



003488588

На правах рукописи

Александр

МАКСИМОВА АЛЕКСАНДРА НИКОЛАЕВНА

**МИКРОФЛОРА И САНАЦИЯ ЛЕДНИКОВ
ДЛЯ ХРАНЕНИЯ КОРМОВ
В КЛЕТОЧНОМ ЗВЕРОВОДСТВЕ ЯКУТИИ**

16.00.06. – ветеринарная санитария, экология, зоогигиена и ветеринарно-санитарная экспертиза

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

1 0 ДЕК 2009

Уфа – 2009

Работа выполнена в ГНУ «Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства Россельхозакадемии»

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, профессор
Тарабукина Надежда Петровна

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, профессор
Галимова Венира Загитовна

доктор ветеринарных наук, профессор
Малтугуева Мария Харанутовна

Ведущая организация: ФГОУ ВПО «Чувашская государственная сельскохозяйственная академия» г. Чебоксары

Защита состоится «21» декабря 2009 г. в 12 час. На заседании диссертационного совета Д 220.003.02 при ФГОУ ВПО «Башкирский государственный аграрный университет» по адресу: 450001, г. Уфа, ул. 50 лет Октября, 34, ауд.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Башкирский государственный аграрный университет».

Автореферат размещен на официальном сайте ФГОУ ВПО «Башкирский государственный аграрный университет» 18 ноября 2009 г: www.bsau.ru/

Автореферат разослан «18» ноября 2009 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор ветеринарных наук, профессор



Ф.А. Каримов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Поиск методов сохранения продовольственных ресурсов человечество ведет с древнейших времен. Естественный холод люди стали применять на заре своего существования в виде ледников, снега, хорошо продуваемых пещер, горных рек с ледяной водой, некоторые из этих источников используются и в настоящее время. Много лет назад зародилась идея использования северных природных условий для создания подземных холодильников. По сообщению литературы, М.И. Сумгин еще в 1927 г. предложил создать огромный музей-холодильник, и начиная с этого момента, в разных районах Крайнего Севера строятся подземные склады для хранения продуктов (М.М. Крылов, С.Л. Казанский, 1953; А.Ф. Канаев, А.М. Чекотило, 1954; Н.Г. Миронов, 1967; М.П. Глушнев, 1968, 1970; В.А. Бобков, 1977; А.Д. Игнатович, 1979; А.Ф. Галкин, 2000; А.Ф. Абрамов, 2005).

Клеточное пушное звероводство является традиционной и жизненно необходимой отраслью животноводства в условиях Крайнего Севера. Значительное развитие клеточного звероводства сдерживают инфекционные и незаразные болезни, в основном, связанные с качеством кормов. Чрезвычайно важным вопросом в звероводстве является своевременная заготовка и сохранение скоропортящихся кормов животного происхождения в летне-осенний период (Н.Г. Вастеров, 1961; М.Д. Абрамов, 1985, 1987; А.Н. Tauson, 1985; В.С. Слутин, 1986; З.И. Буковская, 1999; А.И. Ятусевич, 2007). Из всех способов консервирования мясных и рыбных кормов, применяемых в звероводстве Якутии, целесообразным является замораживание, как наиболее доступный и более экономичный способ в условиях вечной мерзлоты. В связи с этим, на всех зверофермах Якутии имеются ледники-мерзлотники, но при несоблюдении санитарных и технических правил для хранения кормов, они представляют опасность возникновения заболеваний у зверей, таких как кормовые токсикозы, дисбактериозы, колибактериозы, сальмонеллезы.

В доступной литературе, отсутствуют сообщения о методах и режимах санации ледников в условиях вечной мерзлоты. Исходя из этого, разработка научно-обоснованных, экологически безопасных и эффективных методов санации ледников, обеспечивающих сохранность продуктов питания и кормов пушных зверей высокого санитарного качества, является актуальной задачей не только ветеринарной медицины, но и перерабатывающей и пищевой промышленности в условиях Крайнего Севера.

Цель и задачи исследований. Целью настоящей работы является изучение микрофлоры и изыскание эффективных методов и режимов санации ледников, в условиях вечной мерзлоты для хранения кормов в клеточном звероводстве.

Для выполнения поставленной цели были определены следующие задачи:
- изучить микробную контаминацию ледников;

- изучить сроки выживаемости патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в ледниках;
- разработать эффективные методы и режимы санации ледников в условиях вечной мерзлоты.

Научная новизна. Впервые изучена микробная контаминация ледников, в условиях вечной мерзлоты, используемых для хранения продуктов питания и кормов в клеточном звероводстве. В микрофлоре ледников установлено значительное доминирование спорообразующих аэробных бактерий рода *Bacillus*.

Изучены сроки выживаемости патогенных и условно-патогенных микроорганизмов на ледяных поверхностях.

Разработаны способы и режимы санации ледников, используемые в условиях вечной мерзлоты, для хранения кормов.

Подготовлена и представлена в Федеральный институт промышленной собственности заявка на патент «Способ дезинфекции ледников в условиях вечной мерзлоты для хранения кормов пушных зверей» с приоритетом от 22.08.2008 за №2008134598.

Практическая значимость. В результате проведенных исследований разработаны способы и режимы санации ледников для хранения кормов в клеточном звероводстве. Опубликованы методические рекомендации «Профилактика желудочно-кишечных болезней в клеточном звероводстве в условиях Якутии» (утв. Ученым советом ЯНИИСХ протокол № 5 от 15.08.08 г.), которые внедряются в звероводческих хозяйствах Якутии. Материалы диссертации включены в **Систему ведения сельского хозяйства Республики Саха (Якутия) до 2012 г.** в разделе «животноводство» (утв. НТС МСХРС (Я), протокол № 1 от 26.06.08 г.).

Апробация работы. Материалы диссертационной работы доложены на заседаниях Ученого совета Якутского НИИ сельского хозяйства Россельхозакадемии (2005-2008), научной конференции молодых ученых в «Сафроновских чтениях» (Якутск, 2006), «XI и X Лаврентьевских чтениях» (Якутск, 2007-2008), «Эрэл-2007», посвященной 50-летию Сибирского Отделения Российской Академии Наук (Якутск, 2007), VI-й Циркумпольярной сельскохозяйственной конференции «Северное сельское хозяйство - развитие наравне с изменяющимся миром» (Канада, 2007), Форуме научной молодежи Республики Саха (Якутия) (Якутск, 2008), выставке-ярмарке инновационных идей и проектов «Молодежь. Наука. Бизнес», посвященной Дню российской науки (Якутск, 2009), Международной научно-практической конференции «Современные средства и методы диагностики и лечения инфекционных, протозойных и микотических болезней сельскохозяйственных и промысловых животных, рыб и пчел» (Москва, 2009), I-м Форуме научной интеллигенции (Якутск, 2009), заседании звероводов – Якутии (Якутск, 2009), выставке молодежных инновационных проектов, посвященных Дню молодежи России и году молодежи в России (Якутск, 2009).

Публикация результатов исследований. По теме диссертации опубликованы 1 работа в «Сборнике материалов молодых ученых и специалистов Якутского НИИ сельского хозяйства», 2 статьи в рецензируемых журналах «Сибирский вестник сельскохозяйственных наук» и «Ветеринария и кормление», методические рекомендации «Профилактика желудочно-кишечных болезней в клеточном звероводстве» в соавторстве, описание к патенту РФ «Способ дезинфекции ледников в условиях вечной мерзлоты для хранения кормов пушных зверей».

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 123 страницах. Состоит из введения, обзора литературы, материалов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических предложений, списка литературы и приложений. Иллюстрирована 15 таблицами, 8 рисунками. Список использованной литературы включает 158 источников, в том числе 24 иностранной литературы.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Результаты изучения микробной контаминации ледников;
2. Результаты испытаний экологически безопасных препаратов и дезинфицирующих средств при санации ледников для хранения кормов пушных зверей.

2 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы и методы исследований

Работа выполнена в 2005-2008 гг. в лаборатории по разработке микробных препаратов ГНУ Якутского НИИСХ Россельхозакадемии, а также в подземных и наземных ледниках г. Якутска, звероводческого хозяйства ООО «Покровское» и в местности «Торгоно» Хангаласского улуса Республики Саха (Якутия).

Материалом для изучения количественного и качественного состава микрофлоры, циркулирующей в ледниках, являются пробы воздуха и соскобы с поверхностей. Пробы воздуха брали с использованием метода В.Ф. Матусевича (1973). Поверхности ледников исследованы с помощью соскобов, взятых со стен с помощью трафарета размером 10х10 см в стерильные чашки Петри. Количество микроорганизмов в воздухе, на поверхностях определяли в 1 м³ и 1 см², согласно «Методов санитарно-микробиологического исследования объектов окружающей среды» (1978). Учет микроорганизмов выражен в колонии образующих единицах (КОЕ). Родовую и видовую идентификацию выделенных культур микроорганизмов проводили согласно «Определителю бактерий Берджи» (1997), а также «Справочнику по микробиологическим и вирусологическим методам исследования» (1982) и «Определителю зоопатогенных микроорганизмов» (1995).

Для идентификации грибов использовали «Методы исследования ветеринарной микологии» (В.В. Курасова, 1971). Для выделения чистых культур спорообразующих бактерий из смывов поверхностей, проводили перед посевом прогревание основного разведения при 80°C в течение 15 минут. Окраску мазков готовили по Граму. Учет результатов микробиологических посевов проводили через 18 и 24 ч для бактерий, а микроскопических грибов - через 5 суток. Использовали элективные среды, приготовленные по ГОСТу: МПА, Эндо, СБТС, Чапека, магниевую, Олькеницкого.

При использовании и испытании тест-объектов, в опытах по изучению выживаемости микроорганизмов, руководствовались общепринятыми методиками согласно «Руководству по ветеринарной санитарии» (1986). В изыскании средств и разработке режимов дезинфекции ледников придерживались испытаний, наиболее доступных в наших условиях, разрешенных и зарегистрированных Управлением ветеринарии МСХ РФ дезинфицирующих средств. При разработке режимов дезинфекции ледников учитывали вид поверхностей, кратность нанесения, температуру растворов и окружающего воздуха.

В качестве тест-культур использованы паспортизированные в ВГНКИ ветеринарных препаратов (г. Москва) штаммы бактерий *Salmonella abortus equi* БН-12, *Streptococcus equi* Н-34, *Bacillus subtilis* ТНП-3, а также *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger*, изолированные из патматериалов Якутской республиканской испытательной лабораторией.

Бактериологические исследования мяса исследованы в соответствии с ГОСТ-ом 21237-75 «Мясо. Методы бактериологического анализа».

В опытах использован пробиотический препарат «Сахабактисубтил», изготовленный на основе штаммов бактерий *Bac. subtilis* ТНП-3 и *Bac. subtilis* ТНП-5, согласно ТУ 9384-003-00670203-06.

Приготовление растворов, определение активного действующего вещества, контроль качества дезинфекции проводились согласно «Правил проведения дезинфекции и дезинвазии объектов государственного ветеринарного надзора», (приложений 3 и 4 «Методические указания по контролю качества ветеринарной дезинфекции объектов животноводства», «Методы контроля качество анолита») утвержденным Департаментом ветеринарии МСХ РФ от 16.07.2002 г. Для получения электрохимически активированного нейтрального анолита использована установка для электрохимического синтеза активированных дезинфицирующих растворов АКВАЭХА (мод. 40) типа СТЭЛ. Всего нами взято и исследовано с подземных и наземных ледников 456 проб. Полученные данные обрабатывались с использованием прикладных программ SNEDECOR, Microsoft Excel, а также подвергли статистической обработке по методу Стьюдента (1988).

2.2 Краткие сведения о природно-климатических условиях Якутии и особенностях использования естественного холода

По климатическим показателям, Якутия выделяется среди других природных областей земного шара, как один из самых крайних экстроконтинентальных вариантов, не имеющих аналогов в северном полушарии. На территории Якутии широко распространена вечная мерзлота, в которой аккумулирован огромный запас холода. Мощность вечномерзлых почв колеблется от нескольких до 1000 метров.

Одним из основных путей использования естественного холода и вечной мерзлоты является аккумуляция холода в ледниках. Этим способом хранения продуктов с давних времен пользуются жители Крайнего Севера. Якутия является одним из основных регионов Севера, где производится значительное количество животноводческой и рыбной продукции. Использованию естественного холода в переработке и хранении продуктов питания в условиях Крайнего Севера способствует суровая зима, продолжающаяся в некоторых регионах до 8-9 месяцев и наличие вечной мерзлоты. Низкие зимние температуры являются неиссякаемыми источниками естественного холода в Якутии. При их использовании экономия электроэнергии, по сравнению с искусственным холодом, производимым на промышленных холодильных установках, составляет 40-50% (А.Ф. Абрамов, 2005).

2.2.1 Типы ледников в условиях вечной мерзлоты используемые для хранения продуктов животного происхождения и кормов в клеточном звероводстве

На Крайнем Севере построено множество подземных и наземных холодильников. Ледники для хранения и замораживания продуктов животного происхождения могут быть самых разнообразных систем и конструкций. Однако любой ледник должен удовлетворять следующим условиям: камера хранения должна быть хорошо изолирована от воды и теплового воздуха, оборудована системой вентиляции, обеспечена оборудованием для подвозки и укладки продукции из мяса, рыбы.

2.3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.3 Микробная контаминация ледников в условиях вечной мерзлоты

2.3.1 Микрофлора подземных ледников для хранения продуктов питания

Изучение динамики микробной контаминации проводили в подземном леднике по Виллойскому тракту, в 6-ти км от г. Якутска, принадлежавшего рынку

«Мясной двор». Ледник снабжен электричеством и дополнительной электроустановкой для поддержания минусовой температуры.

Пробы воздуха и соскоба с поверхностей ледника отбирали в феврале, апреле, июне, августе, ноябре. При этом, учитывали наружную и внутреннюю температуру воздуха.

В результате микробиологических исследований подземного ледника для хранения продуктов питания установлено, что общая микробная обсемененность на поверхности составляет от $2,8 \times 10^2$ до $60,0 \times 10^3$ КОЕ в 1 см^2 , и наивысший пик приходится на август месяц. Общая микробная обсемененность в воздухе подземного ледника составляет от $1,4 \times 10^2$ до $23,6 \times 10^3$ КОЕ/ м^3 . Температура воздуха ледника в период исследований, оставалась стабильной и в среднем составляла $-13,4 \pm 2,1^\circ\text{C}$, независимо от наружной температуры воздуха.

Из микрофлоры подземного ледника выделены спорообразующие аэробные бактерии рода *Bacillus* в количестве от $1,1 \times 10^2$ до $43,3 \times 10^3$ КОЕ/ см^2 , относящиеся к сапрофитной микрофлоре. Кроме того, нами выявлены возбудители иерсиниозов (от $1,5 \times 10^2$ до $23,6 \times 10^3$ КОЕ/ см^2), относящиеся к сапронозам, которые по культуральным свойствам отнесены к видам: *Yersinia pseudotuberculosis* и *Yersinia enterocolitica*, и наибольшее их количество приходится на апрель месяц. Следует также особо отметить, что в зимние месяцы (февраль, апрель) выделяются токсигенные и плесневые виды грибов родов *Aspergillus* (*Asp. fumigatus*, *Asp. niger*), и *Mucor*.

Таким образом, при изучении микрофлоры подземного ледника для хранения продуктов питания в условиях вечной мерзлоты установлена высокая бактериальная обсемененность, которая в основном представлена спорообразующими аэробными бактериями рода *Bacillus*, а также выделены токсигенные и плесневые виды грибов родов *Aspergillus* (*A. fumigatus*, *A. niger*), *Mucor sp.* и возбудителей иерсиниозов, которые представляют опасность в контаминации продуктов питания.

2.3.2 Микрофлора ледников для хранения кормов в клеточном звероводстве

Изучение динамики микробной контаминации проводили в подземных и наземных ледниках зверофермы ООО «Покровское» Хангаласского улуса. Пробы воздуха и соскобы с поверхностей ледников отбирали в феврале, апреле, июне, августе, сентябре, ноябре. При этом учитывали наружную и внутреннюю температуру воздуха (рисунок 1).

2.3.2.1 Микробная контаминация подземных ледников

Глубина заложения подземных ледников зверофермы около 2,5 м, где хранится по 100-150 т корма пушных зверей: мясо, рыба и замороженные овощи. Дополнительного источника для поддержания минусовых температур не имеют. Температура подземных ледников (без дополнительного поддержания минусовой температуры) в период исследований показывает от $-2,5 \pm 0,2$ до $-18,5 \pm 2,9^\circ\text{C}$, в среднем $-8,0 \pm 2,1^\circ\text{C}$ (рисунок 1).

Из полученных данных, наивысшая общая микробная обсемененность на поверхностях ледников составляет 23×10^3 КОЕ/см², и приходится на апрель месяц – в период закладки кормов. Наибольшая общая микробная обсемененность воздуха ледников отмечена в сентябре, и составляет $6,3 \times 10^3$ КОЕ/м³, в это же время на поверхностях – до $11,7 \times 10^3$ КОЕ/см². Также в этот период (в сентябре) зарегистрировано наибольшее количество спорообразующих аэробных бактерий на поверхностях подземного ледника: до 9×10^2 КОЕ/см². Следует отметить, что со всех проб взятых с воздуха и поверхностей подземных ледников с февраля по сентябрь месяцы, постоянно выделяются возбудители иерсиниозов: *Yersinia pseudotuberculosis* и *Yersinia enterocolitica*, а также токсигенные и плесневые грибы родов *Aspergillus*, *Mucor*.

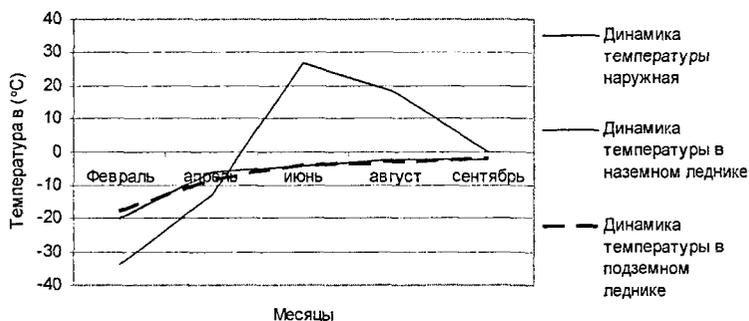


Рисунок 1. Динамика температуры окружающего воздуха и внутри подземных и наземных ледников для хранения кормов

2.3.2.2 Микробная контаминация наземных ледников

Изучение динамики микробной контаминации проводили в наземных ледниках №1 и №2 конструкции Крылова М.М., общей площадью 150 м², вместимостью 250 тонн. Ледники снабжены электричеством, дополнительного источника поддержания холода не имеют.

В наземных ледниках при колебаниях температуры от $-1,9 \pm 0,3$ до $-18,5 \pm 0,6^\circ\text{C}$, в среднем $-7,6 \pm 2,1^\circ\text{C}$ (рисунок 1) общая микробная обсемененность в воздухе составляет от $3,2 \times 10^2$ до $12,8 \times 10^4$ КОЕ/ м^3 , на поверхностях стен – от 9×10^2 до $17,5 \times 10^4$ КОЕ/ см^2 . На поверхности стен ледника количество спорообразующих аэробных бактерий составляет от $5,3 \times 10^2$ до $16,7 \times 10^4$ КОЕ/ см^2 . Наибольшая микробная обсемененность установлена на поверхности стен наземного ледника, в июне месяце, в период эксплуатации и составляет $17,5 \times 10^4$ КОЕ/ см^2 (рисунок 2). Следует отметить, что уровень общей бактериальной обсемененности наземных ледников за весь период исследований – относительно высокий. Со всех проб, взятых с февраля по сентябрь, как с воздуха так и стен ледника, постоянно выделяются токсигенные и плесневые виды грибов родов *Aspergillus* (*A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*) и *Mucor sp.*, а также возбудители иерсиниозов – *Yersinia pseudotuberculosis* и *Yersinia enterocolitica*.

Полученные результаты исследований позволяют заключить, что в «естественных» подземных и наземных ледниках (без дополнительного поддержания холода) в условиях вечной мерзлоты, для хранения кормов пушных зверей, уровень общей микробной обсемененности в воздухе составляет от $3,2 \times 10^2$ до $12,8 \times 10^4$ КОЕ/ м^3 , на поверхностях – от 9×10^2 до $17,5 \times 10^4$ КОЕ/ см^2 . В микрофлоре ледников доминируют спорообразующие аэробные бактерии рода *Bacillus* (от $1,1 \times 10^2$ до $16,7 \times 10^4$ КОЕ/ см^2).

При этом следует отметить постоянное присутствие, как в подземных, так и наземных ледниках, токсигенных и плесневых грибов родов *Aspergillus*, *Mucor*, и возбудителей иерсиниозов, которые представляют опасность контаминации кормов пушных зверей при хранении.

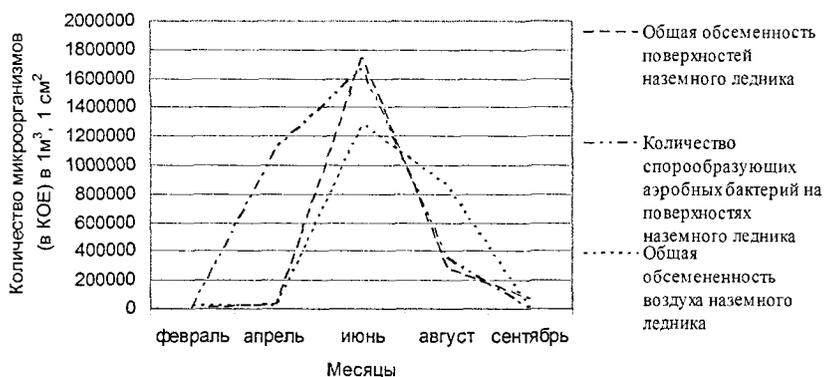


Рисунок 2. Динамика микробной контаминации на поверхностях и в воздухе наземных ледников

2.3.3 Идентификация бактерий рода *Bacillus*, выделенных из ледников для хранения кормов и продуктов питания

Все 6 штаммов бактерий рода *Bacillus*, изолированных из микрофлоры ледников - палочковидные бактерии, аэробы, которые образуют споры, и не имеют глобул, положительно окрашиваются по Граму. Все выделенные штаммы не подвижны, продуцируют каталазу, при росте на МПА выдерживают присутствие хлористого натрия до 7%, не образуют лецитиназу, и несколько отличаются по биохимическим свойствам. На основании изучения результатов физиолого-биохимических свойств, спорообразующие аэробные бактерии рода *Bacillus*, изолированные из микрофлоры воздуха и поверхностей с наземных и подземных ледников, отнесены к видам: *Bac. macerans*, *Bac. lentimorbus*, *Bac. polymyxa*, *Bac. brevis* (два штамма) и *Bac. alvei*.

Результаты исследований позволяют заключить, что бактерии рода *Bacillus*: *Bac. macerans*, *Bac. lentimorbus*, *Bac. polymyxa*, *Bac. brevis*, *Bac. alvei* являются типичными представителями микрофлоры ледников в условиях вечной мерзлоты.

2.4 Изучение сроков выживаемости патогенных и условно-патогенных микроорганизмов на ледяных поверхностях

Опыты по изучению выживаемости микроорганизмов проведены со второй декады марта в условиях тамбура при $-17,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$. В качестве тест-объектов использовали ледяные поверхности. С третьей декады апреля тест-объекты переведены в морозильную камеру при $-17,9 \pm 0,1^\circ\text{C}$. В качестве тест-культур, для контаминации ледяных поверхностей, использованы штаммы бактерий *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, и грибов *Aspergillus niger*. Опыт сопровождался контролями.

Пробы взяты и исследованы на 1, 3, 5, 8, 10, 14, 27, 42, 57, 74, 89, 104 дни проведения опытов. Как показывают результаты, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger* на ледяных поверхностях сохраняют жизнеспособность, при температуре от $-17,9 \pm 0,1$ до $+2,2 \pm 0,3^\circ\text{C}$, в течении 104 дней (срок наблюдения).

На основании проведенных опытов, по изучении сроков выживаемости патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, можно заключить, что возбудители кишечных, кокковых инфекций и микотоксикозов на ледяных поверхностях длительно сохраняют жизнеспособность (свыше 104 дней), и могут способствовать быстрой порче, и тем самым сократить сроки хранения продуктов и кормов.

3 Разработка методов санации ледников в условиях вечной мерзлоты для хранения кормов в клеточном звероводстве

3.1 Препарат «Сахабактисубтил» в санации ледников в условиях вечной мерзлоты для хранения кормов пушных зверей

В настоящее время значительно возрос интерес к экологически безопасным биоцидным препаратам, обладающим воздействием, как на внешнюю среду, так и на организм животных. К одним из таких препаратов относятся пробиотики из штаммов бактерий *Bacillus subtilis*, обладающие высокой антагонистической активностью к широкому спектру патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

Опыты по испытанию препарата-пробиотика «Сахабактисубтил» проведены в небольшом наземном леднике (общей площадью 9 м²), местности «Торгоно» Хангаласского улуса. Затем опыты проведены в наземных ледниках №1 и №2 (конструкции Крылова М.М.) в звероводческом хозяйстве ООО «Покровское».

Для санации ледников применяли препарат «Сахабактисубтил» из расчета 1 млрд. КОЕ/мл, при расходе 100, 700 мл/м². В качестве контроля использовали отсек наземного ледника №1, где не проводили санацию (в контроле – водопроводная вода). Растворы препарата нанесены в виде мелкокапельного распыления. Во время опыта учитывали наружную и внутреннюю температуры воздуха. В ходе опыта исследовали общую микробную обсемененность, количество спорообразующих аэробных бактерий и микроскопических грибов в воздухе и на поверхностях контрольных и опытных отсеков наземных ледников. Пробы взяты до и после проведения санации ледников на 4, 6, 12, 19 дни, и через 2; 5 месяца.

После применения препарата «Сахабактисубтил» в санации ледника местности «Торгоно», при исследовании на 6-ой день после обеззараживания отмечено сокращение числа плесневых грибов. Причем, при исследовании до санации, токсигенные и плесневые грибы родов *Aspergillus*, *Mucor*, *Rizopus* росли очень густо, их рост отмечен даже на мясо-пептонном агаре, предназначенный для определения общей бактериальной обсемененности. После санации отмечен только единичный рост грибов *Asp. fumigatus*, *Asp. flavus*, *Mucor*. В то же время, после санации, более чем в 14 раз возросла общая бактериальная обсемененность на поверхностях, и более 2-х раз – в воздухе ледника.

При исследовании на 19-ый день после санации препаратом «Сахабактисубтил» установлен единичный рост грибов *Mucor*, и отсутствие токсигенных грибов рода *Aspergillus*, как в воздухе, так и на поверхностях. При этом отмечено повышение количества спорообразующих аэробных

бактерий до $23,9 \times 10^3$ КОЕ/см² на поверхностях, и общей бактериальной обсемененности до $6,5 \times 10^3$ КОЕ/м³ в воздухе и достаточно высокая общая бактериальная обсемененность до $41,7 \times 10^3$ КОЕ/см² на поверхностях ледника.

При микроскопировании мазков, приготовленных с колоний выросших с МПА по определению общей бактериальной обсемененности, во всех случаях обнаружены грамположительные палочки, которые при дальнейшем исследовании определены как бактерии рода *Bacillus*. По результатам данного опыта, можно заключить, что «Сахабактисубтил» является бактериальным препаратом, разработанным на основе спорообразующих аэробных бактерий, поэтому при его применении закономерно повышение общей бактериальной обсемененности и количества спорообразующих аэробных бактерий.

При испытании препарата «Сахабактисубтил» при расходе 100 мл на 1 м² поверхности в санации наземного ледника Крылова-2, по сравнению с контролем Крылова-1, при более длительном наблюдении (в течение 5 месяцев) получены следующие результаты. Санация поверхностей ледника при однократном применении препарата «Сахабактисубтил» из расчета 1 млрд. КОЕ/мл, расходе 100 мл/м², при температуре $-4,2 \pm 1,0^\circ\text{C}$ эффективно сдерживает развитие токсигенных и плесневых грибов, в течении 3-х месяцев, и вызывает небольшое увеличение общей бактериальной обсемененности и количества спорообразующих аэробных бактерий, по сравнению – с контролем.

Таким образом, результаты проведенных опытов показывают перспективность применения препарата «Сахабактисубтил» в санации ледников для хранения кормов пушных зверей, при контаминации токсигенными и плесневыми грибами.

3.2 Испытание электроактивированных растворов хлорида натрия для санации ледяных поверхностей, контаминированных патогенными и условно-патогенными микроорганизмами

3.2.1 Результаты опытов по санации ледяных поверхностей электроактивированными растворами

Опыты по санации ледяных поверхностей, контаминированных *Salmonella abortus equi* БН-12, растворами электроактивированной воды, проводились в условиях тамбура при средней температуре $-21,2 \pm 0,9^\circ\text{C}$.

Для дезинфекции ледяных поверхностей использовали растворы электроактивированной воды: анолит (рН 4,61), католит (рН 10,55), в контроле – стерильную воду (рН 5,85). Растворы наносили в виде мелкокапельного распыления из расчета 1 л/м² ледяной поверхности. Во время наблюдений учитывали наружную и внутреннюю температуры (тамбура и морозильной камеры). Опыты проведены при колебании наружной температуры от $-35,6 \pm 0,2$

до $-40,0 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$. Пробы с опытных и контрольных тест-объектов взяты и исследованы через 24, 48, 72, 120 и 240 часов.

При обработке ледяных поверхностей, контаминированных *Salmonella abortus equi*, растворами электроактивированной воды (анолит, католит), жизнеспособность сальмонелл при температуре от $-21,2 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$ сохраняется в течении 10 дней (срок наблюдения). Но при подсчете выросших колоний сальмонелл установлено, что при обработке ледяных поверхностей растворами анолита значительно сокращается их количество – до 10 КОЕ/см², что по сравнению с контролем меньше в 2,7 раз, при обработке католитом меньше в 9,8 раз. По полученным результатам следует отметить, что обработка католитом повышает жизнеспособность сальмонелл при минусовых температурах.

Таким образом, наиболее перспективным для санации ледяных поверхностей, контаминированных *Salmonella abortus equi* БН-12, при минусовых температурах от $-21,2 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$, является применение анолита. Поэтому, в дальнейших опытах по разработке режимов санации ледяных поверхностей, испытали растворы электроактивированной воды анодной фракции.

3.2.2 Результаты исследований по испытанию анолита нейтрального (АН) подкисленных растворами органических кислот для санации ледяных поверхностей

По сообщениям литературы (Я.И. Иммиева С.Ш. Кабардиева, А.А. Закомырдина, Г.А. Абакарова, Р.М. Бақриева, А.Б. Дагаева, 2005), разбавление водой электрохимически активированного нейтрального анолита и подкисление уксусной кислотой значительно повышает его дезинфицирующую эффективность.

Испытаны электрохимически активированный нейтральный анолит с содержанием 0,1 мг/мл и 0,5 мг/мл активного хлора с добавлением 1,5% уксусной, 0,5% молочной, 0,5% и 1% надуксусной кислот при расходе 200-300 мл/м³, экспозиции 1,5; 3; 5; 18 и 24 часа. В качестве контроля, тест-объекты обрабатывали водопроводной водой, из расчета 200-300 мл/м². Растворы нанесены в виде мелкокапельного распыления с помощью беспропеллентного баллона, при температуре ледника $-21,0 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$.

Опыты по санации проведены на ледяных поверхностях стен наземного ледника: длиной 10 м, шириной 50 см (5 м²). В опытах, в качестве тест-культур, использовали 2 млрд. взвесь суточных культур *Sal.abortus equi* БН-12, *Str. equi* Н-34 и 5-суточные культуры штамма бактерий *Bac.subtilis* ТНП-3.

3.2.2.1 Результаты исследований по испытанию АН подкисленной раствором уксусной кислоты

Испытан электрохимически активированный нейтральный анолит с содержанием 0,5 мг/мл активного хлора, и разбавленный в 5 раз водопроводной водой – 0,1 мг/мл активного хлора с добавлением 1,5% уксусной кислоты при расходе 200-300 мл/м², экспозиции 1,5; 3; 5; 18 и 24 часа.

Полученные результаты показали, что анолит нейтральный с содержанием активного хлора 0,5 мг/мл, действует не губительно на возбудителей кишечных, кокковых и споровых инфекций. При добавлении 1,5%-ной уксусной кислоты также не обеззараживает ледяные поверхности, обсемененные *Sal. abortus equi* БН-12, *Str. equi* Н-34, *Bac. subtilis* ТНП-3. Но начиная с 3-х часовой экспозиции, отмечен единичный рост возбудителей кишечных и кокковых инфекций.

Таким образом, анолит нейтральный (разбавленный) с содержанием активного хлора 0,1 мг/мл с добавлением 1,5%-ной уксусной кислоты при расходе 200-300 мл, действует губительно только на возбудителей кишечных и кокковых инфекций (*Sal. abortus equi* БН-12, *Str. equi* Н-34), начиная с 3-х часовой экспозиции, но не обеззараживает возбудителей споровых инфекций.

3.2.2.2 Результаты опытов по испытанию АН подкисленной раствором молочной кислоты

Испытан электрохимически активированный нейтральный анолит с содержанием 0,5 мг/мл активного хлора, и разбавленный в 5 раз водопроводной водой – с 0,1 мг/мл активного хлора с добавлением 0,5% молочной кислоты при расходе 200-300 мл/м², экспозиции 1,5; 3; 5; 18 и 24 часа.

Анолит нейтральный с содержанием активного хлора 0,5 мг/мл с добавлением 0,5%-ной молочной кислоты, при расходе 200-300 мл/м², даже при экспозиции 24 часа не действует губительно на вышеуказанные тест-культуры. При применении разбавленного анолита нейтрального с содержанием активного хлора 0,1 мг/мл с 0,5%-ной молочной кислотой, при 5-ти часовой экспозиции, наблюдается единичный рост кишечных и кокковых инфекций. Обеззараживание ледяных поверхностей достигается при экспозиции 18 часов, лишь – обсемененных *Sal. abortus equi* БН-12 и *Str. equi* Н-34, но не действует губительно на *Bacillus subtilis* ТНП-3.

Таким образом, при применении анолита нейтрального с содержанием активного хлора 0,1 и 0,5 мг/мл с добавлением 1,5% уксусной и 0,5% молочной кислот при расходе до 300 мл/м², наиболее эффективным оказался анолит нейтральный с содержанием активного хлора 0,1 мг/мл подкисленной 1,5%-ной уксусной кислотой, который действует губительно на возбудителей кокковых и кишечных инфекций (*Sal. abortus equi* БН-12 и *Str. equi* Н-34) начиная с 3-х

часовой экспозиции. Но указанные средства даже при экспозиции до 24 часов не действует губительно на споровые бактерии (*Bacillus subtilis* ТНП-3), хотя именно они являются доминирующими в микробиоценозе ледников.

3.2.2.3 Результаты исследований по испытанию надуксусной кислоты (НУК) и анолита нейтрального (АН) подкисленной НУК

Испытан электрохимически активированный нейтральный анолит с содержанием 0,5 мг/мл активного хлора, и разбавленный в 5 раз водопроводной водой – с 0,1 мг/мл активного хлора, с добавлением 0,5% надуксусной кислоты, также 1%-ные растворы НУК при расходе 200-500 мл/м², экспозиции 1,5; 3; 5; 18 и 24 часов. В качестве контроля тест-объекты обрабатывают водопроводной водой, из расчета 200-500 мл/м². Растворы нанесены в виде мелкокапельного распыления с помощью беспроPELLентного баллона, при температуре ледника -21,0±0,8°С.

Проведенные исследования показали, что 1%-ные растворы НУК, при расходе 300-400 мл/м², экспозиции 18 часов, надежно обеззараживают ледяные поверхности, загрязненные возбудителями кишечных, кокковых, споровых инфекций. А при увеличении расхода до 500 мл/м², экспозиция губительного воздействия на *Sal. abortus equi* БН-12, *Str. equi* Н-34, *Bac. subtilis* ТНП-3 сокращается до 5 часов. Хотя применение большого количества растворов не желательно при санации ледников.

По результатам исследований растворы анолита нейтрального с содержанием активного хлора 0,5 мг при добавлении 0,5%-ной надуксусной кислоты полностью не обеззараживают ледяные поверхности загрязненные *Sal. abortus equi* БН-12, *Str. equi* Н-34, *Bac. subtilis* ТНП-3. Применение разбавленных растворов анолита нейтрального с содержанием активного хлора 0,1 мг/мл с добавлением 0,5%-ной НУК, при расходе 300 мл/м² надежно обеззараживает ледяные поверхности загрязненных *Sal. abortus equi* БН-12, *Str. equi* Н-34, *Bac. subtilis* ТНП-3, начиная с 5-ти часовой экспозиции.

Результаты исследований показали, что электрохимически активированный нейтральный анолит (содержанием активного хлора 0,1 мг/мл) при добавлении 0,5%-ного раствора НУК, расходе 300 мл/м² и экспозиции 5 часов полностью обеззараживает ледяные поверхности, загрязненные *Sal. abortus equi* БН-12, *Str. equi* Н-34, *Bac. subtilis* ТНП-3.

Таким образом, для санации ледников в условиях вечной мерзлоты при минусовых температурах можно использовать 1%-ный раствор НУК, при расходе от 300 до 400 мл/м², экспозиции 18 часов, а также эффективно применять дезсредство, состоящее из разбавленного в 5 раз водопроводной водой, электрохимически активированного анолита с содержанием 0,1 мг/мл активного хлора и надуксусной кислоты в концентрации 0,5% (по АДВ) при расходе 300 мл/м², экспозиции 5 часов.

3.2.2.4 Результаты микробиологических исследований мясо-рыбных кормов при хранении в леднике после санации

Для изучения влияния санации на микрофлору кормов, хранившихся в леднике, поставлен научно-производственный опыт. Опыт проведен в подземном леднике звероводческого хозяйства ООО «Покровское». Санация проведена с применением растворов анолита нейтрального с содержанием активного хлора 0,1 мг/мл с добавлением 0,5%-ной надуксусной кислоты, при расходе 0,3 л/м², в отсеке ледника, где хранилось небольшое количество (21 шт) брикетов с морской рыбой (скумбрия, минтай) и 1 туша молодняка оленя (тугута). Перед проведением дезинфекции и после 1,5-месячного хранения в леднике, взяты пробы на микробиологическое исследование. В мясо-рыбных кормах, хранившихся 1,5 месяца при температуре $-8,1 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, в отсеке подземного ледника, после проведения дезинфекции растворами анолита нейтрального с содержанием активного хлора 0,1 мг/мл с добавлением 0,5%-ной надуксусной кислоты, заметно снижение общей бактериальной обсемененности, количества эшерихий и отсутствие патогенов-иерсиний, по сравнению с данными, полученными в начале опыта.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что в мясо-рыбных кормах, при хранении в леднике (при температуре $-8,1 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$) после проведения дезинфекции, в течении 1,5 месяцев (срок наблюдения) не происходит увеличения количества условно-патогенных микроорганизмов.

ВЫВОДЫ

1. В подземных ледниках, используемых для хранения продуктов питания (с дополнительной установкой для поддержания холода) при температуре в среднем $-13,4 \pm 2,1^{\circ}\text{C}$ общая микробная обсемененность составляет на поверхностях до $60,0 \times 10^3$ КОЕ/см² и в воздухе до $23,6 \times 10^3$ КОЕ/м³. Из микрофлоры подземного ледника в зимнее время (февраль-апрель) изолированы возбудители иерсиниозов – *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia enterocolitica*, токсигенные и плесневые грибы родов *Aspergillus (fumigatus, niger)*, *Mucor*.

2. В «естественных» подземных ледниках (без дополнительного поддержания холода) для хранения кормов клеточного звероводства, при колебаниях температуры от $-2,5 \pm 0,2$ до $-18,5 \pm 2,9^{\circ}\text{C}$, общая микробная обсемененность составляет на поверхностях стен до 23×10^3 КОЕ/см² и в воздухе – до $6,3 \times 10^3$ КОЕ/м³.

3. В наземных ледниках для хранения кормов клеточного звероводства (без дополнительного поддержания холода) при колебаниях температуры от -

1,9±0,3 до -18,5±0,6°C, установлена наиболее высокая общая микробная обсемененность: на поверхностях стен до 17,5×10⁴ КОЕ/см² и в воздухе – до 12,8×10⁴ КОЕ/м³.

4. Спорообразующие аэробные бактерии доминируют (до 16,7×10⁴ КОЕ/см²) в микрофлоре ледников в условиях вечной мерзлоты. По физиолого-биохимическим свойствам бактерии рода *Bacillus*, изолированные из микрофлоры воздуха и поверхностей наземных и подземных ледников, отнесены к видам: *Bac. alvei*, *Bac. brevis*, *Bac. lentimorbus*, *Bac. macerans*, *Bac. polytuxa*.

5. Отмечено постоянное присутствие, в микрофлоре подземных и наземных ледников для хранения кормов возбудителей иерсиниозов: *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia enterocolitica*, токсигенных и плесневых грибов родов *Aspergillus* (*flavus*, *niger*, *fumigatus*), *Mucor*, представляющих опасность для здоровья зверей.

6. Установлено, что возбудители кишечных, кокковых инфекций и микотоксикозов на ледяных поверхностях при температуре от -17,9±0,1 до +2,2±0,3°C сохраняют жизнеспособность (свыше 104 дней).

7. Испытание препарата «Сахабактисубтил» в дозе 1×10⁹ КОЕ/мл, при расходе 100 мл/м², в санации ледников для хранения кормов в клеточном звероводстве, показало его эффективность в отношении токсигенных и плесневых видов грибов.

8. Надежное обеззараживание поверхностей ледников (при температуре -21,0±0,8°C), контаминированных *Sal. abortus equi* БН-12, *Str. equi* Н-34, *Bac. subtilis* ТНП-3, достигается при применении 1%-ного раствора НУК, при расходе 300–400 мл/м², экспозиции 18 часов.

9. Разработан эффективный режим дезинфекции (при -21,0±0,8°C) с использованием электрохимически активированного анолита с содержанием 0,1 мг/мл активного хлора и надуксусной кислоты в концентрации 0,5% (по АДВ) при расходе 300 мл/м², экспозиции 5 часов, в санации ледников, контаминированных возбудителями кишечных, кокковых и споровых инфекций.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Материалы диссертации вошли в методические рекомендации «Профилактика желудочно-кишечных болезней в клеточном звероводстве» (Якутск, 2008), в Систему ведения сельского хозяйства Республики Саха (Якутия) до 2012 г. в разделе «животноводство» (утв. НТС МСХ РС (Я), протокол № 1 от 26.06.08 г.), которые предложены для внедрения в производство.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Максимова, А.Н.** Научное обоснование проведения методов санации ледника при хранении продуктов питания в условиях вечной мерзлоты [Текст] / А.Н. Максимова // Сафроновские чтения: II сб. материал. молодых ученых и специалистов Якут.НИИСХ РАСХН. – Якутск, 2007. – С. 22-24.

2. Тарабукина, Н.П. Микрофлора ледника, используемого для хранения продуктов питания в условиях вечной мерзлоты [Текст] / Н.П. Тарабукина, А.Н. Колодезникова, **А.Н. Максимова** // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2007. – №11. – С. 75-78.

3. Неустроев, М.П. Проблема качества кормов в клеточном звероводстве Якутии [Текст] / М.П. Неустроев, Я.Л. Шадрина, **А.Н. Максимова** // Ветеринария и кормление. – 2008. – №5. – С. 28-29.

4. Профилактика желудочно-кишечных болезней в клеточном звероводстве [Текст]: методич. рекомендации / Н.П. Тарабукина, М.П. Неустроев, М.П. Федорова, Я.Л. Шадрина, **А.Н. Максимова**. – Якутск, 2008. – 12 с.

9

Подписано в печать 17.11.2009. Формат 60x84/16. Гарнитура Таймс.
Печать трафаретная. Усл. печ.л. 1,25. Тираж 100 экз. Заказ №291.

Отпечатано в ГНУ ЯНИИСХ РАСХН
г. Якутск, ул. Бестужева-Марлинского, 23/1