

На правах рукописи

Сытник Денис Александрович

**САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ ВОЗДУШНОЙ СРЕДЫ
ЖИВОТНОВОДЧЕСКИХ ПОМЕЩЕНИЙ И КОНТРОЛЬ
КАЧЕСТВА ДЕКОНТАМИНАЦИИ**

06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология,
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Ставрополь – 2016

Работа выполнена на кафедре эпизоотологии и микробиологии
ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет»

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Дмитриев Анатолий Федорович

Официальные оппоненты: **Паршин Павел Андреевич**
доктор ветеринарных наук, профессор
ФГБОУ ВО «Воронежский государственный
аграрный университет имени императора Петра I»,
заведующий кафедрой ветеринарно-санитарной
экспертизы

Плешакова Валентина Ивановна
доктор ветеринарных наук, профессор,
ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный
университет имени П. А. Столыпина»,
заведующая кафедрой ветеринарной микробиологии,
инфекционных и инвазионных болезней
Института ветеринарной медицины и биотехнологии

Ведущая организация: **ФГБНУ «Всероссийский научно-
исследовательский институт ветеринарной
санитарии, гигиены и экологии»**

Защита состоится 10 ноября 2016 г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета Д 220.062.02 при ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» по адресу: 355017, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 12.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» и на официальном сайте ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» <http://www.stgau.ru>.

Автореферат размещен на официальных сайтах ВАК Минобрнауки РФ <http://www.vak.ed.gov.ru> «___» _____ 2016 г. и ФГБОУ ВО Ставропольский ГАУ <http://www.stgau.ru> «___» _____ 2016 г.

Автореферат разослан «___» _____ 2016 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Дьяченко Юлия Васильевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. На предприятиях по производству и переработке животноводческой продукции возникает необходимость организации и проведения четкой системы ветеринарно-санитарных мероприятий. Отсутствие организованного ветеринарного обслуживания ферм отрицательно влияет на ритмичность работы, производительность труда, а также препятствует получению продукции высокого санитарного качества. Возникновение различных заболеваний, особенно заразного характера, может привести к нарушению ритмичности производства и большим экономическим потерям. Атмосферный воздух является жизненно важным компонентом окружающей природной среды, неотъемлемой частью среды обитания человека, растений и животных, следовательно, необходимо проводить мониторинг состояния и контролировать степень загрязнения воздуха в условиях интенсификации животноводства (Смирнов А. М., Дорожкин В. И., Гуненкова Н. К., 2015).

Одна из основных задач, направленных на обеспечение ценным в племенном отношении животным благоприятных условий – это создание высокого уровня санитарного состояния промышленного животноводческого комплекса. Известно, что условно-патогенная микрофлора имеет широкое распространение как в организме животных, так и в окружающей среде. Ставить перед собой задачу полного уничтожения микроорганизмов неверно, так как это невозможно, да и нецелесообразно. Микроорганизмы окружающей среды и животные в условиях определенного помещения являются неотъемлемой частью единого целого (Сысоева М. М., Попов Н. И., 2011).

Высокая степень обсемененности воздушной среды и других объектов животноводческих помещений является характерной для современных ферм, тем более в условиях длительного стойлового содержания животных. Профилактика заболеваний, обусловленных микробной обсемененностью воздушной среды закрытых помещений, должна базироваться на знании допустимого количества и свойств этой микрофлоры в окружающей среде (Прокопенко А. А., 2015).

Своевременная индикация микроорганизмов в воздушной среде предприятий по производству и переработке животноводческой продукции и других элементах внешней среды, количественная и качественная оценка популяций позволят предвидеть возможность возникновения, развития и распространения болезней. Систематический контроль обсемененности воздушной среды микроорганизмами, снижение их пороговой численности являются необходимым условием научной организации ветеринарно-санитарных мероприятий на животноводческих фермах (Кононенко А. Б., Банникова Д. А., Бритова С. В., Савинова Е. П., Стрелков А. А., Светличкин О. В., Набиуллина Д. Н., Лобанов А. В., 2015).

Значимости представителей естественной микрофлоры воздуха (бактерий, спор микроскопических грибов, других сапрофитов и различных экотоксифоров) в настоящее время не уделяется должного внимания. Эта микрофлора (даже убитая), попадая в организм аэрогенным путем, может оказывать

весьма существенное влияние на иммунную систему животного организма. В одном случае она стимулирует защитные реакции организма, в другом, наоборот, угнетает или обуславливает возникновение иммунопатологических состояний. Особое значение эти вопросы приобретают при длительном стойловом содержании животных и отсутствии условий для проведения тщательной санации животноводческих помещений (Волков Г. К., 2000).

На животноводческих предприятиях промышленного типа, где имеет место высокая концентрация животных, на людей и животных неблагоприятно воздействуют высокое содержание бактериальной обсеменённости воздуха, аммиака и углекислого газа. Но на предприятиях имеется высокотехнологичное оборудование, способное удалять излишнюю часть газовых примесей из помещения для создания более комфортных условий содержания и эксплуатации животных. Другая проблема – бактериальная обсеменённость воздуха в помещениях с животными. Как известно, устойчивость к антибактериальным препаратам даёт возможность микроорганизмам циркулировать в организме животных и во внешней среде, обеспечивая тем самым широкое распространение в том числе и в воздушной среде (Кушнир А. Т., Буреев И. А., Селянинов Ю. О., Боченин Ю. И., Джавадов Э. Д., Коротков О. В., 2016).

Однако определение допустимого содержания микроорганизмов, их количественный и качественный состав в воздушном пространстве помещений, где содержатся высокопродуктивные животные и молодняк, должно быть неотъемлемой частью технологического процесса. Мониторинг данных позиций должен быть заложен в основу профилактики инфекционных болезней животных в условиях современного животноводческого комплекса (Дмитриев А. Ф., Морозов В. Ю., 2005).

Степень разработанности темы. Значительная часть работ по изучению количественного и качественного состава микрофлоры воздуха молочного комплекса (Гизатулин А. Н., 1996; Гуцин В. Н., Потемкина Н. Н., Анашин В. М., 1999; Каштанов А. В., 2003) не в полной мере раскрывают данную тему.

Выполнялись работы по исследованию новых методов посева для определения общего микробного числа и коли-индекса (Влодавец В. В., 2002; Воробьев А. А., Кривошеин Ю. С., Ширококов В. П., 2003; Высоцкий А. Э., 2006), но исследования улавливающей жидкости с помощью экспресс-методов, в свою очередь, как и контроль качества дезинфекции воздуха закрытых помещений, не проводились.

Цель и задачи исследования – мониторинг количественного и качественного состава микрофлоры воздушной среды помещений в условиях молочного комплекса Ставропольского края; оптимизация подходов к использованию различных устройств для исследования бактериальной обсеменённости воздуха, контроля качества деконтаминации и методов культивирования.

Для достижения намеченной цели нами были поставлены следующие задачи:

- провести испытания устройств для санитарно-бактериологического анализа воздуха в условиях животноводческого комплекса;

- изучить количественный и качественный состав микроорганизмов в животноводческих помещениях на разных этапах технологических циклов и в зависимости от сезона года;
- провести оценку различных методов посева улавливающей жидкости;
- оценить качество дезинфекции воздушной среды животноводческих помещений с помощью предлагаемого устройства и метода посева.

Научная новизна. В условиях современного животноводческого комплекса проведено определение качественного и количественного состава микрофлоры воздуха помещений, где содержатся высокопродуктивные животные, сравнительный анализ бактериальной обсеменённости воздуха животноводческих помещений с учётом технологического цикла и сезонного фактора. Разработан и предложен производству метод мониторинга бактериальной обсеменённости воздуха животноводческих помещений.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные данные исследований позволили рекомендовать на производстве усовершенствованную технологию определения количественного и качественного состава микроорганизмов в воздухе животноводческих помещений. Определение бактериальной обсеменённости воздуха, в свою очередь, позволяет своевременно проводить профилактические мероприятия.

Способ определения бактериальной обсеменённости и коли-индекса воздуха с помощью предлагаемого устройства для отбора проб и метод посева внедрены в деятельность специалистов ветеринарного профиля, а также являются дополнительным материалом в научно-практической работе и используются в учебном процессе на факультете ветеринарной медицины по специальности – 36.05.01 «Ветеринария» в ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» (СтГАУ).

Методология и методы диссертационного исследования. Методологической составляющей исследований явились следующие положения:

- устройство для санитарно-бактериологического исследования воздуха отличается большей эффективностью в сравнении со стандартными методами, поскольку сочетает в себе следующие методы осаждения частиц: инерционный, седиментационный и фильтрационный;
- бактериальное обсеменение воздуха в животноводческих помещениях влияет на иммунобиологическое состояние животных;
- определение бактериальной контаминации воздуха закрытых помещений позволяет проводить своевременные мероприятия по ее снижению.

При выполнении работ использовались общепринятые методы научного познания: взаимосвязь и взаимообусловленность; синтез и анализ; обобщение и сравнение; наблюдение, измерение и интерпретация; специальные методы: бактериологические, клинические, биохимические, гематологический.

Для анализа результатов исследований применялись статистические и математические методы, позволяющие обеспечить достоверность и объективность полученных данных.

Апробация полученных результатов. Результаты исследований и основные положения диссертации доложены, обсуждены и одобрены на ежегодных научно-практических конференциях ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» (2010–2016 гг.).

Степень достоверности. Проведен существенный объем исследований, выполненных в разных корпусах молочного комплекса с достаточным количеством поголовья животных с применением апробированных методик, запатентованных устройств и специального оборудования в аккредитованной лаборатории. Беспристрастность выводов и научных положений подтверждается использованием биометрической обработки данных экспериментов.

Личный вклад соискателя. Диссертационная работа является пятилетним результатом исследований автора. В работах, опубликованных по теме диссертации, выполненных в соавторстве, весомая часть исследовательской деятельности принадлежит Д. А. Сытник. Проведение исследований, изложение и практическая реализация результатов осуществлены при личном участии соискателя (доля участия диссертанта составляет 85 %).

Диссертационная работа выполнялась под руководством действительного члена РАН, заслуженного деятеля науки РФ, почётного работника высшего профессионального образования РФ, доктора биологических наук, профессора Анатолия Федоровича Дмитриева.

Основные положения, выносимые на защиту:

- новые устройства для микробиологического анализа воздуха (Пат. 141343 от 17.04.2014; А. св. 927855 от 15.05.1982) обеспечивают высокую эффективность улавливания флоры за счет ударного действия воздушной среды, седментации и фильтрации;
- метод посева улавливающей жидкости на подложки RIDA® COUNT для определения бактериальной обсемененности воздуха по чувствительности и специфичности не уступает классическому (стандартному) методу, но имеет преимущество по затратам времени;
- показатели микрофлоры воздушной среды (общее микробное число и коли-индекс) в помещениях молочного комплекса зависят от плотности содержания поголовья, сезона года и принятой технологии.

Публикации материалов диссертации. По материалам диссертационной работы опубликованы семь научных работ, в том числе три статьи в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ. Получен патент на полезную модель.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 118 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 15 таблицами, 21 рисунком. Состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, собственных исследований, обсуждения результатов исследований, выводов, практических предложений, списка литературы, включающего 231 источник, в т. ч. 28 – иностранных авторов, и приложений.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Данная часть посвящена рассмотрению имеющихся в литературе сведений об методах и устройствах бактериологического исследования воздуха, обсеменности воздушного бассейна животноводческих помещений биологическими аэрозолями, влиянии микробной обсеменённости воздуха животноводческих помещений на иммунобиологическое состояние телят и о взаимосвязи бактериальной обсеменённости воздушной среды комплексов с уровнем продуктивности коров.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы, методы и условия проведения исследований

2.1.1. Условия проведения исследований

Исследования проводились в условиях племенного репродуктора ОАО «Урожайное» Новоалександровского района Ставропольского края. Объектом служили различные помещения комплекса. Лабораторные исследования проводились в ФГБУ «Ставропольская межобластная ветеринарная лаборатория» и на кафедре эпизоотологии и микробиологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» с 2011 по 2014 год.

Предметом исследований явилась бактериальная обсеменённость воздушной среды помещений молочного комплекса с животными различных технологических групп ярославской породы.

Содержание животных соответствует действующим Санитарным правилам для животноводческих предприятий (Сан Пин 4542–87). Кормление телят проводилось в первый час после рождения молозивом от здоровых коров или замороженным молозивом. Затем по истечении молозивного периода животные получали цельное пастеризованное молоко при помощи «молочного такси» фирмы Milkline (Германия).

Телята в течение первых 5 суток с момента рождения содержались в индивидуальных боксах, а затем их формировали в группы для перевода в клетки на глубокой подстилке по 7 голов.

Корпус для содержания телят разделён на две зоны: зона, где расположены боксы с индивидуальными клетками для телят, в которых животные содержатся до истечения «молозивного» периода, и зона, где животные содержатся в общих клетках до достижения 3-месячного возраста. Объём корпуса составляет 8 000 м³.

Кормление коров и ремонтного молодняка осуществлялось по общепринятым нормам. В рацион животных входили следующие корма: сенаж люцерновый, сенаж овёс с горохом, силос кукурузный, жом свекловичный и жмых подсолнечника. В цехе доразивания молодняка и в родильном отделении содержание животных беспривязное на глубокой подстилке, а в дойных корпусах привязное, полы выстланы специальными резиновыми ковриками, поение животных осуществлялось из системы центрального водоснабжения при помощи автоматических поилок.

Объём родильного отделения составляет 9 500 м³. Оно состоит из зоны, где на глубокой подстилке содержатся глубоко стельные животные, сформирова-

рованные в группы по сроку отёла, а также зоны, где происходит отёл животных и последующее доение в течение периода ветеринарного контроля.

В эксплуатационный режим данного корпуса включены ежедневная уборка навоза и досыпка подстилки животным. Ежедневно ветеринарная служба комплекса проводит дезинфекцию доильной площадки и боксов для проведения отёлов.

В доильном корпусе содержатся высокопродуктивные животные, объем помещения составляет 8 000 м³. Содержание животных в доильном корпусе привязное, животные разделены по периодам лактации на группы. Ежедневно раздача корма и подстилки осуществляется автоматически. Животные обеспечены моционом.

В цехе дорастивания молодняка содержатся животные в возрасте 8–12 месяцев, объем помещения составляет 10 000 м³. Корпус разделён на равные секции для группового беспривязного содержания телят на глубокой подстилке, раздача корма и подстилки осуществляется автоматически.

Концентрация поголовья животных в родильном отделении регулировалась исходя из плана по запуску и отёлов коров и нетелей. В корпусе дорастивания молодняка – согласно плану по изолированному выращиванию молодняка племенных животных, а в корпусе с дойными коровами – исходя из количества удоя и сроков стельности животных. Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Состав поголовья на молочном комплексе за 2013 г.

Месяц	Помещение комплекса			
	Телятник	Родильное отделение	Корпус дорастивания молодняка	Доильный корпус
	Количество животных			
1	159	88	190	166
2	203	92	169	191
3	190	71	175	178
4	220	84	182	188
5	160	85	195	174
6	142	87	199	195
7	161	84	173	184
8	187	84	184	179
9	177	89	196	169
10	187	72	179	185
11	162	85	188	197
12	157	85	195	166
Вместимость кор.	200	100	200	200

Среднегодовая загруженность корпусов животными в период проведения исследований составляла: телятник – 83,6; родильное отделение – 83,8; корпус дорастивания молодняка – 92,7; доильный корпус – 90,5 %.

Для проведения исследования была предложена следующая схема исследований (рисунок 1).

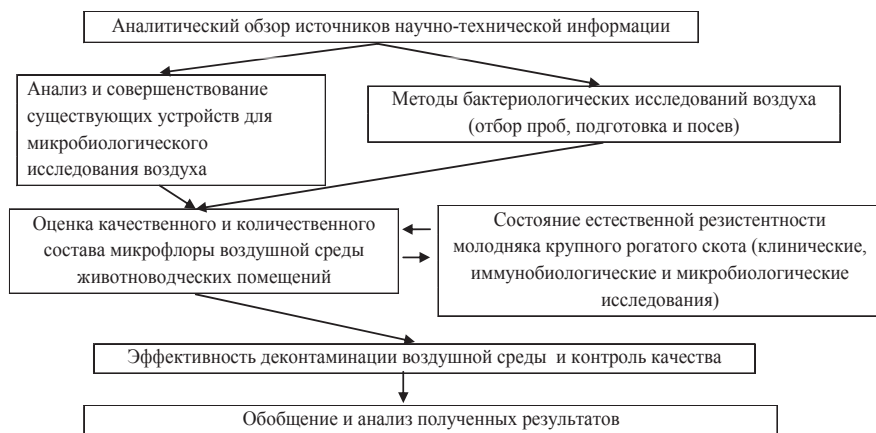


Рисунок 1 – Схема исследований

2.1.2. Технические средства и технологическое обеспечение исследований

При разнообразии предложенных и испытанных на практике приборов микробиологического исследования биологических аэрозолей в помещении, а также с учётом ряда их недостатков мы усовершенствовали и рекомендовали для применения улавливатель микроорганизмов (рисунок 2), отличающийся новыми конструктивными особенностями и действием. Он состоит из конусообразной емкости 1, в нижнюю часть которой заливают улавливающую жидкость 2, а в верхней части под сеткой 3 устанавливают фильтр 4 с помощью эластичного уплотнительного кольца 5, который прижимается крышкой 6. Верхняя часть крышки 6 выполнена в форме штуцера. В средней части конусообразной емкости 1 выполнено отверстие малого диаметра под углом 45° к вертикальной оси конусообразной емкости 1. К конусообразной емкости 1 в средней ее части напротив отверстия малого диаметра при помощи резьбового соединения присоединяется тонкая трубка 7, которая одним торцом направлена к улавливающей жидкости 2, а другим подключена к входному торцу клапана 8, выходной торец которого подключен к осевому завихрителю воздуха 9 (Пат. 141343 от 17.04.2014).

Для проведения исследований конусообразную емкость 1 заполняли стерильным 0,5 % физиологическим раствором 2 в объеме 2 мл. Фильтр 4 устанавливали в верхней части емкости 1 с помощью сетки 3 и эластичного уплотнительного кольца 5, которое прижимается к корпусу емкости 1 крышкой 6. При помощи вакуумной трубки (аспиратор – модель 822, на рисунке не указан) улавливатель присоединяли к электроаспиратору и проводили отбор проб в режиме 20 л/мин в течение 2 мин. При включении электроаспиратора создается разрежение воздуха в

емкости 1, обеспечивающее поступление в конусообразную емкость 1 исследуемого воздуха через тонкую трубку 7. Благодаря тому, что тонкая трубка 7 имеет малый диаметр, скорость воздушного потока, в соответствии с уравнением Бернулли о неразрывности среды, значительно увеличивается по сравнению со скоростью движения воздуха на остальных участках траектории движения воздуха. Увеличенная скорость воздушного потока и направление этого потока, задаваемое осевым завихрителем 9, тонкой трубкой 7, создают условия, при которых с поверхности улавливающей жидкости происходит отделение аэрозольных частиц, к которым прилипают пылевые части и микроорганизмы, находящиеся во всасываемом воздухе. Микроорганизмы, не отделившиеся от воздуха, осаждаются на стенках конусообразной емкости 1 и на нижней поверхности рабочего фильтра 4.

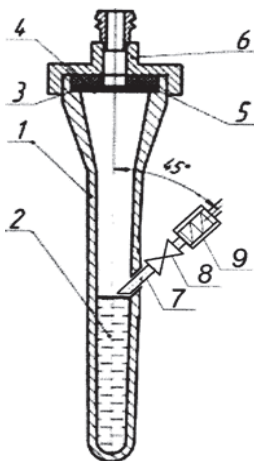


Рисунок 2 – Схема улавливателя микроорганизмов

После отключения электроасpirатора улавливатель переворачивали несколько раз, вследствие чего внутренняя поверхность конусообразной емкости 1 омывалась улавливающей жидкостью 2. Клапан 8 предотвращает вытекание улавливающей жидкости 2 через тонкую трубку 7, жидкость отбирали в стерильные пробирки для дальнейшего исследования. Стерилизацию прибора проводили в автоклаве UNISTERI HP 363 при 110 °С 10 мин и давлении 0,1 мПа.

Также в нашей работе использовался прибор санитарно-бактериологического анализа воздуха (рисунок 3), который содержит воздуховод 1, съемный штуцер 2, накопительные емкости 3, в которых соосно расположены воздухозаборные трубки 4 с воронками 5 на одном конце и распределительная камера 6, имеющая в нижней части отверстия 7 для размещения накопительных емкостей 5.

Воздухозаборные трубки 4 регулируются с помощью гаек 9. Накопительные емкости 3, имеющие коническую форму, выполнены съемными и закреплены с помощью накидных гаек 9 с уплотнительными прокладками 10.

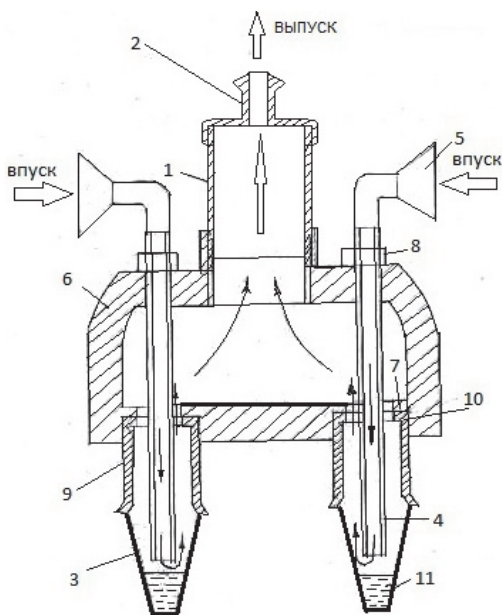


Рисунок 3 – Схема прибора санитарно-бактериологического анализа воздуха

Прибор стерилизовали в автоклаве UNISTERI HP 363 при 110 °С 10 мин и давлении 0,1МПа, таким же способом подготавливали штатив конических пробирок, содержащих 0,5 % физиологический раствор в объеме 2 мл.

Перед взятием пробы воздуха накопительные емкости 3 герметично присоединяли к распределительной камере. При включении электроасpirатора, присоединенного гибкой трубкой (на рисунке не указан) к съемному штуцеру 2, создается разрежение в распределительной камере 6 и накопительных емкостях 3, что способствует аспирации воздуха.

Воздух, содержащий микробные и пылевые частицы, проходя через воздухозаборные трубки 4 с высокой скоростью, ударяется об улавливающую жидкость 11 в накопительных емкостях 3, где осуществляется улавливание и осаждение микроорганизмов. Затем воздушный поток, изменив направление, поступает в распределительную камеру 6, воздуховод 1 и через съемный штуцер 2 удаляется наружу через аспиратор.

После взятия 20 л общего объема воздуха накопительные емкости 3 отсоединяют от распределительной камеры 6. Улавливающую жидкость 11 подвергают дальнейшему анализу. Последующая работа с прибором проводилась после фломбирования воздухозаборных трубок 4. Для этого присоединяли пустую коническую пробирку 3 к распределительной камере 6, включали электроасpirатор в режиме 20 л/мин и подносили открытый огонь горелки

к воздухозаборным трубкам на 3–5 с. Отбор проб воздуха повторяли после замены пробирок с улавливающей жидкостью и фломбирования (обжигания) воздухозаборных трубок пламенем спиртовки.

Испытание устройств для санитарно-бактериологического анализа воздуха проводили в условиях помещений для животных на молочном комплексе ОАО «Урожайное» Новоалександровского района в период с 2011 по 2013 год.

Помещениями для проведения исследований послужили: корпус с дойными коровами, корпус доращивания ремонтного молодняка, родильное отделение и телятник.

Отбор проб воздуха осуществляли в помещениях с разной плотностью животных, с разными половозрастными группами и неодинаковыми условиями содержания, эксплуатации и кормления животных.

Учитывая конструктивные особенности помещений и концентрацию поголовья, отбор проб воздуха осуществляли в различных точках помещений. Для высокой достоверности полученных результатов бактериологическое исследование воздушной среды проводили ежемесячно в течение всего периода проведения исследований, учитывали количество животных в помещении. В течение суток отбор проб воздуха в каждом помещении осуществляли в утренние часы, когда животные находились в относительном покое (до осуществления дачи кормов, замены подстилки, выпайвания телят и доения коров), и в дневное время, когда осуществлялись данные мероприятия.

2.1.3. Методы исследований

Микробиологические исследования. Анализ улавливающей жидкости проводили согласно методическим указаниям. Для посева использовали диагностические среды: Байрд-Паркер, питательный бульон с 1 % глюкозой, KF (агар на стрептококки), ЩПС (щелочно-полимиксиновая среда), МИС (молочно-ингибиторная среда), Рамбах агар, ES (колиформный агар), SS (сальмонелла-шигелла), DCLS (дезоксихолатный цитратный лактоза-сахарозный агар), XLD (ксилосо-лизин-дезоксихолатный агар), Сабуро, Чапека фирмы Merck (Германия). Биохимические исследования выделенных культур проводили на тест-системах Арі фирмы bioMérieux (Франция).

Метод определения КМАФАнМ проводился глубинным посевом. Сущность его заключается в определении в 1 см^3 жидкости общей концентрации мезофильных, мезотрофных аэробов и факультативных анаэробов, имеющих возможность расти на питательном агаре данного приготовления при $37(\pm 0,5) \text{ }^\circ\text{C}$ в течение $24(\pm 2)$ ч, образуя колонии, видимые при увеличении.

Питательный агар расплавляли в водяной бане и охлаждали до температуры $45(\pm 5) \text{ }^\circ\text{C}$. Из каждой пробы улавливающей жидкости засеивали в каждую из двух чашек по 1 см^3 . После внесения проб в чашки Петри заливали

10–12 см³ питательного агара, предварительно остуженного, фламбируя края бутылки, где он содержался.

Образец быстро смешивали с агаром, вращая или осторожно наклоняя чашку, после этого чашки оставляли до застывания среды. После затвердения агара чашки с посевами вверх дном помещали в термостат. Посевы инкубировали при 37(±0,5) °С в течение 24(±2) ч.

С помощью лупы подсчитывали колонии, выросшие как в глубине, так и на поверхности агара. В дальнейшем проводили перерасчет количества микробных тел на 1 л воздуха.

Коли-индекс воздуха определяли путем пересчета бактерий группы кишечной палочки, выросших при 37(±0,5) °С на среде Эндо. К БГКП относятся не образующие спор палочки, грамтрицательные, сбразивающие глюкозу с выделением кислоты и газа при 37(±0,5) °С в течение 24 ч или сбразивающие лактозу с выделением кислоты и газа при 37(±0,5) °С в течение 24–48 ч и не обладающие оксидазной активностью (ГОСТ 18963–73, ГОСТ Р 52426–2005).

Альтернативный метод исследования проводился на подложках RIDA® COUNT Total, предназначенных для выявления и подсчета количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМА-ФАНМ) при культивировании в аэробных условиях. Подложки представляют собой готовую систему для нанесения исследуемого образца на питательную среду, содержащую стандартный набор питательных веществ и хромогенный субстрат. Восстановление хромогена (ТТС-красный) в точках роста бактерий приводит к окрашиванию образующихся колоний в красный цвет, что значительно облегчает подсчет колоний при использовании в качестве разбавителя MRS-бульона и при инкубировании посевов в анаэробных условиях.

После инкубирования подложек RIDA® COUNT E. coli/Coliform учитывали колиформные бактерии и E. coli, окрашенные в определенный цвет в соответствии с применяемым хромогенным субстратом (MP 02.011–06).

Контроль качества дезинфекции воздушной среды животноводческих помещений. Дезинфекцию помещений проводили с использованием установки ДУ–750 методом распыления раствора VIROCID в концентрации 0,25 % при норме расхода 0,25 л/м² и экспозиции 20 мин в присутствии животных. В центрифужные пробирки с 2 мл физиологического раствора с помощью прибора отбирали по 20 л воздуха до и после дезинфекции. В последующем в пределах пламени спиртовки проводили посев стерильными пипетками на подложки RIDA® COUNT Total и RIDA® COUNT E. coli/Coliform по 1 мл из одной пробирки в каждую из подложек.

Для проведения сравнительных испытаний альтернативного и стандартного метода посевов использовалась улавливающая жидкость, отобранная в боксе III–IV группы патогенности и без посторонней контаминации воздушной среды. Пробы воздуха отбирались в количестве 30 в течение дня, также

использовались аналитические жидкости, схожие с улавливающей, но с искусственно контаминированными условно-патогенными микроорганизмами (*Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*) в концентрации 1:10, 1:100, 1:1000 микробных тел в 1 л воздуха (м. т/л).

Патогенность выделенных культур микроорганизмов. Выращенную чистую микробную культуру на мясоептонном агаре смывали водным раствором хлорида натрия так, чтобы в нем содержалось определенное количество микробных тел в 1 мл. Приготовленную взвесь из культур осторожно вводили. Количество вводимой суспензии не превышало 1 мл. Контроль за животными проводили ежедневно, павших вскрывали в ламинарном боксе, учитывали патологоанатомические изменения и проводили посев внутренних органов на питательные среды для получения чистой исследуемой культуры.

Токсичность грибов и дрожжей. Экстракт приготавливали из измельченных пленок отдельных культур (выросших на питательных средах Сабуро или Чапека), залитых ацетоном, и экстрагировали в течение 24 ч при комнатной температуре. Затем жидкость сливали через бумажный фильтр в выпарительную чашку. Экстракт концентрировали в вытяжном шкафу до полного удаления запаха растворителя. В чашку добавляли растительное масло, чтобы общий объем пробы был не менее 1 см³. Для исследования брали кроликов белой или серой масти, на боку или бедре выстригали участок размером 6 см² и стеклянной лопаткой наносили половину экстракта. Вторую часть втирали на следующий день. Учет реакции проводили ежедневно, по глубине и характеру воспалительного процесса судили о токсичности гриба.

Гематологические исследования. Образцы крови отбирали из хвостовой вены в одноразовые вакуумные шприцы-контейнеры фирмы SARSTEDT Monovette (Германия) (в системе содержатся инертные шарики, покрытые каолином). Определение количества гемоглобина, эритроцитов и лейкоцитов (лейкоцитарной формулы) проводили на гематологическом анализаторе МЕК-6450к фирмы NIHON (Япония). Два миллиметра крови переносили в контейнер для образцов и аккуратно перемешивали, на приборе вводили порядковый номер животного, его вид и режим разведения. Погружали пробоборборник прибора в образец крови так, чтобы он не касался дна контейнера. При нажатии кнопки «Счет» кровь всасывалась и на экране появлялось сообщение «измерение». По окончании измерений на экране появлялись цифровые данные и гистограмма. Потом результаты анализа распечатывались на принтере.

Биохимические исследования. Для изучения влияния бактериальной обсеменённости воздушной среды помещения на состояние здоровья животных в течение года проводили биохимические исследования крови у телят. Анализ сыворотки крови проводили на автоматическом анализаторе StatFax-3300 фирмы Awareness Technology, Inc. (США) с использованием наборов реак-

тивов фирмы Ольвекс Диагностикум (Россия). Проводили определение общего белка, щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы (ЛДГ), аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ). В калибровочные пробы и пробы сыворотки крови без гемолиза добавляли реакционную смесь из набора и инкубировали в течение 5 мин при комнатной температуре. На приборе устанавливали длину волны согласно инструкции для каждого набора. После прогрева лампы анализатора и его калибровки в измерительную ячейку вставляли кювету с пробой. Прибор выполнял измерения и распечатывал результат. Затем анализатор запрашивал измерить следующую пробу. Расчет концентрации исследуемого показателя проводили согласно формуле, указанной в инструкции.

Обработка числовых данных проводилась в программе BioStat 2009 и Microsoft Excel. Сравнительные испытания методов посева улавливающей жидкости проводили по ГОСТ Р ИСО 16140–2008.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Эффективность применения устройств для санитарно-бактериологического анализа воздуха

Пробы воздуха отбирались при одинаковых условиях и количестве для улавливателя микроорганизмов и прибора для санитарно-бактериологического анализа воздуха (рисунок 4).

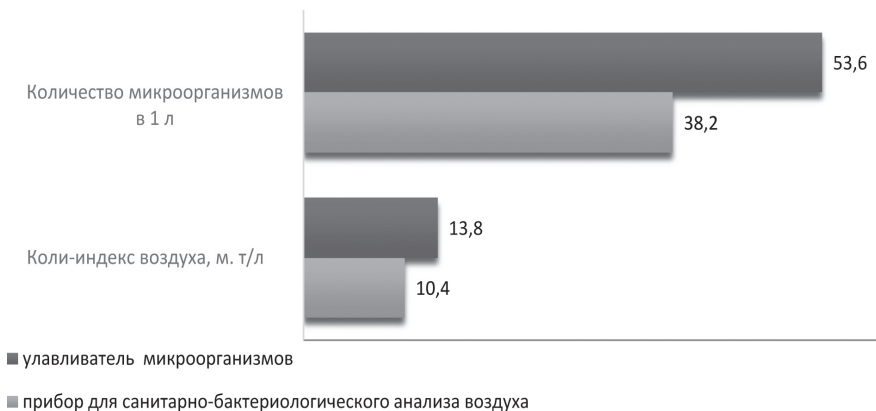


Рисунок 4 – Сравнительные испытания прибора для санитарно-бактериологического анализа воздуха и улавливателя микроорганизмов

Как видно на диаграмме, показатели общего количества микроорганизмов и коли-индекс воздуха у улавливателя микроорганизмов выше на 15,4 м. т/л (28,7 %) и 3,4 м. т/л (24,6 %) соответственно, чем у прибора для санитарно-

бактериологического анализа воздуха. Это свидетельствует о большей эффективности осаждения частиц воздуха на улавливающую жидкость.

3.2. Количественный состав микрофлоры воздуха закрытых помещений молочного комплекса.

Изменение показателей в течение года

В исследуемых помещениях животноводческого комплекса определяли микробную контаминацию воздушной среды, т. е. содержание в 1 л воздуха микробных клеток.

Данные об общей бактериальной обсеменённости и коли-индекс воздушной среды в родильном отделении представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Общая бактериальная обсеменённость и коли-индекс воздуха в родильном отделении с учетом количества отелов

Месяц	Количество отёлов	Количество микроорганизмов в 1 л	Коли-индекс воздуха м. т/л
1	48	54,28	8,44
2	60	69,43	9,19
3	71	81,71	10,65
4	66	75,62	8,45
5	49	59,61	7,21
6	48	57,27	8,30
7	58	68,21	10,7
8	44	44,29	8,41
9	45	41,51	6,19
10	47	46,67	7,24
11	51	57,77	8,5
12	51	55,24	9,09

Показатели общей бактериальной обсеменённости и коли-индекса воздуха в родильном отделении в течение периода исследования варьировали в различной степени. Наивысшее максимальное значение бактериальной обсеменённости было отмечено в марте и составило 81,71 м. т/л, а минимальное значение – в сентябре, 41,51 м. т/л. Максимальное число коли-индекса воздуха в помещении, где содержатся глубоководные животные, было отмечено в июле и составило 10,7 м. т/л, а наименьшее значение этого показателя – в сентябре, 6,19 м. т/л.

Данные общей бактериальной обсеменённости и коли-индекс воздушной среды в помещении телятника представлены в таблице 3.

Показатели общей бактериальной обсеменённости и коли-индекса воздуха в помещении телятника в течение периода исследования варьировали в различной степени: так, наивысший уровень бактериальной обсеменённости был отмечен в апреле и составил 66,76 м. т/л, а наименьший – в июле, 35,29 м. т/л.

Таблица 3 – Общая бактериальная обсеменённость и коли-индекс воздушной среды телятника

Месяц	Количество животных	Количество микроорганизмов в 1 л	Коли-индекс воздуха, м. т/л
1	159	40,62	7,21
2	203	56,54	10,37
3	190	53,67	9,64
4	220	66,76	11,12
5	160	43,65	4,5
6	142	39,69	4,03
7	161	35,29	4,9
8	187	37,47	7,29
9	177	41,62	9,41
10	187	49,11	12,91
11	162	49,51	6,25
12	157	44,77	5,20

Наивысшая степень коли-индекса воздуха в помещении, где содержатся телята, была отмечена в октябре и составила 12,91 м. т/л, а наименьшее значение этого показателя зарегистрировано в июне, 4,03 м. т/л.

3.3. Определение видового состава микрофлоры воздуха в помещениях животноводческого комплекса на разных этапах поточно-цеховой технологии

Для качественного исследования микрофлоры проводили микробиологические исследования проб воздуха в исследуемых помещениях (таблица 4, рисунок 5). По материалам данного раздела опубликована статья в соавторстве с В. Ю. Морозовым и А. В. Агарковым.

В пробах воздуха из телятника были выделены в большей степени монокультуры, что составило 56 % от общего числа, в частности *E. coli* – 22 %, однако высокой патогенностью обладали культуры *Staph. aureus* – 46,1 %, также были обнаружены ассоциации микроорганизмов, что составило 44 %, в частности *Str. faecalis* и *E. coli* – 32 % с патогенностью 82,3 % изолятов.

Таблица 4 – Качественные показатели микрофлоры воздушной среды в телятнике и корпусе дорастивания молодняка

Культуры, n = 100	Телятник			Корпус дорастивания молодняка		
	Всего	В т. ч. патогенных		Всего	В т. ч. патогенных	
	Кол-во	Кол-во	%	Кол-во	Кол-во	%
Монокультуры	56	13	23,2	61	17	27,9
<i>Staph. aureus</i>	11	6	46,1	26	3	17,6
<i>Str. aecalis</i>	14	3	23,1	12	4	23,5
<i>E. coli</i>	22	2	15,3	16	5	29,4
<i>Aspergillum spp</i>	4	0	0	3	2	11,8
<i>Candida spp</i>	5	2	15,3	4	3	17,6
Ассоциации	44	17	38,6	39	15	24,6
<i>Str. faecalis, E. coli</i>	32	14	82,3	32	8	53,3
<i>Aspergillum, Candida spp</i>	12	3	17,7	7	7	46,7

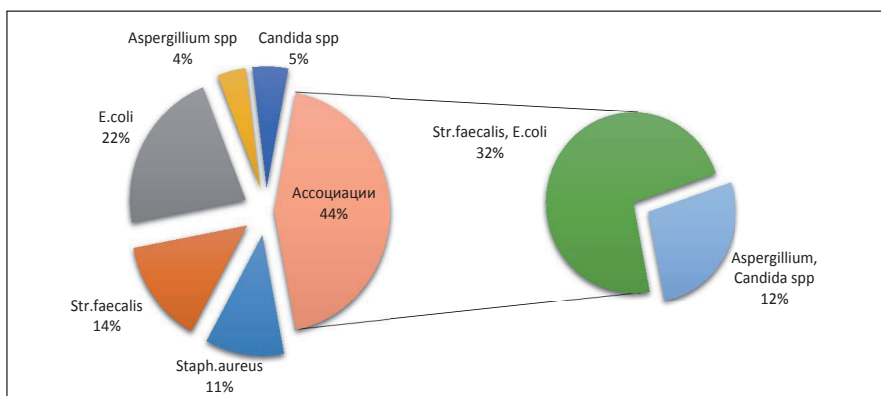


Рисунок 5 – Видовой состав микрофлоры воздушной среды телятника

При исследовании проб воздуха из корпуса дорастивания молодняка (таблица 4, рисунок 6) были выделены в большей степени монокультуры, что составило 61 %, в частности *Staph. aureus* – 26 %, однако высокой патогенностью обладали культуры *E. coli* – 29,4 %, также были обнаружены ассоциации микроорганизмов, что составило 39 %, в частности *Str. faecalis* и *E. coli* – 32 % с патогенностью 53,3 % изолятов.

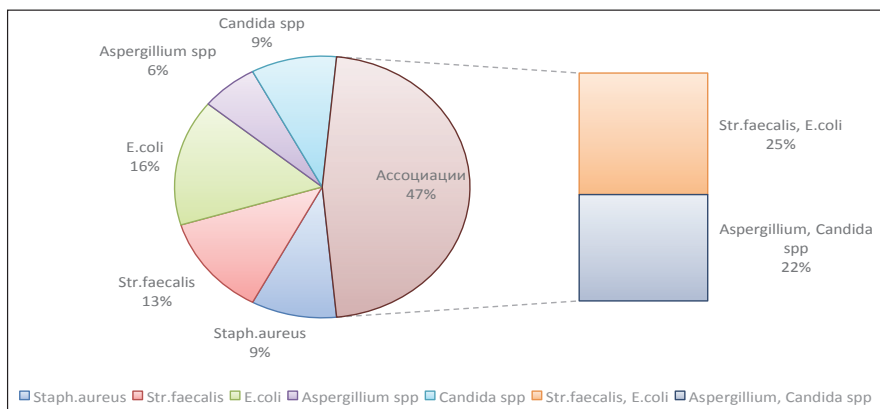


Рисунок 6 – Патогенные культуры, выделенные из проб воздуха корпуса доразщивания молодняка

3.4. Результаты сравнительных испытаний различных методов посева улавливающей жидкости

В задачу наших исследований входило проведение сравнительных испытаний посева улавливающей жидкости стандартного метода и альтернативного на подложки RIDA® COUNT.

Данные сравнительной характеристики методов посева представлены в таблицах 5, 6.

Таблица 5 – Сравнительная оценка методов определения общего микробного числа ($n = 30$)

Критерий оценки	Метод посева	
	Альтернативный	Стандартный
Чувствительность метода, %	96,5	94,3
Специфичность метода, %	97,1	93,9
Затраты времени, мин	3 мин	20 мин

Таблица 6 – Сравнительная оценка методов определения коли-индекса воздуха ($n = 30$)

Критерий оценки	Метод посева	
	Альтернативный	Стандартный
Чувствительность метода, %	95,9	89,3
Специфичность метода, %	96,8	88,7
Затраты времени, мин	3 мин	10 мин

Критерии оценок, представленные в таблицах 5, 6, доказывают, что методы определения общего микробного числа и коли-индекса с помощью планшетов RIDA® COUNT отличаются от стандартных методов по показателям чувствительности и специфичности методов, а также требуют меньших затрат времени на проведение исследования.

3.5. Гематологические и биохимические показатели у коров и телят

Проведено исследование по изучению гематологических и биохимических показателей крови у телят и коров для оценки иммунного статуса животных.

В результате проведённых гематологических исследований телят были получены следующие показатели (таблица 7).

Таблица 7 – Гематологические показатели у телят в течение периода исследований ($n = 30$)

Месяц	Гемоглобин, г/л	Эритроциты, $10^{12}/л$	Лейкоциты, $10^9/л$	Лейкоцитарная формула, %			
				Палочко-ядерные нейтрофилы	Сегментоядерные нейтрофилы	Эозинофилы	Лимфоциты
1	117±17	6,30±0,9	9,8±0,7	4,9±0,2	30,2±1,2	5,3±0,1	59,0±2,4
2	111±14	6,25±0,11	11,3±0,9	4,1±0,1	34,42±1,3	4,1±0,3	50,4±3,1
3	153±13	9,68±0,3	15,5±1,1	6,5±0,9	43,2±0,9	3,1±0,1	35,1±2,5
4	144±19	9,63±0,6	14,8±1,13	6,3±1,1	46,7±1,1	3,3±0,4	36,2±1,9
5	103±4	7,01±0,13	11,5±0,9	4,9±1,2	31,7±1,0	4,2±0,7	32,4±2,7
6	124±6	6,38±0,11	11,0±0,1	4,2±0,7	31,2±2,5	5,1±0,3	44,5±2,2
7	119±17	6,41±0,5	9,6±0,3	3,2±0,11	28,3±2,1	4,4±0,2	50,0±3,5
8	123±13	6,54±0,3	10,8±0,6	3,5±0,9	29,8±1,4	5,3±0,1	39,2±2,0
9	109±12	6,52±0,2	10,5±0,5	4,1±0,1	31,1±1,2	7,9±0,1	31,5±2,7
10	99±9	6,61±0,7	10,9±0,1	4,6±2,0	33,4±2,2	6,5±0,9	34,7±2,4
11	142±4	9,61±0,5	14,56±0,3	5,7±1,9	42,9±2,0	3,3±0,7	33,1±1,7
12	143±8	9,38±0,2	15,02±0,3	6,1±2,1	44,6±1,2	3,0±0,4	36,1±1,3
Норма	99–129 (114)	5,0–7,5 (6,25)	4,5–12,0 (8,25)	2–5 (3,5)	20–35 (27,5)	3–8 (5,5)	40–75 (57,5)

При изучении гематологических показателей у телят в марте, апреле, ноябре и декабре наблюдается незначительное повышение уровня гемоглобина, количества эритроцитов и лейкоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, в лейкоцитарной формуле наблюдается снижение эозинофилов и лимфоцитов.

Определяли уровень общего белка и активность ферментов сыворотки крови: щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы, аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы (таблица 8).

Таблица 8 – Биохимические показатели сыворотки крови у телят ($n = 30$)

Месяц	Общий белок, г/л	Фермент сыворотки крови			
		Щелочная фосфатаза, Е/л	ЛДГ, мкмоль/л	АСТ, мкмоль/л	АЛТ, мкмоль/л
1	8,08±0,2	140,3±1,7	3,8±0,3	0,61±0,03	0,33±0,15
2	8,41±0,1	139,5±1,9	4,1±0,3	0,64±0,03	0,36±0,4
3	9,09±0,7	167,1±2,2	5,5±0,4	0,66±0,07	0,46±0,11
4	9,48±0,4	168,2±2,2	5,5±0,5	0,68±0,06	0,47±0,12
5	8,19±0,1	150,7±2,0	4,0±0,3	0,62±0,04	0,39±0,14
6	7,64±0,2	70,2±0,7	3,8±0,2	0,61±0,03	0,34±0,17
7	7,35±0,9	89,5±0,9	3,9±0,1	0,61±0,03	0,3±0,16
8	7,73±0,2	94,3±1,1	3,5±0,2	0,63±0,04	0,35±0,14
9	7,83±0,7	135,6±1,7	3,9±0,2	0,62±0,05	0,38±0,14
10	7,55±0,3	141,2±2,5	4,2±0,3	0,63±0,04	0,4±0,15
11	9,78±0,6	169,6±2,7	5,4±0,4	0,7±0,06	0,46±0,11
12	9,84±0,5	172,1±2,4	5,1±0,4	0,75±0,07	0,44±0,11
Норма	7,2–8,6	17,5–152,5	0,6–4,5	0,6–0,64	0,2–0,42

При анализе полученных данных установили, что уровень белка и активность ферментов сыворотки крови незначительно превышают норму в марте, апреле, ноябре и декабре.

3.6. Результаты контроля качества дезинфекции воздушной среды животноводческих помещений

В задачу исследований входил отбор проб до и после дезинфекции помещений и проведение посева для определения общего микробного числа и коли-индекса воздуха животноводческого помещения на подложках RIDA® COUNT Total и RIDA® COUNT *E. coli/Coliform* непосредственно в условиях молочного комплекса для проведения контроля качества. Результаты представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Показатели бактериальной контаминации воздуха помещений комплекса до и после дезинфекции

Помещения	До дезинфекции		После дезинфекции	
	Общее количество микроорганизмов в 1 л	Коли-индекс воздуха м. т/л	Общее количество микроорганизмов в 1 л	Коли-индекс воздуха м. т/л
Телятник	66,4	6,1	44,2	3,9
Родильное отделение	54,3	5,8	38,9	2,8
Корпус доращивания ремонтного молодняка	57,1	5,4	35,4	3,7
Корпус с дойными коровами	76,8	8,2	49,3	4,8

При анализе данных было установлено снижение общей бактериальной обсемененности воздушной среды в помещениях комплекса в среднем на 30–35 %, а коли-индекса воздуха на 30–40 %, что свидетельствует о уменьшении бактериальной контаминации воздуха при проведении дезинфекции. По материалам данного раздела опубликована статья в соавторстве с А. Ф. Дмитриевым.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предлагаемый нами улавливатель микроорганизмов обладает не только улавливающей способностью, но и за счет бактериального фильтра обеспечивает концентрацию флоры в емкости улавливателя.

Сравнительными испытаниями установили, что посев улавливающей жидкости на подложки RIDA® COUNT с последующим культивированием при сравнении с классическим методом был эффективнее, требовал меньших затрат времени и расходных материалов.

Определение контаминации воздуха бактериальной флорой с помощью улавливателя микроорганизмов и метода посева на подложки RIDA® COUNT может использоваться для оценки санитарного состояния воздушной среды животноводческих помещений.

ВЫВОДЫ

1. Установлена возможность использования прибора для санитарно-бактериологического анализа микрофлоры воздушной среды животноводческих помещений (бактериальной обсемененности и коли-индекса). Возможна его стационарная установка с последующей заменой съемных стерильных циклонов.
2. Испытаниями различных устройств, предназначенных для микробиологического исследования воздуха, установлена более высокая эффективность улавливателя микроорганизмов (Пат. 141343 от 17.04.2014) по сравнению с прибором для санитарно-бактериологического анализа воздуха (А. св. 927855 от 15.05.1982). Различия по показателям общего микробного числа и коли-индекса воздуха в пользу улавливателя микроорганизмов составили 28,7 и 24,6 % соответственно.
3. Высокая эффективность улавливателя микроорганизмов отмечается за счет полного отделения микроорганизмов от газовой фазы в жидкую среду, а наличие бактериального фильтра обеспечивает концентрацию флоры в емкости улавливателя. Конструктивные особенности устройства позволяют проводить различные варианты микробиологического анализа воздуха, так как в нем совмещены все известные методы осаждения (инерционный и седиментационный).
4. При оценке результатов посева на подложки RIDA® COUNT для определения общего микробного числа показатели чувствительности на 2,2 и специфичности на 3,2 % были выше, чем при классическом (стандартном) методе, а при определении коли-индекса – на 5,2 и 8,1 % соответственно.
5. Контроль бактериальной обсемененности воздуха с помощью испытанных устройств и метод посева на подложки RIDA® COUNT могут использоваться в животноводческих помещениях для контроля качества дезинфекции. Установлено снижение общей концентрации микроорганизмов воздуха после санации в корпусе с дойными коровами на 35,8, в корпусе дорастивания ремонтного молодняка на 38, в родильном отделении на 28,4 и в телятнике на 33,4 % после проведения дезинфекции.
6. Качественный состав микрофлоры воздушной среды помещения телятника характеризовался наличием патогенных штаммов: *Staph. aureus* – 46,1, *Str. faecalis* – 23,1, *E. coli* – 15,3 и *Candida spp* – 15,3, а в корпусе для дорастивания молодняка: *Staph. aureus* – 17,6, *Str. faecalis* – 23,5, *E. coli* – 29,4, *Aspergillum spp* – 11,8, и *Candida spp* – 17,6 %.

7. По результатам мониторинговых исследований установлена зависимость показателей бактериальной обсемененности воздушной среды (общее микробное число и коли-индекс) в помещениях молочного комплекса от концентрации поголовья, сезона года и принятой технологии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Предложена усовершенствованная модель улавливателя микроорганизмов (Пат. № 141343, МПК ВОИД 53/00. Заявка № 2013117700/05 от 17.04.2013; опубл. 27.05.2014. Бюл. № 15).
2. Предлагается контроль бактериальной обсемененности воздуха животноводческих помещений с использованием устройства для улавливания и метода культивирования флоры на подложках RIDA® COUNT.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных журналах и изданиях

1. Сытник, Д. А. Оценка ветеринарно-санитарного режима на животноводческих фермах промышленного типа [Электронный ресурс] / Д. А. Сытник, А. Ф. Дмитриев // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 6. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/120-15803>.
2. Трухачев, В. И. Способ микробиологического анализа воздуха [Электронный ресурс] / В. И. Трухачев, А. Ф. Дмитриев, В. Ю. Морозов, Л. Н. Скорых, Р. О. Колесников, Д. А. Сытник // Политемат. сет. электрон. науч. журн. Кубанского гос. аграр. ун-та (Науч. журн. КубГАУ). – Краснодар : КубГАУ, 2015. – № 4(108). – IDA [article ID]:1081504037.
3. Морозов, В. Ю. Источники контаминации воздуха закрытых помещений и видовой состав микрофлоры / В. Ю. Морозов, Д. А. Сытник, А. В. Агарков // Вестник АПК Ставрополя. – 2016. – № 1(21). – С. 73–76.

Патенты на изобретения

4. Пат. № 141343, МПК ВОИД 53/00. Улавливатель микроорганизмов / Дмитриев А. Ф., Морозов В. Ю., Черных О. Ю., Сытник Д. А., Жилин Е. И. ; заявитель и патентообладатель общества с ограниченной ответственностью научно-производственная фирма «ВИТАНА». – № 2013117700/05 от 17.04.2013 ; опубл. 27.05.2014, Бюл. № 15.

Статьи в других научных изданиях

5. Сытник, Д. А. Бактериальная обсемененность воздуха в животноводческих помещениях в условиях молочного комплекса / Д. А. Сытник // Эффективное животноводство. – 2014. – № 1. – С. 70–71.
6. Сытник, Д. А. Санитарно-гигиеническое состояние животноводческого помещения и его влияние на резистентность телят / Д. А. Сытник // Эффективное животноводство. – 2014. – № 3. – С. 24–25.
7. Сытник, Д. А. Клинический статус новорожденных телят и динамика изменения показателей естественной резистентности в условиях современного животноводческого комплекса / Д. А. Сытник, А. Ф. Дмитриев, Б. В. Пьянов // Эффективное животноводство. – 2014. – № 10. – С. 48–49.

Подписано в печать 30.08.2016. Формат 60x84 ¹/₁₆.

Гарнитура «Таймс». Бумага офсетная. Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,0.

Тираж 100. Заказ №

Отпечатано в типографии издательско-полиграфического комплекса СтГАУ «АГРУС», г. Ставрополь, ул. Пушкина, 15.