

2. ДНАОП 2.1.29.1.03-99 Правила охорони праці в лабораторіях ветеринарної медицини. Державний нормативний акт про охорону праці, Київ, 1999, 62с.;
3. ГОСТ 12.1.008-76 ССБТ. Биологическая безопасность. Общие требования (ССБП. Біологічна безпека. Загальні вимоги);
4. Стегній Б.Т. Проблеми біологічної безпеки та біологічного захисту у ветеринарній медицині та біотехнології [Текст]/ Стегній Б.Т., Герілович А.П., Ібатулін І.І та ін./під ред.. Стегнія Б.Т. – Харків, «НТМТ», 2013. - 414с.
5. Практическое руководство по биологической безопасности в лабораторных условиях [Текст]/Изд-е 3-е, рус.- ВОЗ – 2004.-190с.
6. С. Williams Biosafety in Small Establishments // Math. Canadian ABSA branch meeting, Winnipeg 4-9.06.2010.- P.122-131/
7. American biosafety association [el. source] / 2010- title form the screen [http://www.absa.org/abohist1.html].

MODERN PROBLEMS AND BIOSAFETY BASES DURING THE WORK WITH CAUSATIVE AGENTS OF INFECTIOUS DISEASES IN VETERINARY MEDICINE

Danilova I.S.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkov

Such branch, as biological safety is engaged in overcoming of the problems connected with bioindustrial, laboratory, food and other biorisks. Biological safety (biosafety) is a system of the prevention of large-scale losses for the live systems, directed on preservation of ecological equilibrium and health of the person.

According to classification of groups of pathogens of VOOZ there are 4 types of virus infections: groups of risk 1, 2, 3 and 4. Pathogens of the bacterial nature share on 4 groups of risk (group of pathogenicity). Group activators I, and conditionally pathogenic IV are the most dangerous.

Laboratories have to have necessary documentation which characterizes its work: documentation on laboratory; organizational and administrative documentation - orders, instructions and other documents which regulate laboratory activity; standard documentation which regulates requirements to objects of researches and methods of researches; documentation on system of ensuring quality of researches; documents on the equipment and means of measuring equipment; documentation on the laboratory personnel; primary registration and reporting documentation.

Thus, it should be noted that problems of biological safety get the increasing relevance, and prospects of their decision or reduction of threat depend on level of scientific and methodical providing therefore this direction has to become priority for modern science.

Keywords: biosafety, bioprotection, veterinary medicine, infectious diseases.

УДК 636.085/.087:57.083.1:543.4

МІКРОСКОПІЧНА ІДЕНТИФІКАЦІЯ, ЯК МЕТОД ПРОФІЛАКТИКИ ГУБКПОДІБНОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ

Ривак Г.П.

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів, e-mail: ppg1@ukr.net

Представлено метод мікроскопічної ідентифікації для виявлення потенційного джерела пріонних інфекцій – компонентів тваринного походження, а саме кров'яного борошна, також ідентифікація його у кормах для тварин за допомогою стерео- та біологічного мікроскопів при різних діапазонах збільшення у прохідному та поляризованому світлі із застосуванням об'ємного реагенту – гліцерину.

Ключові слова: мікроскопічна ідентифікація, компоненти тваринного походження, пріонні інфекції, губкоподібна енцефалопатія, седиментація, флотат

Уперше гіпотезу, щодо виникнення та поширення губкоподібної енцефалопатії (ГЕ) пов'язане із згодовуванням тваринного борошна (кісткового, м'ясо-кісткового, кров'яного тощо), було опубліковано у Великій Британії ще в 1988 році. Дослідженнями доведено, що основним шляхом потрапляння збудника ГЕ в організм ВРХ та інших тварин є пероральний – при поїданні тваринного борошна, чи інших продуктів тваринного походження. Тому, належний контроль за кормами та кормовою сировиною, яка додається до складу комбікормів, є важливою ланкою у запобіганні розповсюдження такої небезпечної пріонної інфекції тварин і людей, як губкоподібна енцефалопатія [1].

Вимоги, правила та порядок проведення аналітичного методу мікроскопічної ідентифікації компонентів тваринного походження в ЄС до 2009 року були встановлені директивою 2003/126 від 23 грудня 2003. У 2009 році в ЄС було введено в дію розпорядження 152/2009 від 27.01.2009 р. стосовно методів контролю, які необхідно проводити при державному контролі кормів, у тому числі, і аналітичного методу мікроскопічної ідентифікації [2]. В Європейському Союзі цей метод є арбітражним методом

контролю кормових матеріалів, особливо при виявленні тканин тваринного походження, оброблених при високих температурі і тиску ($133^{\circ}\text{C}/3\text{ Bar}/20'$) [3].

Наказом від 4.09.2008 р. № 180 Державним комітетом ветеринарної медицини України було затверджено «Інструкцію щодо діагностики, профілактики та боротьби з губчастоподібною енцефалопатією великої рогатої худоби», в якій зазначено необхідність здійснення спеціалістами ветеринарної медицини безперервного епізоотологічного моніторингу ГЕ ВРХ щодо: кормів, комбікормів, кормових добавок, сировини, які містять білки жуйних тварин і компоненти тваринного походження. Для профілактики цього захворювання державні лабораторії ветеринарної медицини зобов'язані проводити дослідження кормів, комбікормів та кормових добавок для тварин (крім птиці та риби) на наявність у них білків жуйних та компонентів тваринного походження.

На виконання даного наказу в лабораторії контролю кормових добавок та преміксів ДНДКІ ветпрепаратів і кормових добавок адаптовано та впроваджено комплекс лабораторних методів досліджень кормів, кормових добавок, сировини та продуктів тваринного походження щодо виявлення у їх складі недозволених компонентів тваринного походження та тканин жуйних.

Аналітичний метод мікроскопічної ідентифікації, який впроваджено в лабораторії, полягає у виявленні перероблених компонентів тваринного походження у кормах, кормових добавках і кормовій сировині на основі їх морфологічних характеристик та гістологічних ознак.

Одним із компонентів тваринного походження, яке є потенційним джерелом пріонних інфекцій, і часто застосовується у складі комбікормів для балансування їх поживності є кров'яне борошно, що виготовляється з крові тварин з додаванням 5 % кісток [4]. Це найбагатший протеїном корм. У ньому міститься від 73 % до 81 % протеїну, 3–5 % жиру, 9–11 % вологи. Однак, протеїн кров'яного борошна невисокої якості, він бідний метіоніном, ізолейцином, гліцином. Дещо нижча вартість кров'яного борошна стає приводом для фальсифікації ним високобілкової сировини і додавання його у корми для тварин з метою балансування раціонів за вмістом протеїну.

Мета роботи. Метою нашої роботи було впровадити аналітичний метод мікроскопічної ідентифікації компонентів тваринного походження для подальшого їх виявлення у кормах, як потенційного джерела розповсюдження ГЕ.

Матеріали та методи. Аналітичний метод мікроскопічної ідентифікації використовується для виявлення компонентів тваринного походження (визначених як продукти переробки тіл або частин тіл ссавців, птиці та риби) у кормах, кормових добавках і кормовій сировині [5]. Виконується за допомогою дво-ступеневої мікроскопічної ідентифікації з використанням біологічного та стереомікроскопів при різних діапазонах збільшення, у прохідному та темному полі з використанням об'ємних реагентів, реактивів забарвлення та знебарвлення та цифрової камери з системою обробки зображення [6].

Для проведення досліджень та вивчення макро- і мікроскопічних характеристик було взято зразки кров'яного борошна, а також приготовано зразки рибного борошна і комбікорму з його вмістом для ідентифікації методом мікроскопії. У ситових фракціях технікою мікроскопії передбачено просіювання проби через сита лабораторні і отримання щонайменше двох фракцій ($> 0,5\text{ мм}$ та $< 0,5\text{ мм}$).

Після проведення седиментації (розділення) за допомогою тетрахлоретилену, з отриманого осаду і флотату готують мікропрепарати: на предметне скло шпателем наносять невелику кількість, відповідно приготованої досліджуваної проби, додають 3–4 краплі гліцерину або парафінової олії (об'ємний реагент) і розглядають під біологічним мікроскопом при різних діапазонах збільшення.

Результати роботи. Кров'яне борошно в залежності від способу отримання, навіть без застосування реактивів і будь-якої обробки, має специфічний зовнішній вигляд, а також має характерні особливості при розгляді під стерео- та біологічним мікроскопами.

Кров'яне борошно при розгляді під стереомікроскопом, має вигляд порошку темно-червоного або чорного кольору з нерегулярними фрагментами (грудочками).

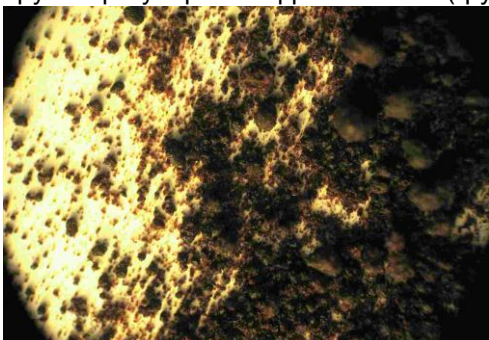


Рис. 1. Кров'яне борошно (стереомікроскоп, 4x)

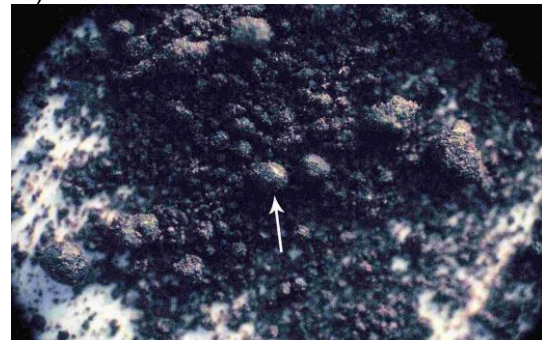


Рис. 2. Кров'яне борошно (стереомікроскоп, 7x) стрілочкою вказано кулястий фрагмент

Також, кров'яне борошно може мати вигляд червоно-чорного пилу, а при розгляді під стереомікроскопом – дрібно-дисперсного порошку матового темного червоно-чорного кольору (Рис. 1) з кулястими фрагментами (Рис. 2). Дослідження кров'яного борошна під стереомікроскопом проводилися без застосування реактивів, при різних збільшеннях.

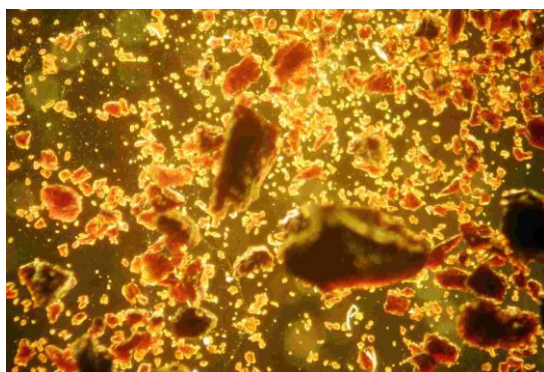


Рис. 3. Кров'яне борошно (біологічний мікроскоп, гліцерин, 10х)

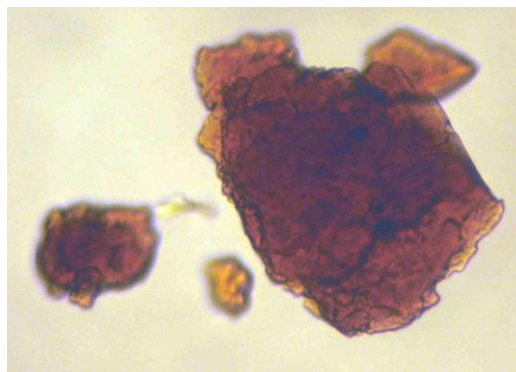


Рис. 4. Кров'яне борошно (біологічний мікроскоп, гліцерин, 40х)

На рисунках 3 і 4 показано, який вигляд має кров'яне борошно під біологічним мікроскопом при застосуванні об'ємного реактиву – гліцерину в різних діапазонах збільшення у прохідному та поляризованому світлі.

Під біологічним мікроскопом у мікропрепараті з гліцерином кров'яне борошно має вигляд нерегулярних склеєних часточок темно-червоного кольору. Окрім фрагментів крові, у кров'яному борошні при огляді мікропрепаратів, приготованих з фракції осаду в гліцерині, під біологічним мікроскопом можна виявити фрагменти кісток (Рис. 5).

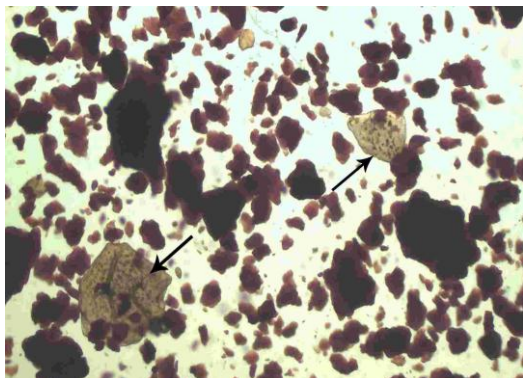


Рис. 5. Кров'яне борошно (біологічний мікроскоп, 5х) - стрілочкою вказано фрагменти кісток ссавців

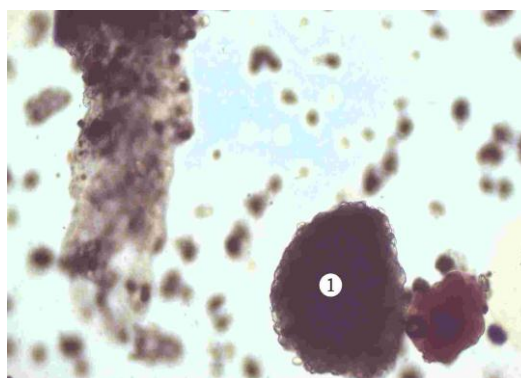


Рис. 6. Кров'яне борошно в комбікормі (біологічний мікроскоп, 10х, гліцерин) 1-фрагменти кров'яного борошна

Після проведення седиментації наважки зразка комбікорму згідно з методикою, було приготовано мікропрепарати із застосуванням гліцерину. При розгляді цих мікропрепаратів під біологічним мікроскопом при збільшенні 10х10 у комбікормі для свиней виявлено фрагменти кров'яного борошна (Рис. 6).

Зразок рибного борошна також було приготовано згідно з методикою, і при розгляді мікропрепаратів із застосуванням гліцерину при різних діапазонах у прохідному світлі виявлено фрагменти кров'яного борошна (Рис. 7 і 8).

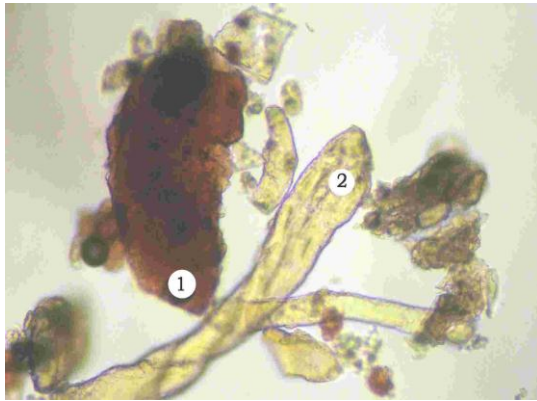


Рис. 7. Кров'яне борошно в рибному (біологічний мікроскоп, гліцерин, 20х)
1-фрагмент крові; 2-м'язове волокно риби



Рис. 8. Кров'яне борошно в рибному борошні (біологічний мікроскоп, гліцерин, 10х)
1-фрагменти крові; 2-м'язове волокно риби

Крім кров'яного борошна у полі зору мікроскопа видно фрагменти м'язових волокон риб.

Для отримання достовірних результатів нами було досліджено по три мікропрепарати кожної фракції отриманої після седиментації ($M \pm m$, $n=3$). В усіх мікропрепаратах виявлено фрагменти крові та зроблено висновок, що рибне борошно та комбікорм для свиней містять у своєму складі кров'яне борошно.

У подальшому, для встановлення видової приналежності кров'яного борошна застосовують метод ПЛР (полімеразної ланцюгової реакції), що базується на виділенні з корму специфічної для певного виду тварин ДНК, її ампліфікації з наступною ідентифікацією за допомогою електрофорезу та відеосистеми обробки зображення.

Висновки та перспективи подальших досліджень. Метод мікроскопічної ідентифікації компонентів тваринного походження дозволяє виявляти у складі рибного борошна та комбікормів кров'яне борошно, та може застосовуватися для виявлення фальсифікації кормів, що має важливе значення для попередження виникнення пріонних інфекцій у тварин. У подальшому дослідження будуть спрямовані на ідентифікацію пір'яного борошна у складі комбікорму та рибного борошна.

Список літератури

1. Krzysztof Kwiatek, Monika Przenioslo, Anna Weiner. «Przewodnik do metody mikroskopowej wykrywania przetworzonego bialka zwierzecego w srodkach zywienia zwierzat». Pulawy, 2004. – s.
2. Commission Regulation (EC) No 152/2009 of 27 January 2009 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of feed Text with EEA relevance/ Official Journal L 054 , 26/02/2009. – P. 0001 – 0130.
3. Krzysztof Kwiatek. Krajowy plan kontroli urzedowej pasz jako wazny element w systemie zapewnienia bezpieczenstwa surowcow zywnosciowych pochodzenia zwierzecego // Pasze przemyslowe, Pulawy. NR 10-12/2010. – S. 29-33.
4. Ривак Г. П. Комплексні дослідження рибного борошна на предмет його фальсифікації/ Міжвідомчий тематичний науковий збірник «Птахівництво». 2013. – Харків. Вип. 69. – С. 276-281.
5. Коцюмбас І. Я., Левицький Т. Р., Ривак Г. П., Шарій Т. І. Виявлення кров'яного борошна у кормах для тварин // Науково-тех. бюлетень Інституту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. 2011. Вип.12, № 1, 2. – С. 138-143.
6. «Мікроскопічна ідентифікація компонентів різного походження в кормах, кормових добавках та кормовій сировині» / І. Я. Коцюмбас, Г. П. Ривак, Т. Р. Левицький і ін. / Методичні рекомендації у вигляді ілюстрованого каталогу. Львів, ТОВ «Видавчий дім «САМ», 2012 р. – 127 с.

MICROSCOPIC IDENTIFICATION AS METHOD OF PREVENTION OF BOVINE SPONGIFORM ENCEPHALOPATHY (BSE)

Ryvak H.P.

State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additive, Lviv

The aim of our work was the introduction of analytical method of microscopic identification of components of animal origin with further detection in feeds as a potential source of Bovine spongiform encephalopathy (BSE).

The analytical method of microscopic authentication is executed by means of two-step microscopic identification with the usage of stereo- and biological microscopes at different ranges of increasing in the transmitted light and dark field with polarized illumination. The technique of microslides with volume reagents (glycerin or paraffin oil) and also with the reagents of staining were used. The visualization is conducted by means of digital video camera equipped by the system of image treatment.

For conducting of research and studying of macro- and microscopic descriptions a blood flour was brought into the samples of fish flour and compound feeds, sieved through shallow and large fractions, sedimentation was conducted using tetrachloroethylene.

The prepared microslides in glycerin were examined by means of stereo- and biological microscopes in the transmitted light and dark field with polarized illumination.

The blood flour looks like finely dispersible powder of dark red black colour with the spherical embeddings (phot. 1, 2).

Under microscope blood flour in glycerin is of red color in the form of fragments of different size and of irregular-shape edges (phot. 3, 4). When viewed under the microscope slides are biological with glycerol blood meal has the form as irregular particles glued dark red color. Besides fragments of blood, when considering micropreparations prepared with pellet fraction in glycerol, under biological microscope can detect bone fragments mammals (photo 5). The fragment of blood flour in compound feed is detected by means of increasing 10x10 (phot. 6).

In the sample of fish flour the blood cells and muscular fibres were also detected.

Analyzing the results of research it is possible to make a conclusion that the method of microscopic identification allows to determine the presence of blood flour in composition a fish flour and compound feed and also to identify the components of animal origin that have an important value for prevention of prion infections in animals.

Keywords: microscopic identification, components of animal origin, prion_infection, Bovine spongiform encephalopathy (BSE), sedimentation.

УДК 638.15 (075.32)

ЭМЕРДЖЕНТНЫЕ БОЛЕЗНИ ПЧЕЛ

Руденко Е.В.

Институт животноводства, г. Харьков

Руденко Е.П.

Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», г. Харьков, e-mail: lab.biochem.iekvm@mail.ru

Возникновение опасных (эмерджентных) болезней медоносных пчел, таких как коллапс пчелиной семьи, обусловлено множеством причин. Это комплекс ассоциированных факторов, а не конкретное заболевание, который связывает одновременно действие вновь появляющихся (эмерджентных) патогенов и факторов окружающей среды (пестициды, ГМ-растения и др.). Синергизм действия вирусов, бактерий и паразитов одновременно с химическими факторами (инсектициды, фунгициды) вызывает иное течение эпизоотий пчел в ареале их обитания.

Ключевые слова: медоносные пчелы, эмерджентные болезни пчел, коллапс пчелиной семьи, окружающая среда.

Тысячи видов пчел обитают на планете, но только два вида пчел занимают важное место в жизни человека, это европейская пчела – *Apis mellifera* и азиатская пчела – *Apis cerana*.

Пчелы, подобно животным и человеку восприимчивы к бактериям, вирусам и паразитам. И особенности проявления этих заразных болезней пчел полностью совпадают с законами эпизоотологии и эпидемиологии.

Все пчелы чувствительны к заразным заболеваниям, но некоторые популяции проявляют большую устойчивость, чем другие. Особенностью проявления инфекционного процесса в пчелиной семье является то, что пчелиную семью нужно рассматривать как целостный биологический организм, состоящий из взрослых особей, матки и разновозрастного расплода. Указанные биологические составляющие пчелиной семьи имеют возрастную устойчивость к заразным заболеваниям и различную чувствительность к возбудителям этих болезней [1].

Целью данной работы было проанализировать особенности и факторы, способствующие развитию так называемых «эмерджентных» болезней пчел.

Материалы и методы. Был проведен эпизоотологический анализ и обобщены литературные данные относительно особенностей и факторов, которые способствуют развитию эмерджентных болезней пчел.

Результаты работы. Понятие «эмерджентные болезни» (emerging infectious bee diseases) трактуется в современной эпизоотологии, как «вновь возникающие» заразные болезни. Последние данные о «чуме пчел XXI века» – коллапсе пчелиной семьи, заставляют по новому посмотреть на старые (известные), вновь появляющиеся и будущие заразные болезни пчел.

Пчелы, как и люди, страдают от вспышек эпизоотий инфекционных болезней различной этиологии. Пример: бубонная чума человека, которая передавалась вшами и блохами от крыс (переносчиков возбудителя болезни) к человеку. Аналогичная картина просматривается и в схеме