

УДК 636.598.15

Назар Б. І., к. вет. н. (bobnaz@ukr.net) ©*Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок***ОБМЕЖЕННЯ ТА КОНТРОЛЬ ЗА ВИКОРИСТАННЯМ БІЛКІВ ЖУЙНИХ ТВАРИН В УКРАЇНІ**

У статті висвітлено питання контролю за використанням білків жуйних тварин у кормах, кормових добавках та преміксах. Проведено визначення наявності чи відсутності білків жуйних тварин у препаратах, кормах та кормових добавках при реєстрації їх в Україні та вибірковому контролі.

Ключові слова: білки жуйних тварин, ПЛР, корми, кормові добавки.

Вступ. Епізоотична ситуація щодо губчастоподібної енцефалопатії великої рогатої худоби (BSE) у країнах Європи залишається складною. Хворобу зареєстровано у 16 країнах світу, з якими Україна підтримує тісні торговельні відносини. Зважаючи на те, Міжнародне епізоотичне бюро (МЕБ) віднесло BSE до Списку "Б", як особливо небезпечне захворювання для тварин та людей.

Україною до 2010 року тимчасово був заборонений імпорт тварин, сировини та продуктів тваринного походження із країн, де це захворювання зареєстровано. Це дало позитивний результат, бо на території України дане захворювання виявлено не було, але недопущення цього захворювання в подальшому на територію держави потребує щоденного дотримання певних вимог. Одна з суттєвих вимог – це заборона ввозити в Україну з постійно неблагополучних країн: сировину, продукти та готові харчові продукти, а також корми, кормові добавки, м'ясне, м'ясо-кісткове та кісткове борошно, до складу яких входить білок жуйних тварин. Крім цього, необхідно дотримуватись заборони згодувувати жуйним тваринам м'ясне, м'ясо-кісткове та кісткове борошно, до складу якого входить білок жуйних тварин.

Допускається використання кормового борошна тваринного походження, м'ясного, м'ясо-кісткового, кісткового борошна та іншої продукції тваринного походження, що містить білки жуйних, лише для годівлі птиці та риби.

Із різким підвищенням цін на кормову сировину виробники кормів прагнуть максимально здешевити виробництво кормів, за рахунок використання дешевшої кормової сировини. Власне тому, за таких обставин, виникають ризики попадання на ринок неякісних, фальсифікованих та непридатних кормів. Наприклад, найбільш поширеним способом фальсифікації рибного борошна є внесення дешевших компонентів, таких як корми тваринного походження – борошно м'ясне, кісткове, м'ясо-кісткове, печінкове, кров'яне, а також жир ВРХ. Тому існує потреба постійного контролю за наявністю білків жуйних тварин у кормах та кормових добавках при реєстрації, імпорті та застосуванні їх в Україні.

За кордоном та в Україні існує ряд методів для контролю наявності чи відсутності у кормах тканин жуйних тварин – ІФА, мікроскопія та ПЛР - аналіз.

Найбільш точним та об'єктивним методом оцінки кормів та кормових добавок є метод ПЛР.

Матеріали та методи. Починаючи з 2002 року в ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок налагоджено контроль якості БВД, кормів та кормових добавок для визначення наявності в них білків жуйних тварин, котрі, в разі інфікування, можуть стати джерелом губчастоподібної енцефалопатії.

Визначення проводяться за допомогою молекулярно-біологічного методу, в основі якого лежить багаторазове повторення *in vitro* процесу реплікації ДНК, що призводить до експериментального нагромадження ДНК у реакційній суміші.

Головні переваги цього методу – простота, швидкість і висока чутливість, що дозволяє в короткі терміни (до 8 годин) одночасно дослідити велику кількість проб.

Визначення наявності тканин жуйних тварин проводили у кормах, які підлягали термічній обробці (рибна мука тощо), білково-вітамінних добавках, преміксах, кормах для непродуктивних тварин (котів і собак).

Дослідження на наявність білків жуйних проводили за допомогою тест-системи “БИГ” (Росія) методом ПЛР. В основі методу лежить ампліфікація специфічної ділянки ДНК мітохондріального геному за рахунок багаторазового повторення циклів денатурації ДНК у дослідній пробі, відпалу специфічних олігонуклеотидних затравок (праймерів) і синтезу комплементарного ланцюга ДНК за допомогою Tag полімерази. Кількість копій фрагментів ДНК подвоюється в геометричній прогресії з кожним новим циклом.

Цей метод можна проводити двома способами, а саме при завершенні використовувати електрофоретичний аналіз або ПЛР в реальному часі.

Результати досліджень. Дослідження на наявність чи відсутність білків жуйних тварин проводились при реєстрації та вибіркового контролю ветеринарних препаратів, кормів та кормових добавок.

Було досліджено 260 зразків різного походження, які умовно можна розділити на три групи: перша група — корми для непродуктивних тварин, друга — премікси, білково-вітамінні та білково-мінеральні добавки, комбікорми, третя — борошно рибне та тваринного походження тощо. Продукція, що підлягала дослідженню, призначалась для годівлі різних сільськогосподарських тварин та птиці.

Аналіз продуктів ПЛР проводили методом електрофорезу в 2 %-му агарозному гелі. ДНК виявляли в ультрафіолетовому промінні після забарвлення бромистим етидієм (фрагмент ДНК для яловичини відзначали — 680 нуклеотидних послідовностей, а для баранини — 350 н.п.). Аналіз методом ПЛР в реальному часі був точнішим і давав змогу виявити кількісний вміст ДНК жуйних тварин у досліджуваному продукті. В ході реакції спостерігали в реальному часі сигнали флюоресценції. Збільшення сигналів викликане використанням специфічного для даної ДНК зонду, який подібно до праймера в

ході реакції зв'язується з одним із ланцюгів ДНК. У процесі синтезу комплементарного ланцюга, завдячуючи 5' - 3' нуклеазної активності Таг ДНК-полімерази, зонд розщеплюється. Він містить на 5' кінці флюоресцентний барвник, а на 3' кінці — загашувач флюорисценції. Після розщеплення проходить роз'єднання барвника і загашувача, що призводить по мірі накопичення продуктів реакції до збільшення сигналу флюорисценції. Процес завершення ПЛР обумовлений витратою реагентів при накопиченні специфічних продуктів ампліфікації. При цьому збільшення сигналу флюорисценції припиняється.

У результаті проведених досліджень виявлено наявність білків жуйних тварин у першій групі – з 34 проб 4 позитивних (11,7 %), у другій групі з 46 проб – 2 позитивних (4,3 %), в третій групі з 180 проб – 16 позитивних (8,9 %).

Корми, кормові добавки й інші продукти, в яких було виявлено білки жуйних тварин, не були зареєстровані та їх ввезення в Україну було заборонено.

За результатами досліджень було заборонено використання кормів, кормових добавок та преміксів в Україні, у яких було виявлено білки жуйних для годівлі сільськогосподарських тварин і дозволено лише для птиці та риби.

Висновки. При годівлі тварин в Україні можна використовувати кормове борошно тваринного походження, м'ясне, м'ясо-кісткове, кісткове борошно та іншу продукцію тваринного походження, що містить білки жуйних, лише для годівлі птиці та риби.

Література

1. Диагностика инфекционных заболеваний животных с помощью молекулярно-биологических методов / Б. Стегний, В. Бусол, А. Коваленко, Л. Коваленко // Вет. медицина України — 2003. — № 5. — С. 20–23.
2. ПЛЛ-Діагностики в системі запобігання поширення губчастої енцефалопатії /М. В. Косенко, Т. Р. Левицький, Б. І. Назар // Аграрні Вісті. — 2004. — №3. — С. 10–11.

Summary

Nazar BI, cand. sci (vet) (bobnaz@ukr.net)

State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives

IMITATIONS AND CONTROL OF RUMINANTS PROTEINS USAGE IN UKRAINE

The article highlights the issue of control over the use of ruminant protein in feed, feed additives and premixes. A determination of the presence-absence of proteins in ruminant products, feed and feed additives at their registration in Ukraine and sampling was conducted.

Key words: ruminants protein, PCR, feed, feed additives.

Рецензент – д.вет.н., професор Гуфрій Д.Ф.