

Це зумовлено, на нашу думку, тим, що під час приготування фаршу зростає мікробне його забруднення внаслідок додаткового контакту з руками робочих та обладнанням, яке використовується для його приготування. КМАФАнМ у фарші також була дещо більшою, ніж у шматковому м'ясі. А от мікробне забруднення готових м'ясних продуктів було в 2–3 рази нижчим, порівняно з м'ясною сировиною. Це свідчить про те, що під час технологічної обробки (варіння, коптіння, запікання) відбувається знищення значної кількості мікрофлори.

Під час мікробіологічного дослідження у м'ясі та м'ясних продуктах не виявляли патогенних мікроорганізмів, що свідчить про дотримання технологічних режимів виробництва продукції, а також про дотримання умов та вимог щодо її перевезення і зберігання.

Аналіз бактеріологічного дослідження змивів з столів для розбирання м'ясних півтуш у м'ясному цеху показав, що бактеріальне обсіменіння обладнання в кінці робочої зміни було вдвічі вищим, ніж на початку роботи, та в 1,7 рази вищим, порівняно з серединою робочої зміни. Мікробна забрудненість повітря в середині робочої зміни зростала в 1,3 рази, а в кінці робочої зміни в 1,7 рази вищою, порівняно до показника мікробного забруднення на початку робочої зміни.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ:

1. Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості харчових продуктів: Закон України / Верховна рада України. Офіц. вид. К.: Парлам. Вид-во, 2014. 85 с. (Бібліотека офіційних видань).

2. Хімичева Г. І., Зенкін М.А., Скалига Т.М. Аналіз сучасних принципів і підходів до оцінки якості та безпечності харчової продукції / Вісник КНУТД. №6 (92), 2015. С. 156-163.

УДК 619.616.006.441.084

ЦАРЕНКО Т.М., канд. вет. наук

ЯРЧУК Б.М., канд. вет. наук

ДОВГАЛЬ О.В., канд. вет. наук

ШУЛЬГА П.Г., канд. вет. наук

Білоцерківський національний аграрний університет

ЗАСТОСУВАННЯ ПОЛІМЕРАЗНОЇ ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ У СИСТЕМІ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ СТІЙКОГО БЛАГОПОЛУЧЧЯ СТАДА ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ЩОДО ЛЕЙКОЗУ

Лейкоз великої рогатої худоби є актуальною проблемою ветеринарної медицини України. Нині спостерігається збільшення кількості виявлених інфікованих тварин та неблагополучних господарств, що ймовірно пов'язано із підвищенням ефективності діагностики в результаті поширення ІФА-діагностики на більшість поголів'я сільськогосподарських підприємств. У науково-дослідній лабораторії новітніх методів (ІФА та ПЛР) БНАУ апробована методика діагностики лейкозу ВРХ методом полімеразної ланцюгової реакції з електрофоретичною детекцією. Метод ПЛР дозволяє виявляти інфікованих вірусом лейкозу великої рогатої худоби тварин віком до 6 місяців, що забезпечує виключення їх із епізоотичного процесу та прискорення оздоровлення стада. В оздоровлених методом ІФА господарствах серед молодняку до 6-місячного віку методом ПЛР виявляли 11-15 % інфікованих тварин. Рекомендується на заключних етапах оздоровлення перевіряти молодняк методом ПЛР з інтервалом 2 місяці та негайно вилучати інфікованих вірусом лейкозу ВРХ тварин із стада.

Ключові слова: велика рогата худоба, лейкоз, ІФА, ПЛР, молекулярна діагностика

Лейкоз великої рогатої худоби (ензоотичний лейкоз ВРХ, *Enzootic bovine leukosis – EBL*) є хронічним інфекційним захворюванням великої рогатої худоби, збудником якого є онкогенний вірус сімейства *Retroviridae* – вірус лейкозу ВРХ (ЛВРХ). Хвороба характеризується порушенням дозрівання клітинних елементів крові, злоякісним ростом гемопоетичних і лімфоїдних тканин, утворенням пухлин в різних органах, що призводить до дисфункції різних

органів і системи організму. Як правило, розвиток клінічних знаків в близько 5,0% заражених тварин починаються через кілька років після зараження і розвивається у великої рогатої худоби віком старше 2-3 років. Через це, велика рогата худоба лейкоз в основному проявляються у вигляді субклінічної інфекції (Berg та ін., 2015).

Методи діагностики лейкозу великої рогатої худоби в Україні регламентовані Інструкцією з профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу (<https://zakon.rada.gov.ua> – Документ z0012-08) та відповідають стандарту МЕБ (ОІЕ. Enzootic bovine leukosis: ОІЕ Terrestrial manual. 2018.).

За інформацією Держпродспоживслужби, яка розміщена на офіційному сайті <http://www.consumer.gov.ua>, кількість неблагополучних пунктів щодо лейкозу ВРХ тварин у 2015 році становила 6, у 2016 – 3, у 2017 – 15, у 2018 – 10, у 2019 – 25, а на початок 2020 року – 15. Спостерігається тенденція до збільшення кількості неблагополучних пунктів останні кілька років.

Нині в Україні реєструється невелика кількість випадків лейкозу, порівняно періодом 20-30-річної давнини. Протягом 1994-2019 в Україні були виявлені близько 4 мільйонів тварин хворих на лейкоз великої рогатої худоби у 8 тисячах неблагополучних господарствах. Завдяки системі діагностичних та профілактичних заходів протягом 1994-2019 років 10519 господарств були оздоровлені. Показники інфікованості і неблагополуччя почали швидко знижуватися після 2007 року, після широкого впровадження серологічної діагностики та зміни підходу до поводження з серопозитивними тваринами. З 2008 року по 2019 рік включно, показник інфікованості поголів'я ВРХ в Україні був менше 1,0%, а після 2012 року не більше 0,1%.

На нашу думку збільшення кількості неблагополучних пунктів за останні роки пов'язано із впровадженням діагностики лейкозу методом ІФА в усіх сільськогосподарських підприємствах. Якщо у 2015-2017 роках було виконано 8-9 тис. досліджень ІФА на рік, то у 2018 році методом ІФА дослідили 46,6 тис., а у 2019 році – 858,3 тис. голів великої рогатої худоби.

Ми проводили дослідження у Науково-дослідній лабораторії новітніх методів (ІФА та ПЛР) упродовж 2018-2020 років з використанням методів ІФА та ПЛР. Зазначені методи використовували у науково-обґрунтованій системі забезпечення стійкого благополуччя стада великої рогатої худоби щодо лейкозу з використанням та ефективних схем профілактики. Результати досліджень стад великої рогатої худоби сільськогосподарських господарств методом ІФА за період 2017-2020 років (близько 30 господарств) вказують на те, що в більшості неблагополучних господарств серопозитивність становить до 5,2 %, хоча і коливається від 0,8% до 48,2 %.

У більшості господарств система оздоровлення базувалась на своєчасній діагностиці лейкозу великої рогатої худоби методом ІФА та швидкому вилученні серопозитивних тварин із стада. Але навіть за високоефективної серологічної діагностики в стаді залишаються недослідженими тварини віком до 6 місяців. Господарські потреби спонукають використовувати молодняк в господарстві для ремонту стада великої рогатої худоби. Це створює ризики повторного занесення вірусу лейкозу у оздоровлене стадо та підкреслює важливу роль молодняка у епізоотичному процесі на фінальних етапах оздоровлення неблагополучних господарств.

Для діагностики лейкозу великої рогатої худоби у молодняка віком до 6 місяців ми використовували полімеразну ланцюгову реакцію з електрофоретичною детекцією. ДНК вірусу лейкозу ВРХ виділяли з цільної крові стабілізованої 5% ЄДТА (1:10) колоночним

методом за допомогою комерційного набору QIAamp® cadof® Pathogen Mini. В лабораторії був оптимізований ПЛР-протокол з використанням вітчизняних наборів реактивів для ампліфікації NeoGene HOT X2 Mix. Використовували олігонуклеотидні праймери запропоновані Camargos et al. (2003), а саме Forward – BLV1 5'-GGGCCATGGTCACATATGATTG-3' (5128-5149) та Revers – BLV2 5'-CGTTGCSTTGAGAAACATTTGAAC-3' (5627-5649). Обрані праймери фланкують ділянку Env-гену провірусу лейкозу довжиною 521 п. н. Програма ампліфікації була наступною: 95 °С – 7 хв, (95 °С-30 сек., 52 °С-30 сек., 72 °С-30 сек.) – 35 циклів, 72 °С – 7 хв. Детекцію проводили шляхом електрофорезу у 2% агаровому гелі, забарвленому етидію бромідом, з наступною фотофіксацією в ультрафіолетовому світлі на транслюмінаторі. У якості позитивного контролю використовували ДНК від ІФА-позитивної корови.

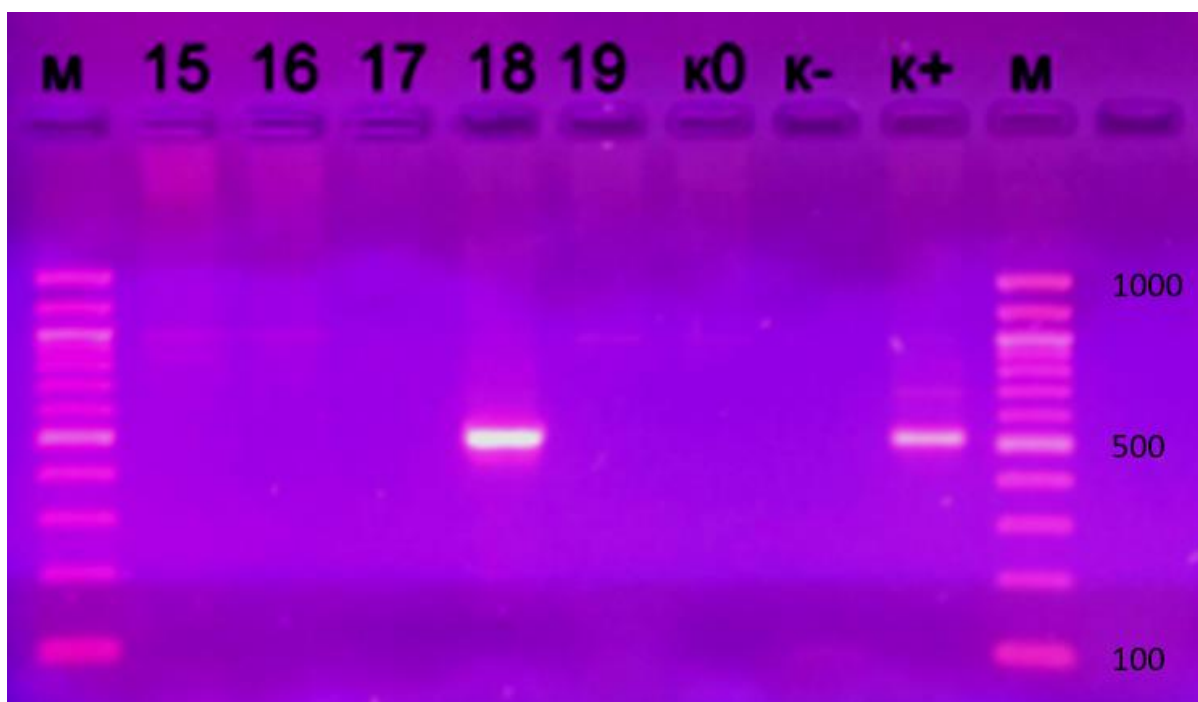


Рис. 1. Електрофоретична детекція продуктів ампліфікації ПЛР дослідження на лейкоз ВРХ.

M-маркер молекулярної маси від 100 до 1000 п.н. з кроком у 100 п.н., 18-позитивна досліджувана проба, 15-17 та 19 – негативні досліджувані проби, k0 – негативний контроль виділення, k- – негативний контроль ампліфікації, k+ – позитивний контроль ампліфікації

У оздоровлених господарствах, у яких все поголів'я великої рогатої худоби було ІФА-негативним, серед молодняка молодшого за 6 місяців методом ПЛР виявляли 11-15 % інфікованих тварин.

Отже, діагностика лейкозу методом ПЛР може бути використана на фінальних стадіях оздоровлення неблагополучних господарств для виявлення інфікованих тварин молодших за 6 місяців. Виявлення та вилучення із стада таких тварин дозволяє значно прискорити оздоровлення неблагополучних стад та попередити повторне занесення вірусу в доросле стадо.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ:

1. Berg, C. Enzootic bovine leukosis. EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW) / Bøtner, A., Browman, H., De Koeijer, A., Depner, K., Domingo, M., Ducrot, C., Edwards, S., Fourichon, C., Koenen, F., More, S., Raj, M., Sihvonen, L., Spooler, H., Stegeman, J. A., Thulke, H.-H., Vågsholm, I., Velarde, A., & Willeberg, P. // EFSA Journal.– 2015.– 13(7).– P. 4188-4251.
2. Camargos, M. F. Development of a polymerase chain reaction and its comparison with agar gel immunodiffusion test in the detection of bovine leukemia virus infection // Desenvolvimento de uma reação em cadeia pela polimerase e comparação com a imunodifusão em gel de agar na.–2003.– Vol. 2. – P. 341-348.