольной группы животных рост отсутствовал, а патологических изменений не наблюдались. Результаты определения эффективности компьютерной оценки биологической безопасности молочного сырья приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Результаты сравнительных методов исследований

Название исследуемого материала	Количество проб	Результаты микроскопии				Бактериологические исследования(рост)			
		световая микроскопия (общепринятая)		Предложенная микроскопия		Питательная среда Левенштейна - Йенсена		Питательная среда Винтуб	
		факт	%	факт	%	факт	%	факт	%
<i>M. tuberculosis</i> H37 R v (Суспензия)	5	5	100	5	100	5	100	5	100
<i>M. bovis</i> 8 (Суспензия)	10	10	100	10	100	10	100	10	100
<i>M. bovis</i> BCG (суспензия)	10	10	100	10	100	10	100	10	100
Молоко коров на 10 день после туберкулинизации	10	1	10	10	100	-	-	10	100

Как видно из таблицы 1, в результатах микроскопических и бактериологических исследований тест-культур из среды Павловского разницы не было, а при исследовании мазков молока световым микроскопом оказалось положительными мазков лишь 10 %, тогда как при компьютерной микроскопии -100 %. Установлено, что все исследуемые мазки молока от коров имели в 100 полях зрения микроскопа от 7 до 43 клеток возбудителя туберкулеза. Можно предположить, что при фиксации над пламенем спиртовки мазков молока микобактерии не погибают окончательно, а потому плохо окрашиваются методом Циль - Нильсена. Культуры, полученные на средах Винтуб и Левенштейна - Йенсена, по микроскопической картине были идентичны.

После посева проб через 2-4 суток на исследуемой среде появлялись круглые полупрозрачные мелкие колонии серо - белого цвета , иногда - с желтоватым оттенком, которые легко снимаются со среды при приготовлении мазков (рисунок 1).



Рисунок 1 - Полупрозрачные мелкие колонии серо - белого цвета на среде Винтуб

При просмотре мазков из колоний, выросших на 2-4 сутки на исследуемой среде, выявлены полиморфные формы: мелкие кокки и палочки разной величины, прямые и изогнутые, с зернистостью, при окраске по Циль - Нильсену - от розового до красно - фиолетового цвета (рисунок 2).

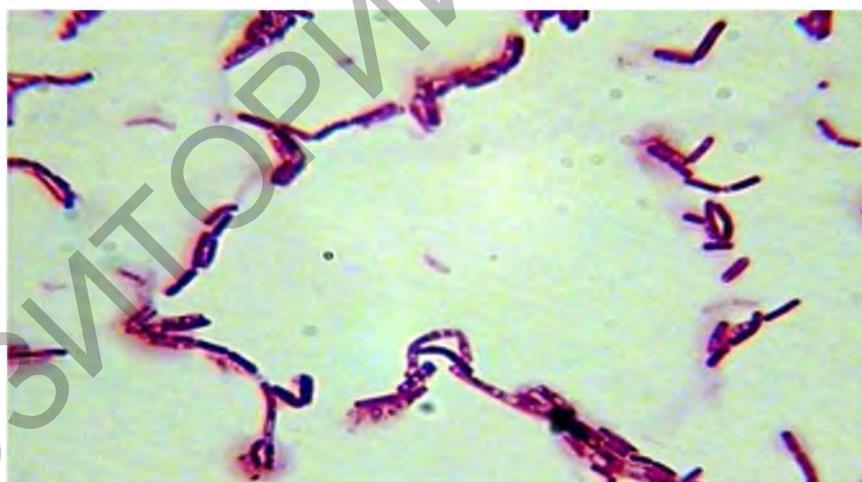


Рисунок 2 - Палочки разной величины прямые и изогнутые, с зернистостью (окраска по Циль – Нильсену, увеличение x 1000).

Рост культур из молока коров инфицированных возбудителем туберкулеза, на среде Винтуб обнаружен в 100 % исследуемых проб, а на среде Левенштейна - Йенсена отсутствовал. Следовательно, можно предположить, что малахитовый зеленый, входящий в состав среды Левенштейна - Йенсена, ингибирует рост не только сопутствующей микрофлоры, но и возбудителя туберкулеза, который имеет сниженную ферментативную активность. При просмотре мазков культур, выращенных на исследуемой среде в течение 1 мес. и окрашенных по Циль - Нильсену, обнаружены россыпи кокков, ди - и тетракокков, в большом количестве – палочек разной величины с зернистостью, а также другие формы красного цвета.

Таким образом, при культивировании микобактерий на исследуемой среде подтверждена их способность трансформироваться в классические палочки.

Для предотвращения ложных результатов при проведении бактериоскопии возникает необходимость оценить наличие живых микобактерий в мазке, поскольку они не окрашиваются по методу Циль - Нильсена, и очень важно определить жизнеспособность микобактерий. С этой целью приготовленный мазок молока от вышеуказанных коров фиксировали над пламенем, красили 1,0 % раствором малахитового зеленого (рН 4,1) в течение 10 минут, подогревая мазок до появления паров.

После этого краску сливали, мазок промывали водой и красили карболовым фуксином (в разведении 1:5) в течение 5 минут. Живые микобактерии окрашиваются в зеленый цвет, а нежизнеспособные - в красный.

Для подтверждения того, что из молока выделена культура возбудителя туберкулеза, была проведена биологическая проба на морских свинках. Обнаружена способность полученных из молока культур вызывать характерные туберкулезные патологоанатомические изменения у лабораторных животных и выделить от них возбудителя туберкулеза на среде Левенштейна - Йенсена без малахитового зеленого. Таким образом, подтверждена гипотеза, что малахитовый зеленый ингибирует не только рост сопутствующей микрофлоры, а и возбудителя туберкулеза, который имеет сниженную ферментативную активность, однако при благоприятных условиях способен вызвать заболевание.

В результате проведенных исследований установлено, что все исследуемые мазки молока от коров, которые реагировали на введенный туберкулин положительно, имели в 100 полях зрения микроскопа от 7 до 43 клеток возбудителя туберкулеза. Очевидно, при фиксации над пламенем спиртовки мазков молока микобактерии не погибают окончательно, а потому плохо окрашиваются методом Циль - Нильсена.

Заключение. Проведенными исследованиями установлено, что:

1. Основой обеспечения безопасности молочной продукции в Украине является система мониторинга санитарно опасных возбудителей и остаточных количеств токсичных веществ в молочных продуктах питания.

2. Предложенный метод обогащения микобактерий в сыром молоке препаратом ВКВ и результаты компьютерной микроскопии мазков молока могут быть использованы как экспресс - метод оценки биологической безопасности молочных продуктов.

3. Среда Винтуб пригодна для контроля качества молока и молокопродуктов, так как дает возможность обнаруживать полиморфные формы возбудителя туберкулеза (фуксинофильные кокковидные образования, зернистые палочки), которые вызывают специфическое туберкулезное поражение внутренних органов морских свинок.

4. Культуры музейного штамма *M. bovis* 8, *M. bovis* BCG и из суспензии молока, полученные на средах Винтуб и Левенштейна - Йенсена, оказались идентичными по микроскопической картине.

5. Внедрение в практику компьютерной микроскопии и питательной среды Винтуб существенно ускорит обнаружение микобактерий туберкулеза, значительно уменьшит затраты на лабораторную диагностику при контроле безопасности пищевых продуктов.

6. ППД для млекопитающих Сумской биофабрики, серия 45 и 80, содержит живого возбудителя туберкулеза, и после введения в организм туберкулин может вызвать характерные патологические изменения лишь в 8% случаев, а при бактериологическом исследовании у всех лабораторных животных, которым вводили туберкулин, выявляется во внутренних органах возбудитель туберкулеза, опасный для пищевого сырья.

Литература 1. Колос Ю., Стець В., Титаренко В., Зелінський М., Якубчак О., Хоменко В. До питання діагностики туберкульозу в тварин// *Ветеринарна медицина України* - 2006- №11-С. 10-12. 2. Власенко В.В. Туберкулёз в фокусе проблем современности. - Винница: Наука. - 1998.-223с. 3. Власенко В.В., Власенко И.Г., Василенко С.П., Колодий С.А., Лысенко А.П. Патоморфологические реакции, вызванные артроспорами микобактерий туберкулеза// *Вісник морфології* -2006- №12(1)-С. 46-48. 4. Методичні рекомендації «Мікробіологічні методи обстеження хворих на туберкульоз». (на підставі нових даних про особливості біологічного розвитку *M. tuberculosis*). МОЗ. Київ - 2001-23с.

Статья передана в печать 27.08.2013

УДК 619:616.98:579.887.1 1 1:577.18

АНТИБИОТИКОТЕРАПИЯ ОВЕЦ И КОЗ, БОЛЬНЫХ ИНФЕКЦИОННОЙ АГАЛАКТИЕЙ

***Волошин А.В., *Атамась В.А., **Ковалев В.Л.**

*Одесский государственный агроуниверситет, г. Одесса, Украина,

**Ожный филиал Национального университета биоресурсов и природопользования Украины «Крымский агротехнологический университет», г. Симферополь, Украина

Применение фармазина-200, канамицина 10% и окситетрациклина гидрохлорида при инфекционной агалактии овец и коз способствует нормализации состояния здоровья животных, снижает признаки конъюнктивита, хромоты, поражения вымени и органов дыхания.

The administration of farmazin-200, 10 % of kanamycin and oxytetracyclini hydrochloride for infectious agalactia of sheep and goats contributes to normalization of animals health, reduces conjunctivitis manifestation, lameness, udder and respiratory tract pathology.

Ключевые слова: инфекционная агалактия овец и коз, лечение, антибиотики, лейкоциты, Т- и В-лимфоциты.

Keywords: infectious agalactia sheep and goats, treatment, antibiotics, leukocytes, T- B- lymphocytes.