

Таблица 1 – Результаты проведенных исследований

№ пробы	Бактерии разных групп			
	ОМЧ	БГКП	<i>Salmonella</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Проба №1 – Wrigley's Five React (ригли файв реакт фрукты)	–	–	–	–
Проба №2 – Orbit White (орбит освежающий)	–	–	–	–
Проба №3 – Dirol sweet gum (дирол с житким центром)	2x10	–		

По результатам исследований установлено, что исследуемые пробы соответствуют нормативным показателям и практически совсем не содержат микроорганизмов.

#### Библиографический список

1. Большая энциклопедия Кирилла и Мефодия. Москва 2006.
2. О. Остапчук . Детская энциклопедия: Шоколад. – ЗАО «Аргументы и факты – детям», 2002 – 63 с.
3. Справочник «Санитарные правила и нормы СанПин» по пищевым добавкам».
4. Я познаю мир: Детская энциклопедия: История вещей/ Составители Н. Ю. Буянова и др. - М.: ООО «Издательство АСТ – ЛТД», 1998 – 480 с.
5. Журнал «Не болей» №1, 2005
6. Журнал «Здоровье» № 7, 2004.
7. Электронная энциклопедия «Кругосвет»
8. <http://www.portfolio.festival.ru>

#### MICROBIOLOGICAL STUDY CHEWING GUM

Chihranova O.V., Makarov E.N., Talanova A.A., Pulcherovskaya L.P.

Article presents data on the microbiological studies chewing gum.

УДК 619:614.31

#### ВЕТЕРИНАРНО - САНИТАРНАЯ ОЦЕНКА КОЗЬЕГО МОЛОКА ПРИ АРТРИТЕ-ЭНЦЕФАЛИТЕ КОЗ

Лаптева Н.Д., 5 курс ветеринарный факультет

Научные руководители: Барышникова Е.И., младший научный сотрудник лаборатории Биофизики ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии,  
Мерчина С.В., к.б.н., Научно-исследовательский инновационный центр микробиологии и биотехнологии ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА»

В настоящее время увеличилась потребность населения в козьем молоке, что объясняется рядом причин. По сравнению с коровьим, козье молоко содержит в 6 раз больше кобальта, который входит в состав витамина В12. Также в нем содержится много калия, роль которого особенно велика в

деятельности сердечно-сосудистой системы. Современные исследования доказали эффективность козьего молока при заболеваниях кожи (экземах), болезнях суставов, остеопорозе, желчно-каменной болезни, фибромиоме, бронхиальной астме, мигрени, бессоннице.

Однако следует помнить, что молоко, полученное от больных животных, может являться источником заражения человека зооантропонозными болезнями, такими как бруцеллёз.

В нормативной документации козье молоко исследуют на такие заболевания, как лейкоз и бруцеллёз, но нет данных по экспертизе козьего молока на наличие возбудителя артрита-энцефалита коз. Хотя данное заболевание представляет серьезную проблему для животноводства в связи со скрытым течением, летальным исходом, отсутствием средств лечения и профилактики.

Артрит-энцефалит коз – это вирусная болезнь, известная также как лейкоэнцефаломиелит-артрит коз, характеризующаяся синдромом с развитием демиелинизирующего энцефалита, прогрессирующего артрита, интерстициальной пневмонии и интралобулярных маститов.

В связи с вышеизложенным, целью нашей работы являлось выявление генома вируса артрита-энцефалита коз в пробах козьего молока.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. выявление генома вируса артрита-энцефалита коз с помощью ПЦР с электрофоретической детекцией;
2. определение нуклеотидных последовательностей генома изолятов вируса артрита-энцефалита коз, выделенных из проб козьего молока;
3. выявление генома вируса артрита-энцефалита коз с помощью ПЦР в режиме реального времени.

Нами было исследовано 6 проб козьего молока, полученные из хозяйств Тверской области.

### **Результаты исследования**

Выделение нуклеиновых кислот проводили по модифицированной методике Boom с соавторами (метод нуклеосорбции на силикагеле). Исследования по выявлению генома вируса артрита-энцефалита коз осуществляли при помощи «Набора препаратов для выявления генома лентивирусов мелких жвачных методом полимеразной цепной реакции», разработанного в ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии.

Программа ПЦР с электрофоретической детекцией для идентификации вируса артрита-энцефалита коз проводилась с использованием следующих оптимальных режимов

94°C	–	3 мин	} 35 циклов
94°C	–	20 сек	
50°C	–	20 сек	
72°C	–	20 сек	
72°C	–	5 мин	

Амплификацию проводили в 25 мкл реакционной смеси на приборе PalmCycler.

Анализ ПЦР-продуктов осуществляли при помощи электрофореза в 2,0 % агарозном геле, содержащем трис-боратный буфер с 0,001 % бромистого этидия. Результаты электрофореза учитывали на трансиллюминаторе в ультрафиолетовом свете с длиной волны 254 нм. Амплифицированные фрагменты ДНК выявлялись в виде светящихся оранжевых полос в треках с исследуемыми образцами относительно фрагмента в пробе положительного контроля. С помощью маркера молекулярной массы (Fermentas, Латвия) вычисляли размеры исследуемых фрагментов ДНК. Для сохранения результатов реакции использовали геледокументирующую систему (Bio-Rad, США).

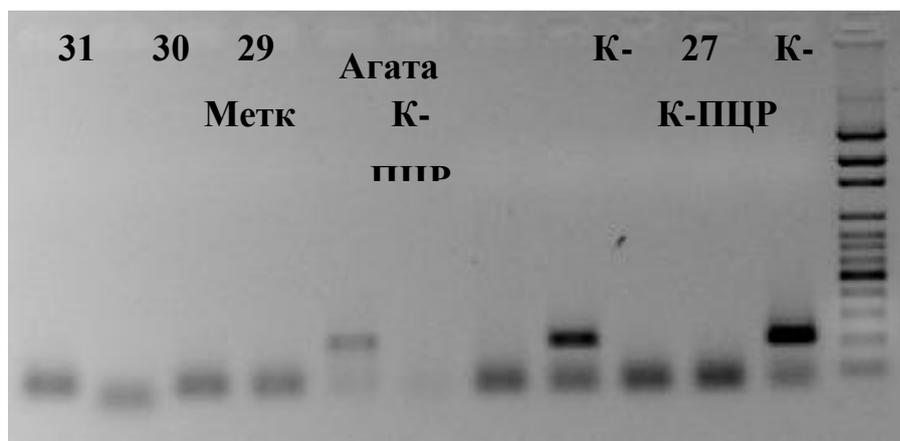


Рис.1 Электрофореграмма проб молока: 31,30,29, 27, Метка, Агата – пробы козьего молока, К- отрицательный контроль, К-ПЦР- отрицательный контроль ПЦР, К+- положительный контроль, М- маркер молекулярного веса

Специфический продукт амплификации имеет размер 213 п.о., фланкирующий участок env-гена (рис.1).

В результате проведения ПЦР с электрофоретической детекцией нами были выявлены 2 положительные пробы: №27 и Агата.

Для анализа первичной последовательности продуктов, амплифицируемых в ходе ПЦР, использовали метод нуклеотидного секвенирования. Для этого ПЦР-продукт был вырезан из геля и очищен с помощью набора QAIGEN. Определение состава фрагментов проводили на приборе Applied Biosystem с набором компонентов BigDye Terminator kit (Applied Biosystem, США).

Полученные последовательности участков генома сравнивали с известными геномами, представленные в базе данных GenBank при помощи программы Blast.

Установленный состав нуклеотидных последовательностей участков env-гена размером 213 п.о. подтвердил наличие вируса артрита-энцефалита коз в исследуемых пробах козьего молока (табл.1). Уровень гомологии нуклеотидной последовательности составил 86 – 88 %.

Таблица 1 – Результаты секвенирования

Номер	Максимальная гомологичность с вирусами	Участок гена	Процент гомологии
AJ400719.1	Вирус артрита-энцефалита коз (strain 021)	ENV-ген	88%
U81391.1	Вирус артрита-энцефалита коз partial cds	ENV-ген	88%
U81389.1	Вирус артрита-энцефалита коз partial cds	ENV-ген	88%
AJ400721.1	Вирус артрита-энцефалита коз (strain 786)	ENV-ген	86%
GU903321.1	Вирус артрита-энцефалита коз (strain GCTWP 98/01)	ENV-ген	86%

На сегодняшний день ПЦР в режиме реального времени становится все более востребованным методом диагностики. Поэтому следующим этапом нашей работы было выявление генома вируса артрита-энцефалита коз методом ПЦР в режиме реального времени.

Постановку ПЦР-РВ проводили термоциклере «Rotor-Gene 6000» (Corbett Research, Австралия) при режимах, указанных в инструкции по применению тест-системы «Для выявления генома лентивирусов мелких жвачных методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени», разработанного в ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии.

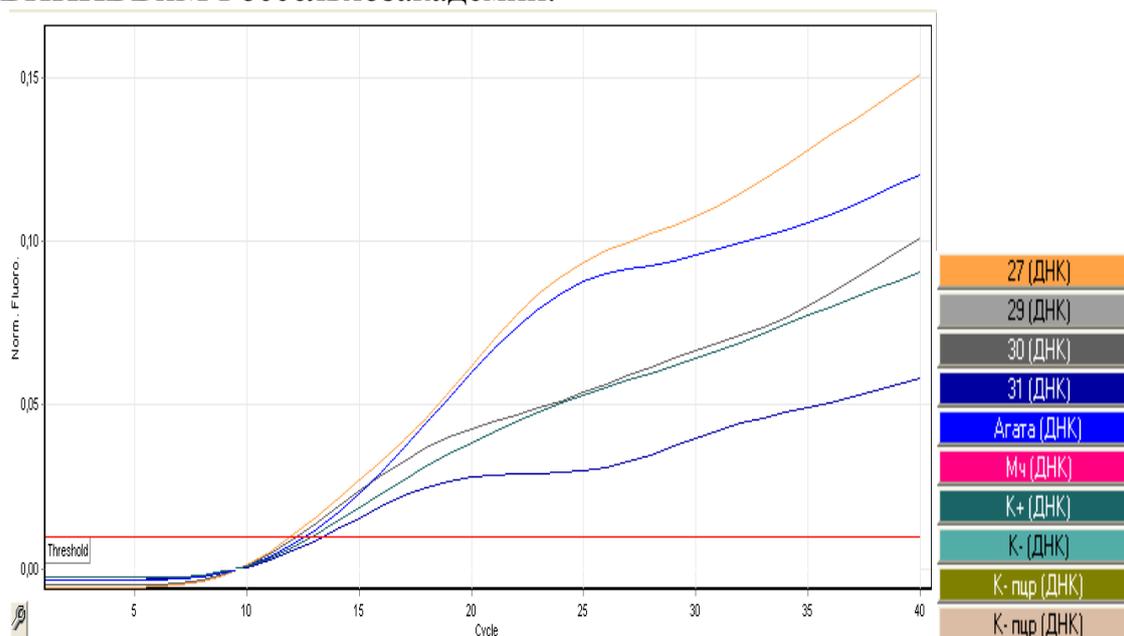


Рис.2 Результаты выявления генома ВАЭК в образцах козьего молока, полученных при использовании ДНК-зонда (Z CAEV)

В результате проведенной реакции нами было выявлено 4 положительных пробы под номерами 27, 29, 31 и Агата. Эти данные ещё раз

подтверждают тот факт, что ПЦР в режиме реального времени превосходит по чувствительности ПЦР с электрофоретической детекцией.

Таким образом, в результате проведенной работы:

1. исследовано 6 проб козьего молока из хозяйств Тверской области методом ПЦР с электрофоретической детекцией. Геном вируса артрита-энцефалита коз выявлен в 2-х пробах: №27 и Агата;
2. определена нуклеотидная последовательность участка env-гена проб №27 и Агата. Уровень гомологии с вирусом артрита-энцефалита коз составил 86-88%;
3. выявлено 4 пробы козьего молока, методом ПЦР в режиме реального времени, содержащих геном вируса артрита-энцефалита коз.

#### **Практическое предложение**

Необходимо внести в нормативно-техническую документацию исследование козьего молока на наличие вируса артрита-энцефалита коз.

#### **Библиографический список**

1. Сидельников, Г.Д. Биологические свойства вируса артрита-энцефалита коз: дис. ... канд. вет. наук 16.00.03/ Сидельников Георгий Дмитриевич. – Покров, 2009. – 117с.
2. Волкова, И. Ю. Эпизоотологический мониторинг и совершенствование мер борьбы с артритом-энцефалитом коз в РФ: автореф. дис. ...канд. вет. наук / Волкова Ирина Юсупжановна. – Покров, 2008. – 25 с.
3. Naase, A.T. Amplification and detection of lentiviral DNA inside cells / A.T. Naase, E.F. Retzel, K.A.cStaskus // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1990. – Vol. 87. – P. 4971-4975.

### **VETERINARY - SANITARY EVALUATION OF GOAT'S MILK ARTHRITIS-ENCEPHALITIS OF GOATS**

Lapteva N.D., Baryshnikova E.I., Merchina S.V.

In the standard documentation is no data on the examination of goat's milk for the presence of the causative agent of arthritis-encephalitis of goats. Although the disease is a serious problem for livestock in connection with a hidden passage, deaths, lack of treatment and prevention.

УДК 641.512.2

### **САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЕТЧИНЫ ИЗ КУРИЦЫ И СЫРА**

Кавеева А.Р., Микеева И.Р., 3 курс, факультет ветеринарной медицины

Научные руководители: Пульчеровская Л.П., Васильев Д.А.

ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА»

Колбаса продаётся в каждом продуктовом магазине без исключения, и уже так плотно вошла в жизнь современного человека, что стала одним из постоянных продуктов. Колбаса имеет множество достоинств и не меньшее количество недостатков. Не берясь судить этот продукт с точки зрения мировой