

5. Требухов А.В. Взаимосвязь показателей белкового обмена больных кетозом коров и их телят // Ветеринария. – 2016. – № 9. – С. 42-45.

6. Требухов А.В., Эленшлегер А.А. Взаимосвязь основных показателей минерального обмена у больных кетозом коров и рожденных от них телят // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2016. – № 5 (252). – С. 48-55.

7. Требухов А.В. Некоторые показатели минерального обмена у больных кетозом коров // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2016. – № 1 (135). – С. 108-110.

8. Кондрахин И.П., Архипов А.В., Левченко В.Н. Методы ветеринарной клинической диагностики: справочник. – М.: КолосС, 2004. – 520 с.

References

1. Kondrakhin I.P. Biologicheskie osnovy vysokoy produktivnosti i zdorovya skota // Trudy Krymskoy akademii nauk. – 2004. – S. 24-25.

2. Ryadchikov V.G., Shlyakhova O.G., Dubinina D.P. i dr. Obmen veshchestv, zdorove i produktivnost korov pri raznom urovne v ratsione kontsentratov v perekhodnyy peri-

od // Nauchnyy zhurnal KubGAU. – 2012. – № 79. – S. 116-135.

3. Trebukhov A.V., Elenshleger A.A., Kovalev S.P. Ketoz molochnykh korov: monografiya. – Barnaul, 2016. – 123 s.

4. Stengarde L. Displaced Abomasum and Ketosis in Dairy Cows. Blood Profiles and Risk Factors. Doctoral Thesis. – Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences, 2010. – 76 p.

5. Trebukhov A.V. Vzaimosvyaz pokazateley belkovogo obmena bolnykh kетozom korov i ikh telyat // Veterinariya. – 2016. – № 9. – S. 42-45.

6. Trebukhov A.V., Elenshleger A.A. Vzaimosvyaz osnovnykh pokazateley mineralnogo obmena u bolnykh kетozom korov i rozhdennykh ot nikh telyat // Sibirskiy vestnik selskokhozyaystvennoy nauki. – 2016. – № 5 (252). – S. 48-55.

7. Trebukhov A.V. Nekotorye pokazateli mineralnogo obmena u bolnykh kетozom korov // Vestnik Altayskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2016. – № 1 (135). – S. 108-110.

8. Kondrakhin I.P., Arkhipov A.V., Levchenko V.N. Metody veterinarной klinicheskoy diagnostiki: spravochnik. – М.: KolosS, 2004. – 520 s.



УДК 579.62:576.852.1:631.22

Е.А. Лискова, К.Н. Слина, Н.А. Гладкова
Ye.A. Liskova, K.N. Slinina, N.A. Gladkova

ВЫДЕЛЕНИЕ МИКОБАКТЕРИЙ ИЗ КОРМОВ

ISOLATION OF MYCOBACTERIA FROM FORAGES

Ключевые слова: микобактерии, деконтаминация, корма, метод А.П. Аликаевой, дезинфицирующее средство Септустин.

Выделение микобактерий из объектов окружающей среды сопряжено со значительными методическими трудностями, связанными с контаминацией предназначенных для исследований субстратов сопутствующими быстрорастущими микроорганизмами – представителями сапрофитов, гнєродной и гнилостной микрофлоры, дрожжеподобных грибов, актиномицетов и др. Рост посторонних микроорганизмов на питательных средах мешает развитию микобактерий и затрудняет их выделение. Для подавления сопутствующей микрофлоры, высвобождения микобактерий из органических субстратов применяется предпосевная обработка исследуемого материала. Существующие методы предпосевной обработки исследуемого материала для подавления роста сопутствующей микрофлоры, основанные на применении кислот и щелочей,

не позволяют выделять слабокислотоустойчивые микобактерии. Выделению чистых культур микобактерий из объектов окружающей среды придается большое значение, поскольку при этом значительно сокращаются сроки выявления источников, возможные риски и пути распространения возбудителей. На основании проведенных исследований разработан новый метод выделения микобактерий из кормов, включающий подготовку навески и получение суспензии, ее деконтаминацию 5%-ным раствором Септустина в соотношении 1:4 в течение 30 мин., последующее центрифугирование при 3000 об/мин. в течение 15 мин., двукратное отмывание осадка стерильным физиологическим раствором с центрифугированием в том же режиме и высевы на среды Левенштейна-Йенсена, Финн-2. Применение предлагаемого метода обеспечивает ускорение роста микобактерий в сравнении с традиционным методом по А.П. Аликаевой на 28,6-52,4% и повышение возможности выделения чистых культур на 25%.

Keywords: *mycobacteria, decontamination, forages, method by A.P. Alikaeva, Septustin disinfectant.*

The isolation of mycobacteria from environmental objects is fraught with difficulties associated with contamination of substrates to be studied with fast-growing microorganisms – representatives of saprophytes, pyogenic and putrefactive microflora, yeast-like fungi, actinomycetes, etc. The growth of foreign microorganisms on nutrient media interferes with the development of mycobacteria and makes it difficult to isolate them. Pre-treatment of the test material is used to suppress the accompanying microflora and release mycobacteria from organic substrates. The existing methods of pre-treatment of the material under study with the use of acids and alkalis do not allow isolating weakly acid-fast mycobacteria. The

isolation of pure cultures of mycobacteria from environmental objects is very important because this significantly reduces the time to identify sources, possible risks and the ways of pathogen spreading. Based on the studies carried out, a method for isolating mycobacteria from forages was developed, including sampling and preparing the suspension, its decontamination with a 5% solution of Septustin in a ratio of 1:4 for 30 minutes, followed by centrifugation at 3000 rpm for 15 minutes, washing the sediment twice with sterile normal saline in the same regime and seeding on Levenstein-Jensen and Finn-2 media. The application of the proposed method provides the accelerated growth of mycobacteria in comparison with the traditional method by A. Alikaeva by 28.6-52.4%, an increase in the possibility of isolating pure cultures by 25%.

Лискова Елена Афанасьевна, к.в.н., вед. н.с., Научно-исследовательский ветеринарный институт Нечернозёмной зоны РФ, г. Нижний Новгород. Тел.: (831) 434-56-36. E-mail: tuber50@mail.ru.

Слинина Клавдия Николаевна, д.в.н., гл. н.с., Научно-исследовательский ветеринарный институт Нечернозёмной зоны РФ, г. Нижний Новгород. Тел.: (831) 434-56-36. E-mail: tuber50@mail.ru.

Гладкова Надежда Алексеевна, к.в.н., вед. н.с., Научно-исследовательский ветеринарный институт Нечернозёмной зоны РФ, г. Нижний Новгород. Тел.: (831) 434-56-36. E-mail: tuber50@mail.ru.

Liskova Yelena Afanasyevna, Cand. Vet. Sci., Leading Staff Scientist, Research Veterinary Institute of Non-Chernozem Zone of the Russian Federation, Nizhniy Novgorod. Ph.: (831) 434-56-36. E-mail: tuber50@mail.ru.

Slinina Klavdiya Nikolayevna, Dr. Vet. Sci., Chief Staff Scientist, Research Veterinary Institute of Non-Chernozem Zone of the Russian Federation, Nizhniy Novgorod. Ph.: (831) 434-56-36. E-mail: tuber50@mail.ru.

Gladkova Nadezhda Alekseyevna, Cand. Vet. Sci., Leading Staff Scientist, Research Veterinary Institute of Non-Chernozem Zone of the Russian Federation, Nizhniy Novgorod. Ph.: (831) 434-56-36. E-mail: tuber50@mail.ru.

Многие патогенные и потенциально патогенные микобактерии способны существовать и активно размножаться не только в организме хозяина, но и в объектах окружающей среды: в почве, воде, на растительных субстратах [1, 2]. В последние десятилетия увеличилось количество публикаций по проблемам контаминации продуктов питания микобактериями и их влиянии на здоровье животных и человека [3]. Микобактерии (преимущественно *M. avium*) выделены из проб салатов, латук-салата, грибов, других овощей, а также яблочного сока [4]. В работах российских и зарубежных учёных показано, что существует прямая корреляция между степенью контаминации микобактериями объектов внешней среды и числом животных, положительно реагирующих на туберкулин. По данным авторов, до 88% исследованных проб объектов окружающей среды содержали различные виды микобактерий. Чаще всего их выделяли из почв прифермских территории, проб сена, сенажа, силоса, травы пастбищных участков [5-7].

Известные в ветеринарной практике методы предпосевной обработки проб объектов внешней среды основаны на примене-

нии растворов кислот и щелочей, к которым патогенные микобактерии проявляют устойчивость. С этой целью широко применяются растворы серной, соляной, щавелевой кислот, гидроокись натрия. Такая «жесткая» обработка образцов уничтожает слабокислотоустойчивые (условно-патогенные и сапрофитные) микобактерии, которые часто являются причиной положительных туберкулиновых реакций у сельскохозяйственных животных, что, в конечном итоге, снижает качество и эффективность бактериологической диагностики.

Цель исследований – разработать метод выделения микобактерий из кормов.

Материалы и методы

Исследования по разработке метода выделения микобактерий из кормов проведены в лаборатории инфекционных и инвазионных болезней сельскохозяйственных животных ФГБНУ «НИВИ НЗ России». В работе использовали дезинфицирующее средство Септустин (изготовитель ООО «Уралстинол Био», Россия). Септустин обладает широким спектром действия в отношении возбудителей инфекционных болезней бак-

териальной (включая туберкулёз), вирусной и грибковой этиологии [8].

Объектами исследования являлись концентрированные корма, трава с пастбищ, силос, сено из хозяйств Нижегородской области. Пробы кормов отбирались в стерильные пакеты. С каждого объекта отбирались не менее 4 проб. Отбор проб проводился в соответствии с «Наставлением по диагностике туберкулёза» [9].

В лаборатории из каждой пробы готовилась навеска исследуемого материала, которая измельчалась, помещалась в ступку и заливалась физиологическим раствором при комнатной температуре на 20-30 мин. так, чтобы материал был покрыт раствором. Полученная масса пропусклась через 2-слойный марлевый фильтр. Каждая проба полученной суспензии делилась на 2 части (образца) объемом по 5 мл.

Первый образец подвергался обработке (деконтаминации) традиционным методом А.П. Аликаевой – 4%-ным раствором едкого натрия в экспозиции 15 мин. с последующей обработкой 10%-ным раствором соляной кислоты в экспозиции 15 мин., второй образец – двукратной деконтаминацией 5%-ным раствором Септустина в общей экспозиции 30 мин.

Деконтаминация растворами едкого натрия, соляной кислоты и Септустина исследуемого материала проводилась в соотношении 1 мл суспензии к 4 мл деконтаминанта. После деконтаминации исследуемый материал подвергался центрифугированию при 3000 об/мин. в течение 15 мин. (время центрифугирования входит в общую экспозицию воздействия деконтаминантов на суспензию), после центрифугирования надосадочная жидкость сливалась, осадок отмывался двукратно стерильным физиологическим раствором с помощью центрифугирования при том же режиме. Из осадка проводились посевы на среду Левенштейна-Йенсена и Финн-2. Посевы инкубировались в термостате при 37⁰С и просматривались в течение 90 дней на наличие роста колоний микобактерий.

На протяжении всего периода исследования по мере появления колоний готовились мазки с последующей окраской по Грамму и Цилю-Нильсену. Идентификация выделенных культур проводилась методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) на приборе Хромос ГХ 1000 [10]. В ходе исследования учитывали сроки появления роста, количество выделенных культур микобактерий.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследований проб кормов при разных методах предпосевной обработки представлены в таблице.

В посевах из проб концентрированных кормов, обработанных 5%-ным раствором Септустина, на 11-е сутки визуализировался рост желтых колоний, по методу Аликаевой – на 16-е сут. При окраске мазков по Цилю-Нильсену обнаружались тонкие палочки бледно-розового цвета, которые идентифицировались как *M.gordonae*. На хроматограммах отмечено отсутствие туберкулостеариновой кислоты (C₁₉ разв.), пик C₁₄ и C₁₄ разв. – двойной, полностью не разветвлённый.

Наличие роста культуры *M.gordonae* отмечено на 10-й день в посевах из проб силоса, деконтаминированных 5%-ным раствором Септустина и на 21-й день – традиционным методом.

Рост слизистых, блестящих колоний желтого цвета просматривался в посевах проб сена на 10-й, деконтаминированных 5%-ным раствором Септустина, и на 14-й день – по методу А.П. Аликаевой. По результатам окраски по Цилю-Нильсену, морфологическим признакам и жирнокислотному спектру клеток методом газожидкостной хроматографии микобактерии идентифицировали как *M.vacciae*. По хемотаксономическим характеристикам были четко выражены пики кислот с 17 и 19 атомами углерода и ненасыщенных жирных кислот с числом атомов углерода больше 20, преобладала бегеновая кислота C_{22:0}, пик C_{26:0} отсутствовал.

Таблица

Видовой состав и скорость роста микобактерий в посевах из проб кормов в зависимости от метода предпосевной обработки материала

№ п/п	Объекты	Метод обработки			
		метод А.П. Аликаевой		5%-ным р-ром Септустина, 30 мин.	
		рост, дн.	культура	рост, дн.	культура
1	Концентрированный корм	16	<i>M.gordonae</i>	11	<i>M.gordonae</i>
2	Силос	21	<i>M.gordonae</i>	10	<i>M.gordonae</i>
3	Сено	14	<i>M.vacciae</i>	10	<i>M.vacciae</i>
4	Трава с пастбища	–	–	25	<i>M.avium</i>

Рост бледно-желтоватых колоний визуализировался на 25-й день в посевах из проб травы с пастбищ, обработанных 5%-ным раствором Септустина. В мазках при окраске по Цилю-Нильсену обнаруживались мелкие тонкие кислотоустойчивые палочки и кокки. На хроматограммах пик $C_{26:0}$ отсутствует, высота пика $C_{24:0}$ значительно выше $C_{22:0}$, пик $C_{19:0}$ в значительном количестве, микобактерии идентифицировали как *M. avium*.

Заключение

Известные в ветеринарной лабораторной практике методы предпосевной обработки проб объектов внешней среды, основанные на применении растворов кислот и щелочей, не позволяют выделять слабокислотоустойчивые микобактерии, нередко являющиеся причиной положительных реакций у животных на туберкулин, что снижает качество и эффективность бактериологической диагностики.

Разработан метод выделения микобактерий из кормов, включающий подготовку навески и получение суспензии, ее деконтаминацию 5%-ным раствором Септустина в соотношении 1:4 в течение 30 мин., последующее центрифугирование при 3000 об/мин. в течение 15 мин., двукратное отмывание осадка стерильным физиологическим раствором с центрифугированием в том же режиме и высевы на среды Левенштейна-Йенсена, Финн-2. Применение предлагаемого метода обеспечивает ускорение роста микобактерий в сравнении с традиционным методом по А.П. Аликаевой на 28,6-52,4% и повышение возможности выделения чистых культур на 25%.

Библиографический список

1. Лабораторная диагностика туберкулёза / Т.В. Ванеева и др.; под ред. В.И. Литвинова, А.М. Мороза. – М.: МНПЦБТ, 2001. – 184 с.
2. Хоменко А.Г., Ерохин В.В. Современные представления о строении микобактерий туберкулёза // Микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1982. – № 12. – С. 33-40.
3. Kaevska M., Hruska K. Mycobacteria in water, feedstocks and food: analysis of publications // Veterinarni Medicina. – 2010. – Vol. 55. – P. 571-580.
4. Argueta C., Yoder S., Holtzman A.E., Aronson T.W., Glover N., Berlin O.G., Stelma G.N., Jr., Froman S., Tomasek P. Isolation and identification of nontuberculous mycobacteria from foods as possible exposure sources

// Journal of Food Protection. – 2000. – Vol. 63 (4). – P. 930-933.

5. Khol J.L., Beran V., Kralik P., Trckova M., Pavlik I., Baumgartner W. Grass silage contaminated with Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis (MAP): a possible source of paratuberculosis infection in ruminants? // Veterinarni Medicina. – 2010. – Vol. 55 (5). – P. 225-232.

6. Лысенко А.П., Высоцкий А.Э., Румачик И.И. Распространение микобактерий в благополучных по туберкулёзу хозяйствах // Ветеринария. – № 5. – 2003. – С. 19-21.

7. Галатова Л.В., Петров А.А. Выделяемость Л-форм микобактерий из биоматериала и объектов внешней среды в зоне Южного Урала // Ветеринарная патология. – 2005. – № 1 (12). – С. 84-86.

8. Наставление по применению препарата «Септустин» для дезинфекции объектов ветнадзора / Уралстинол. – БИО. – 2002.

9. Наставление по диагностике туберкулёза животных. – 2002. – 63 с.

10. Газохроматографический метод идентификации микроорганизмов возбудителей болезней животных: методические рекомендации. – Н. Новгород, 1993. – 40 с.

References

1. Laboratornaya diagnostika tuberkuleza / T.V. Vaneeva [i dr.]; pod red. V.I. Litvinova, A.M. Moroza. – M.: MNPTsBT, 2001. – 184 s.
2. Khomenko, A.G., Erokhin V.V. Sovremennye predstavleniya o stroenii mikobakteriy tuberkuleza // Zhurn. mikrobiologii, epidemiologii i immunologii. – 1982. – № 12. – S. 33-40.
3. Kaevska M., Hruska K. Mycobacteria in water, feedstocks and food: analysis of publications // Veterinarni Medicina. – 2010. – Vol. 55. – P. 571-580.
4. Argueta C., Yoder S., Holtzman A.E., Aronson T.W., Glover N., Berlin O.G., Stelma G.N., Jr., Froman S., Tomasek P. Isolation and identification of nontuberculous mycobacteria from foods as possible exposure sources // Journal of Food Protection. – 2000. – Vol. 63 (4). – P. 930-933.
5. Khol J.L., Beran V., Kralik P., Trckova M., Pavlik I., Baumgartner W. Grass silage contaminated with Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis (MAP): a possible source of paratuberculosis infection in ruminants? // Veterinarni Medicina. – 2010. – Vol. 55 (5). – P. 225-232.
6. Lysenko A.P., Vysotskiy A.E., Rumachik I.I. Rasprostranenie mikobakteriy v

blagopoluchnykh po tuberkulezu khozyaystvakh // Veterinariya. – 2003. – № 5. – S. 19-21.

7. Galatova, L.V., Petrov A.A. Vydelyaemost L-form mikobakteriy iz biomateriala i ob"ektov vneshney sredy v zone Yuzhnogo Urala // Veterinarnaya patologiya. – 2005. – № 1 (12). – S. 84-86.

8. Nastavlenie po primeneniyu preparata «Septustin» dlya dezinfektsii ob"ektov vetnadzora. Uralstinol. – BIO. – 2002.

9. Nastavlenie po diagnostike tuberkuleza zhivotnykh. – 2002. – 63 s.

10. Gazokhromatograficheskiy metod identifikatsii mikroorganizmov vzbuditeley bolezney zhivotnykh: metodicheskie rekomendatsii. – N. Novgorod, 1993. – 40 s.



УДК 619:614.48:567.8

Ю.В. Глазунов, Д.А. Девятков, И.В. Плотников
Yu.V. Glazunov, D.A. Devyatkov, I.V. Plotnikov

ПРИМЕНЕНИЕ ДЫМОВОЙ ШАШКИ «КЛИОДЕЗИВ» ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ НЕЗАРАЗНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СВИНЕЙ

THE USE OF SMOKE AGENT KLIODEZIW TO PREVENT NON-COMMUNICABLE DISEASES IN PIGS

Ключевые слова: помещение, животные, свиноводство, молодняк, заболеваемость, микрофлора, устойчивость, дезинфекция, клиодезив, сохранность.

Факторами, которые не позволяют отрасли свиноводства развиваться с большей интенсивностью, является заболеваемость животных, а особенно молодняка, который в большей степени восприимчив к возбудителям заболеваний, в том числе и условно-патогенных. Целью исследований явилось выявление причин выбытия свиноголовья в регионе и изучение эффективности дезинфекционного средства «Клиодезив», как вспомогательного, влияющего на заболеваемость и сохранность молодняка в свиноводческом предприятии ЗАО «Племзавод-Юбилейный». Анализ падежа свиней проводили на основании официальной ветеринарной отчетности за 2016 год. Экспериментальную часть работы выполняли на свиноводческом предприятии ЗАО «Племзавод-Юбилейный» в период с 2016 по 2017 гг. на поросятах возрастной группы «доращивание» (от 28 до 80 дней жизни). Всего в опыте задействовано 6334 гол. В результате проведенных исследований установлено, что 96,24% всех выбывших свиней составляет молодняк. Наиболее частыми причинами, вызывающими гибель поросят, являются болезни органов пищеварения – 41,23% и органов дыхания – 39,42%. Также регистрируют выбытие свиней вследствие нарушений обмена веществ у 16,62% и по причине травматизма – у 2,73%. Применение средства «Клиодезив», как дополнение к основной дезинфекции, в экспозиции 30 мин. на протяжении 23 дней на поросятах группы «доращивание» уменьшает уровень патогенной обсемененности воздуха в помещении в 2,2 раза, способствуя снижению заболеваемости молодняка свиней респираторными патологиями на 4,1%, желудочно-кишечными – на 0,8%. Применение дополнительной дезинфекции увеличивает

ет сохранность поголовья на 1,6%. Предотвращенный ущерб составил 255000 руб. за 23 дня наблюдения.

Keywords: pig house, animals, pig production, store pigs, morbidity, micro-flora, resistance, disinfection, Kliodeziw disinfectant, survival rate.

The factors that prevent the pig industry from developing with greater intensity include animal diseases, especially in young animals which is more susceptible to pathogens, including opportunistic pathogens. The research goal was to identify the reasons of pig mortality in the region and to study the effectiveness of Kliodeziw disinfectant as an auxiliary which affects the morbidity and survival of young animals at the pig breeding company ЗАО "Plemzavod-Yubileiniy". The analysis of pig mortality statistics was made according to the data of official veterinary reporting for 2016. The experimental part of the research was carried out at the ЗАО "Plemzavod-Yubileiniy" company in 2016 and 2017 with the pigs of the "growing" age group (28th to 80th days of life). Altogether, 6334 animals were involved in the experiment. It has been found that 96.24% of all fallen pigs were young pigs. The most frequent causes that cause pig mortality are diseases of the digestive system (41.23%) and respiratory organs (39.42%). The causes of pig mortality also include metabolic disorders (16.62%) and injuries (2.73%). The use of Kliodeziw as an addition to the main disinfection in 30 minutes' exposure for 23 days the pigs of the "growing" age group decreases the level of pathogenic air contamination in the pig house 2.2 times; this contributes to decreased incidence of respiratory pathologies by 4.1% and gastrointestinal pathologies by 0.8%. The use of additional disinfection increases animal survival by 1.6%. The prevented damage amounted to 255,000 rubles for 23 days of observation.