

Таким образом, при работе со стадом племенного репродуктора ПСК "Новомихайловский" при закреплении быков следует учитывать линейную принадлежность животных. Всех высокопродуктивных коров с удоем 6,0 тыс.кг и выше перевести на индивидуальное закрепление с целью получения линейных животных.

Список литературы:

1. Листратенкова В.И. Импортное маточное поголовье бурых пород в Смоленской области / В.И. Листратенкова, Н.С. Петкевич, Ю.А. Курская // Сборник матер. междун. научн.-практ. конф. ч. 2.-Смоленск, 2014. –С. 339-342.
2. Программа селекционно-племенной работы с бурой швицкой породой крупного рогатого скота в Смоленской области на 2013-2022 годы / Д.Н. Кольцов [и др.]. – Смоленск, 2014. –181 с.
3. Цысь В.И. Повышение эффективности селекции швицкого скота с использованием пород мирового генофонда: автореф. дис...д-ра с.-х. наук: 06.02.01 / В. И. Цысь – Дубровицы. – 1995. – 36 с.
4. Чернушенко В.К., Петкевич, Н.С. Эволюция и современное состояние пород крупного рогатого скота Смоленской области (часть II. Бурая швицкая порода). - Для специалистов – селекционеров, научных работников, преподавателей вузов и колледжей // В.К. Чернушенко, Н.С. Петкевич. – Смоленск, 2004. – 124 с.
5. Петкевич Н.С., Кучумов А.В., Курская Ю.А., Листратенкова В.И. Изменение типа телосложения сычевского и бурого швицкого скота в процессе селекции. В сборнике: Научно-образовательная среда как основа развития агропромышленного комплекса и социальной инфраструктуры села материалы международной научно-практической конференции. ФГБОУ ВО "Чувашская государственная сельскохозяйственная академия". 2016. С. 207-209.

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ТУБЕРКУЛИНА С ПРИМЕНЕНИЕМ НОВЫХ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Притыченко А.Н., к.в.н., доцент РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь
Кашко Л.С., к.в.н., доцент ФГБОУ ВО Смоленская ГСХА, г. Смоленск, Россия

***Аннотация.** Целью настоящего исследования явилось изучение биологических свойств туберкулинов с применением новых бактериологических методов. В результате исследований подтверждён факт образования МБТ защитных форм, выдерживающих 30 мин автоклавирование при 121°C и проходящих через бактериальные фильтры и мембраны, пропускающие молекулы с размером меньше 300 кДа. Инкубирование туберкулинов в стимуляторе роста MucCel DW 24-48 ч при 37°C активизирует защитные формы МБТ и вызывает их прорастание на специальных питательных средах (MucCel DW) в виде*

сетевидных структур, формирующих неокислостойчивые кокковидные и палочковидные формы, часть из которых может трансформироваться в типичные кислостойчивые палочки. Изоляты из туберкулинов имеют общие антигены с классическими микобактериями туберкулёза и специфические участки ДНК.

Ключевые слова: туберкулез, крупный рогатый скот, мониторинг, туберкулин, аллергическая диагностика, биопроба, ПЦР.

Введение.

В настоящее время туберкулёз приобрёл масштабы пандемии. В Беларуси, наряду с устойчивым благополучием, ситуация не однозначна. Проведение плановых противоэпизоотических мероприятий обеспечивает благополучие страны по туберкулёзу [1]. Мониторинг по туберкулёзу осуществляется преимущественно аллергическим методом с использованием туберкулина очищенного для млекопитающих производства ОАО “БелВитунифарм”, Республика Беларусь. Данный метод имеет чувствительность на уровне 54,2 - 80%, особенно сложно с его помощью проводить аллергическую диагностику молодняка, инфицированного в раннем возрасте [1,2,3].

Классические методы бактериологической диагностики туберкулёза не отличаются высокой чувствительностью и не дают информации о потенциальной опасности активизации туберкулезной инфекции в стаде. Даже в условиях эксперимента чувствительность культурального метода и биопробы находится в пределах 0,8-14,4%. По нашим наблюдениям, в 70-80 гг. в период относительного неблагополучия по туберкулёзу крупного рогатого скота, из биологического материала без видимых патологических изменений возбудитель туберкулёза выделяли только в 0,033-0,066% случаев и достаточно часто стада, по которым были получены отрицательные результаты бактериологического исследования, вскоре становились неблагополучными [1, 3,4,5].

По нашему мнению, отсутствие заметного прогресса в диагностике и профилактике туберкулёза связано с превалированием представлений об относительно простой биологии и мономорфизме возбудителя и разработке на этой основе методов диагностики болезни [1,2].

Несмотря на то, что уже относительно давно известно о существовании фильтрующихся, ультрамелких, нитевидных, L-форм микобактерий их углубленное изучение стало доступным с разработкой питательной среды ВКГ, а также питательной среды MusCel DW. Главные достоинства этой питательной среды - скорость роста, высокая чувствительность, рост хорошо суспендирующихся колоний возбудителя, что позволяет использовать ее для прижизненной диагностики в агглютинации (РА) при идентификации изолятов [1,8,9,10].

Открытия последних лет в области биологических свойств туберкулёза подтверждают возможную связь туберкулезной инфекции и онкогенеза. В

опухолях и крови людей больных лейкозом были идентифицированы полиморфные культуры частично кислотоустойчивых (КУ) микроорганизмов, предположительно изменённых микобактерий туберкулеза (МБТ) с дефектной клеточной стенкой (cell wall deficient - CWD) [6,7,8,9,10]. В опухолях обнаружены CWD (L-) формы МБТ и микобактериальная ДНК, в том числе, интегрированная в геном хозяина [11].

Цель исследования.

Целью настоящих исследований явилось изучение биологических свойств туберкулинов с применением новых бактериологических методов.

Условия, материалы и методы.

Исследования проведены в условиях РУП «ИЭВ им. С.Н. Вышелесского», в лечебно-диагностических учреждениях и хозяйствах Республики Беларусь.

Экспериментальная часть работы выполнена по классическим методикам, применяемых в микробиологии, иммунохимии, биохимии, эпизоотологии и иммунологии.

Материалом для исследования служила стерильно взятая стабилизированная кровь животных благополучных и неблагополучных по туберкулезу хозяйств РБ. Кровь после контакта со стимулятором роста МусСел DW (1:1) инкубировали при 37°C 48 ч и высевали на питательную среду МусСел DW, разлитую в стерильные разовые чашки Петри. При появлении признаков роста из части колоний делали препараты-мазки, окрашивали по Цилю-Нильсену. В работе также использовали образцы туберкулинов:

- 1st International standard PPD M. bovis AN5 (IS PPD BOV AN5 Central Veterinary Laboratory, Lion). Содержимое ампулы (1,8 мг туберкулопротеина) растворяли в 1,8 мл стерильного 0,32% раствора фенола;

- ППД туберкулин (M. bovis 8) ФГУП «Курская биофабрика» (стандартный раствор 0,86 мг/мл с 0,4% фенола);

- ТО ОАО «БелВитунифарм» (серии 75, 80, 87, стандартные растворы с 0,4% фенола).

Для микроскопического исследования туберкулины центрифугировали при 10000 об/мин 10 мин. Надосадочную жидкость удаляли, предполагаемый осадок суспендировали в 30 мкл стерильного 0,15М раствора NaCl, переносили на предметные стёкла, высушивали, фиксировали 2 ч при 65°C и окрашивали по Цилю-Нильсену.

Все эксперименты сопровождали необходимыми контролями, гарантирующими достоверность и специфичность результатов.

Результаты и обсуждение.

Во всех исследованных образцах обнаружены прозрачные мелкие шары и более крупные шарообразные, часто сдвоенные формы, с синим центром и прозрачной периферией. Кислотоустойчивые и другие бактериальные формы не обнаружены.

Установлено, что смеси всех исследованных образцов туберкулинов через 2-7 суток давали на среде МусСел DW рост очень мелких стекловидных

колоний, тонкого «газона», иногда вырастали отдельные восковидные колонии 1-2 мм в диаметре.

С поверхности питательных сред делали препараты-мазки, которые окрашивали по Цилю-Нильсену и иммунопероксидазным методом с использованием конъюгата пероксидазы с аффинно-очищенными антителами к антигенам *M. bovis*. Через 48 часов после посева туберкулинов в мазках обнаруживали неокислостойчивые сотоподобные (honeycomb-like) кольцевидные образования, а также структуры в виде нитей, в которых формировались НКУ кокковидные и КУ палочковидные формы. Через 3-5 суток в препаратах-мазках появлялись кокковидные формы и палочки разной длины, содержавшие гранулы. В ряде случаев, было видно, что это один и тот же микроорганизм, но представленный разными формами.

Изоляты из туберкулинов окрашивались иммунопероксидазным методом с использованием конъюгатов пероксидазы и аффинноочищенных антител к *M. tuberculosis* и *M. bovis*, а следовательно, содержали антигены, общие с бациллярной формой МБТ.

Таблица – Результаты ПЦР в реальном времени ДНК изолятов из туберкулинов

Изолят со среды MycCel DW	Ct	
	FAM - <i>M. tuberculosis</i> - <i>M. bovis</i> complex	JOE - <i>M. tuberculosis</i>
ППД <i>M. bovis</i> Vallee	26,65	не определяется
ППД <i>M. tuberculosis</i> T3840	12,88	2,93
ППД <i>M. bovis</i> 8	6,38	не определяется
ТО сер. 37 (<i>M. bovis</i> 8)	25,98	не определяется
Контроли		
<i>M. bovis</i> Vallee бациллярный	5,85	не определяется
<i>M. tuberculosis</i> H ₃₇ R _v бациллярный	36,21	3,25
<i>Staph. aureus</i>	не определяется	не определяется
<i>Str. faecalis</i>	не определяется	не определяется
<i>Candida albicans</i>	не определяется	не определяется
<i>Proteus vulgaris</i>	не определяется	не определяется

При длительном культивировании изолятов из туберкулинов (1-5 месяцев), в том числе при пересевах на среду Левенштейна-Йенсена, в препаратах-мазках появлялись характерные кислотоустойчивые рубиново-красные палочки.

ДНК изолятов из туберкулинов в ПЦР в реальном времени реагировала с зондом FAM (*M. tuberculosis*-*M. bovis* complex), начиная с 7-27 цикла. С зондом JOE (*M. tuberculosis*) реакция отмечена только с изолятом из ППД туберкулина *M. tuberculosis* T3840, что подтверждало связь изолятов с родительскими видами (таблица). Образцы ДНК нетуберкулезной микрофлоры не реагировали зондами FAM и JOE.

Выводы. Проведенные исследования биологических свойств туберкулинов с применением новых бактериологических методов позволяют сделать следующие выводы:

1. Подтверждён факт образования МБТ защитных форм, выдерживающих 30 мин автоклавирование при 121°C и проходящих через бактериальные фильтры и мембраны, пропускающие молекулы с размером меньше 300 кДа.

2. Инкубирование туберкулинов в стимуляторе роста MucCel DW 24-48 ч при 37°C активизирует защитные формы МБТ и вызывает их прорастание на специальных питательных средах (MucCel DW) в виде сетевидных структур, формирующих неокислотоустойчивые кокковидные и палочковидные формы, часть из которых может трансформироваться в типичные кислотоустойчивые палочки.

3. Изоляты из туберкулинов имеют общие антигены с классическими микобактериями туберкулёза и специфические участки ДНК.

Список литературы:

1. Лысенко А.П. Антигены *M. bovis* и атипичных микобактерий, изучение и применение для дифференциальной диагностики туберкулёза крупного рогатого скота: автореф. дис. ... д-ра вет. наук: 16.00.03 / А.П. Лысенко; БелНИИ экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского. – Минск, 1994. – 35 с.

2. Притыченко А.Н. Туберкулин очищенный для млекопитающих (оптимизация очистки, диагностические и иммунохимические свойства): автореф. дис. ... канд. вет. наук / А. Н. Притыченко; РУП «БелНИИЭВ им. С. Н. Вышелесского». – Минск, 2002. – 19 с.

3. Шаров, А.Н. Аллергическая диагностика туберкулёза у животных: повышение её эффективности : автореф. дис. ... д-ра вет. наук : 16.00.03 / А.Н. Шаров; Всесоюзный институт экспериментальной ветеринарии. – М., 1989. – С. 9–10, 32–34.

4. Справочник по наиболее распространенным болезням крупного рогатого скота и свиней: монография / П.А. Красочко, О.Г. Новиков, А.И. Ятусевич, И.А. Красочко, Ю.Г. Зелютков, А.П. Лысенко, В.В. Максимович, А.С. Ястребов, А.П. Курдеко, М.В. Якубовский, Н.Г. Толкач, В.Е. Иванов, М.П. Кучинский, С.М. Грибко, Л.С. Кашко, В.А. Самсонович, А.Э. Высоцкий, Т.А. Савельева, В.М. Мосин. – Смоленск: Смоленская городская типография, 2003. – 828 с.

5. Современная диагностика инфекционных заболеваний крупного рогатого скота б монография /А.Р. Камошенков, П.А. Красочко, Грибко С.М., Красочко П.П., Л.С. Кашко [и др.]: под общей редакцией П.А. Красочко; Смоленская ГСХА. – Смоленск.- 2013. –121 с.

6. Петкевич Н.С., Кучумов А.В., Курская Ю.А., Листратенкова В.И. Изменение типа телосложения сычевского и бурого швицкого скота в процессе селекции. В сборнике: Научно-образовательная среда как основа развития агропромышленного комплекса и социальной инфраструктуры села материалы

международной научно-практической конференции. ФГБОУ ВО "Чувашская государственная сельскохозяйственная академия". 2016. С. 207-209.

7. Diller I, Donnelly A., Fisher M. Isolation of pleomorphic, acid fast organisms from several strains of mice. Cancer Research, 1967; 27, 1, p. 1402-1408.

8. Guliang H., Tefu L. Mycobacterium tuberculosis L-forms. Microbial Ecology in Health and Disease. 1999, 10, p. 129-133.

9. Lysenko AP, Broxmeyer L, Vlasenko VV, Krasochko PA, Lemish AP, Krasnikova EL. Further Evidence for Cancer as a Cell-wall-deficient Mycobacterial Disease. Journal of Molecular Pathological Epidemiology. - 2016. - Vol. 1.- No. 1:8. -p.2-12.

10. Lysenko AP, Vlasenko VV, Broxmeyer L. et al. Phenomenon of variability of mycobacteria tuberculosis and its use for detection of a tuberculosis infection. Tuberculosis - global disaster of mankind. Materials I of the International scientific and practical conference on March 24, 2014 - Rostov-on-Don.- p. 176-198.

11. Lysenko A.P., V.V. Vlasenko, L. Broxmeyer et al. The tuberculin skin test: how safe is safe? The tuberculins contain unknown forms capable of reverting to cell-wall-deficient mycobacteria. Clinical and Experimental Medical Sciences. 2014, 1. 2, no. 1-2, p.55-73.

12. Wuerthele-Caspe V. Mycobacterial forms observed in tumors. J. Am. Med. Womens Assoc. 1949; 4, p. 135-141.

МОЛОЧНАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ КОРОВ БУРОЙ ШВИЦКОЙ ПОРОДЫ И ВОЗМОЖНОСТИ ЕЕ ПОВЫШЕНИЯ В УСЛОВИЯХ СПК «ДРУЖБА» СМОЛЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

Рузанова Н.Г., к.с.-х.н., доцент ФГБОУ ВО Смоленская ГСХА, г. Смоленск, Россия

Иванова Е.В., магистрант ФГБОУ ВО Смоленская ГСХА, г. Смоленск, Россия

Аннотация. В работе рассмотрены вопросы генеалогической принадлежности в стаде, особенности молочной продуктивности коров разных линий и семейств, перспективы дальнейшего разведения скота бурой швицкой породы. Показано, что существует связь между удоем и жирномолочностью животных, что важно для ведения селекции для увеличения молочной продуктивности, а также жирномолочности и белкомолочности.

Ключевые слова: молочная продуктивность, корова, коровы бурой швицкой породы.

Родина швицкой породы-Швейцария. Выведена она в горных районах и происходит от местного короткорогого скота. Порода создавалась путем длительного отбора и подбора в условиях улучшенного кормления и содержания в условиях местного содержания. В Россию швицкий скот стали