ISSN 2311-9322 (Print), ISSN 2311-9330 (Online)

Biology in Agriculture

Биология в сельском хозяйстве

№4, 2019

Научно-практический и теоретический журнал



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Орловский государственный аграрный университет имени Н. В. Парахина»

Фундаментальные и прикладные исследования по селекции, генетике, биотехнологии, физиологии, этологии, микробиологии и многим другим отраслям современной науки

scientia, virtus, libertas

≡ Russian Federation ≡

Учредитель и издатель: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Орловский государственный аграрный университет имени Н. В. Парахина»

Главный редактор:
А.И. Шендаков,
доктор сельскохозяйственных наук, профессор,
член Союза писателей России

Редакционная коллегия:
С.А. Родимцев (председатель), д. т.н., профессор (г. Орёл)
В.С. Буяров, д. с.-х. н., профессор (г. Орёл)
И.А. Егоров, д. б.н., проф., академик РАН (г. Москва)
А.С. Делян, д. с.-х. н., профессор (г. Москва)
Л.В. Калашникова, д. филолог. наук, профессор (г. Орёл)
С.И. Кононенко, д. с.-х. н., профессор (г. Краснодар)
А.А. Коровушкин, д. биол. н., профессор (г. Рязань)
С.Д. Князев, д. с.-х. н., профессор (г. Орёл)
В.И. Крюков, д. биол. н., профессор (г. Орёл)
Р.Н. Ляшук, д. с.-х. н., профессор (г. Орёл)
В.В. Обливанцов, д. с.-х. н., профессор (г. Севастополь)
С.Н. Харитонов, д. с.-х. н., профессор (г. Москва)
M.A. Shariati, Islamic Azad University (г. Тегеран)

Содержание

стр.

Актуальные вопросы частной зоотехнии, разведения, селекции и генетики сельскохозяйственных животных

Шендаков А.И. Особенности экстерьера лошадей русской рысистой породы (***Shendakov A.I.*** *Exterior features of Russian trotter horses)*…… 2

Харитонова А.С. Наследуемость селекционных признаков в линиях голштинского скота (***Kharitonova A.S.*** *Heritability of breeding traits in Holstein cattle lines*)…… 7

Мурленков Н.В. Проблемы и факторы развития антибиотикорезистентности в сельском хозяйстве (***Murlenkov N.V.*** *Problems and factors of development of antibiotic resistance in agriculture*)…… 11

Глазкова Н.Ю., Шендаков А.И. Аллели групп крови с высокой и низкой концентрацией у коров чёрно-пёстрой голштинской породы в Орловской области (***Glazkova N.YU.***, ***Shendakov A.I.*** *Alleles of blood groups with high and low concentration by the cows of Black-and-White Holstein breed in the Orel region*)…….. 15

Современные вопросы микробиологии и биобезопасности окружающей среды

Haffaressas Y., Hamoudi S., Mouffok F. Microbiological analysis of waters (***Хаффарессас Яс., Хамоуди С., Моуффок Ф.*** *Микробиологический анализ воды*)……... 19

Адрес издателя и редакции: 302019, Россия, г. Орёл, ул. Генерала Родина, д. 69
Свидетельство о регистрации СМИ выдано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор), ПИ №ФС 77-70557 от 03.08.2017 г. (предыдущее свидетельство ПИ №ФС 77-54372 от 29.05.2013 г.)

Отпечатано в издательстве ФГБОУ ВО Орловский ГАУ. **Адрес издательства** (типографии): 302028, г. Орёл, бульвар Победы, 19, лицензия ЛР№021325 от 23.02.1999 г.
Язык: русский, английский
Телефон: гл. редактор – 8-953-816-78-84, **факс:** +7 (4862) 76-41-01
E-mail: bio413@ya.ru (для материалов), aish78@yandex.ru (для переписки)
Сдано в набор: 03.12.2019 г. **Подписано в печать:** 17.09.2019 г.
Дата выхода: 24.12.2019 г.
Периодичность выхода, объём: 4 раза в год, до 100 страниц, А4.
Тираж: 300 экземпляров. Цена свободная.
Формат: 60x84/8. Бумага офсетная. Гарнитура Таймс.
Фото на обложке: левады ООО «Злынский Конезавод» (фото предприятия)
Мнение редакции может не совпадать с мнением авторов.
Перепечатка материалов с письменного разрешения главного редактора.

© ФГБОУ ВО Орловский ГАУ, 2019

УДК 636.1

А. И. Шендаков, доктор сельскохозяйственных наук, профессор
ФГБОУ ВО «Орловский государственный аграрный университет
имени Н.В. Парахина», Россия, Орел
A. I. Shendakov, Doctor of Agricultural Sciences, Professor
Orel State Agrarian University, Orel City, Russia, e-mail: bio413@ya.ru

ОСОБЕННОСТИ ЭКСТЕРЬЕРА ЛОШАДЕЙ РУССКОЙ РЫСИСТОЙ ПОРОДЫ

(Exterior features of Russian trotter horses)

Русская рысистая порода лошадей имеет большую племенную ценность. В России одной из ведущих племенных организаций, разводящих русских рысаков, является ООО «Злынский Конезавод» Болховского района Орловской области. В научной работе приведены результаты оценки и изменения промеров молодняка, кобыл и жеребцов с 2006 по 2018 год, приведена доля жеребцов разной масти в исследуемом поголовье, корреляции промеров у молодняка и жеребцов. Так, количество жеребцов с гнедой мастью составило 61%, тёмно-гнедой – 26, вороной и рыжей – по 5, караковой – 3%. За 12 лет племенной работы увеличилась высота в холке у молодняка – на 2 см, косая длина туловища – на 4 см. У жеребцов наблюдалась наибольшая взаимосвязь между высотой в холке и косой длиной туловища (r=+0,588). Слабее всего коррелировали высота в холке и обхват груди, косая длина туловища и обхват груди (на уровне r=+0,252-0,257). В целом, результаты племенной работы позволяют отметить высокие результаты, подтверждающиеся призами на отечественных и европейских соревнованиях.

Ключевые слова: лошади, русская рысистая порода, селекционные признаки, промеры, индексы телосложения, корреляции.

The Russian trotter horse breed has great breeding value. One of the leading Russian breading organizations involved in breading Russian trotters is Zlynsky Konezavod located in the Bolkhov District of the Orel Region. The paper contains the results of the evaluation and changes in measurements of young animals, mares and stallions that were carried out during the period from 2006 to 2018, the percentage of stallions of different colors in the studied population, and the correlations between measurements of young horses and stallions. So, it was found that the number of bay color stallions was 61%, the number of dark-bay color ones was 26, the number of black and red color ones was 5% each, and the number of Seal brown ones was 3%. Over the 12 years of breeding activities, the height at the withers of young animals increased by 2 cm, and the oblique body length increased by 4 cm. Stallions showed the greatest correlation between height at the withers and oblique body length (r=+0.588). The lowest correlation was found between height of the withers and chest circumference, between oblique body length and chest circumference (at the level of r=+0.252-0.257). In general, based on the results of the breeding activities, the researchers may note the good performance confirmed by prizes won at domestic and European competitions.

Key words: horses, Russian trotter breed, breeding traits, measurements, body indices, correlations.

Примечание: * (Seal brown) – тёмно-коричневый, в англ. буквально «коричневый тюлень» - масть лошадей, которая детерминируется геном ***Agouti*** ("A"), действующим на генетически черный базовый слой и подавляющим окраску черного цвета, что позволяет появиться основному красноватому или коричневатому цвету [13].

Разведение лошадей в России имеет давнюю историю, однако в последние десятилетия их численность существенно уменьшилась, а многие ценные массивы перестали существовать. В этой ситуации особое значение приобретает селекция отечественных пород лошадей по экстерьерно-конституциональным особенностям, среди которых важная роль принадлежит промерам и индексам телосложения [2, 6-8, 12].

Обобщая опыт оценки животных по экстерьеру, ***Винничук Д.Т., Гончаренко И.В. (2007)*** отмечают, что учение о внешних формах животного и отдельных частей тела было разработано ещё в XVIII веке К. Буржелем в 1768 г. При этом экстерьер лошади был изучен и описан особенно детально. В учебниках и книгах того времени экстерьер лошади оценивали на основе закономерности взаимосвязи формы и функции организма. Это оказалось весьма перспективным направлением в зоотехнии, когда начали включать экстерьер в оценку типов телосложения и конституции животных во взаимосвязи с продуктивностью, продолжительностью хозяйственного использования и племенной ценностью. Было установлено, что экстерьер лошади существенно влияет на скорость её движения. В последние годы для повышения точности отбора лошадей на быстроаллюрность и разработки компьютерных программ прогнозирования работоспособности лошади в раннем возрасте, по мнению авторов, целесообразно апробировать предложенные проф. В.О. Виттом индексы экстерьера лошадей разных пород с учётом возраста и соотношения отдельных статей [3].

Как отмечают в журнале «Коневодство и конный спорт» ***Алексеева Е.И. и Котельникова М.Ю. (2017)***, учение об экстерьере (о наружных формах) имеет бо-

гатую историю в большинстве стран мира. По мнению ученых, изучающих экстерьер, до середины XVIII в. ветеринарно-зоотехнические представления о лошади, переходившие из книги в книгу, часто были основаны в значительной части на предрассудках и суевериях. Наблюдения, полученные из опыта того времени, часто терялись среди вопросов выездки лошади, коннозаводства, ковки, ветеринарии. Только развитие самостоятельных анатомо-физиологических исследований строения и функции тела лошади заложило фундамент зоотехническому учению об экстерьере. В последствии большой вклад в решение вопросов обора и селекции по экстерьерным особенностям внесли труды таких отечественных ученых, как В.К. Хлюдзинского (1885), М.М. Койранского (1888), А.Р. Черепова (1890), М.И. Придорогина (1904), П.Н. Кулешова (1926), А.А. Малигонова (1927), В.О. Витта (1934), Н.А. Юрасова (1936), Н.М. Шпайера (1937), В.Г. Касьяненко (1947), И. И. Лакоза (1952) и др. [1].

В наше время, по данным ***Зиновьевой С.А. с соавт. (2012),*** проведённый анализ особенностей экстерьера лошадей фризской, андалузской и орловской рысистой пород позволил выявить некоторые сходные черты телосложения: укороченность формата, среднее развитие индекса длинноногости и быстроаллюрности, отсутствие перестроенности, что позволяет потенцировать все три породы в едином качестве: «парадной» лошади [5].

Нургалиев Р.Д. и др. (2012) отмечает, что в 2010 г. общая численность племенных лошадей кушумской породы в Астраханской области составила 1637 голов, в т. ч. жеребцы-производители - 84, конематки - 1374, жеребчики - 34, кобылки - 145. Обследованное поголовье отличалось высокой классностью: к классу «элита» были отнесены жеребцы-производители - 100%, конематки - 72,6%, жеребчики - 88,2%, кобылки - 54,5%. Жеребцы-производители имели высоту в холке 157-161 см, длину туловища - 158-164 см, обхват груди - 183-191 см, обхват пясти - 20,0-20,5 см, живую массу - 500-545 кг. Конематки имели высоту в холке 151-156 см, длину туловища - 155-158 см, обхват груди - 179-185 см, обхват пясти - 18,5-19,5 см, живую массу - 460-495 кг. Были установлены оптимальные параметры промеров и живой массы жеребчиков и кобылок для селекции лошадей кушумской породы при табунном содержании [9].

Знание правильных, эффективных экстерьерных особенностей пород (***Радзевич А.Н., Иванова И.П., 2018***) поможет выбрать наиболее подходящую для конкретного вида спорта лошадь, в последующем при правильном содержании, кормлении, уходе и тренинге можно будет получить чемпиона породы или рекордиста. Сравнительные исследования разных пород, проведённые авторами, подтверждают, что ганноверская порода по высоте в холке выше на 14,3 см, соответственно при толчке во время преодоления препятствия она затрачивает меньше силы, чем другие, по длине туловища на 31,3 см больше, чем остальные, что увеличивает длину ее шага, демонстрирует более высокую скорость преодоления маршрутов, по обхвату груди на 20,1 см больше. Это свидетельствует о большем объёме легких. По обхвату пясти - на 2,1 см больше, чем остальные. Выявлено, что порода существенно влияет на резвость: средняя резвость лошадей русской рысистой породы достоверно выше резвости лошадей орловской породы в двухлетнем возрасте на 15,8 с, или на 9,5%, в трехлетнем - на 10,2 с, или на 7%, в четырехлетнем - на 6,9 с, или на 5%. Таким образом, в результате исследований авторами статьи установлены отрицательные взаимосвязи между промерами и резвостью, объясняется это тем, что в возрасте 2-3 лет крупные жеребята выступают хуже, так как ещё не сформировались. При этом молодые лошади получают большие нагрузки, зачастую это ведет к травмам, не давая в старшем возрасте полностью раскрыть потенциал. Ганноверская порода подходит для достижения более высоких результатов в конкуре, нежели другие оцененные породы [10].

Тарчоковым Т.Т. с соавт. (2018) установлено, что лошади чистокровной верховой породы достоверно превосходили лошадей англо-кабардинской породной группы по всем промерам тела. Указанное превосходство составило по высоте в холке 4,7 %, высоте в крестце 4,6%, обхвату груди и пясти – 4,4 и 3,9%, косой длине туловища – 6,9% и длине конечности – 3,6%. Изучение индексов телосложения показало, что лошади чистокровной верховой породы отличались большей растянутостью тела, меньшей костистостью и сбитостью корпуса в сравнении с англо-кабардинскими помесями [11].

Как отмечают специалисты в области спортивного коневодства, в начале 60-х годов советские мастера-наездники стали выступать на международных рысистых соревнованиях. Русские рысаки имели при этом некоторый успех на ипподромах Европы, но соперничать с лучшими американскими и французскими рысаками им было сложно. Решено было вновь провести "*улучшение*" породы, вторично приливая кровь американских рысистых лошадей. Были приобретены американские стандартбредные рысаки Билл Ганновер и Лоу Ганновер. Далее в погоне за резвостью, стали приобретать стихийно все больше и больше "американцев". В 1990-х годах это скрещивание приняло массовый характер и превратилось в поглотительное, которое привело по существу, к вытеснению из породы крови русского рысака [14].

Таким образом, в настоящее время анализ экстерьерно-конституциональных особенностей лошадей не утратил своей практической и научной значимости. Необходимо это ещё и для того, чтобы объективно оценивать генетический прогресс по признакам отбора в породах. В связи с этим нами была поставлена ***цель:*** изучить экстерьерно-конституциональных особенностей лошадей русской рысистой породы, разводимой в ООО «Злынский Конезавод» Болховского района Орловской области.

В соответствии с целью были обозначены следующие задачи: изучить динамику промеров и индексов телосложения молодняка в период с 2006 по 2018 год.; изучить динамику промеров и индексов телосложения жеребцов и кобыл в период с 2006 по 2018 год.; определить долю жеребцов с разной мастью в

исследуемом поголовье; проанализировать корреляции между промерами у молодняка и жеребцов; сделать выводы и предложения племенным организациям по разведению русской рысистой породы.

Материалы и методы исследований

Исследования были проведены в ООО «Злынский Конезавод» Болховского района Орловской области в 2019 году. Совместно со специалистами предприятия для поголовья лошадей нами был разработан перспективный план племенной работы сроком с 2019 до 2023 годы. В работе были проведены разносторонние исследования процесса разведения, в исследованиях применялись общепринятые зоотехнические методы. На протяжении длительного времени в разводимом поголовье использовались американские стандартбредные рысаки. Племенные жеребцы, используемые на предприятии, представлены на рис. 1.

Вычисление средних показателей промеров и индексов, генетико-статистический (в частности, корреляционный анализ) был проведён в компьютерной программе «Microsoft Excel».

А) жеребец ***Zoogin,***1990 г.р. в Швеции, линия Воломайта	Б) жеребец ***Nautical Notion,*** 2005 г.р. в США, линия Скотленда
	
В) жеребец ***Adams Hall*,** 2001 г.р. в США, линия Воломайта	Г) жеребец ***Chip's Friend,*** 2008 г.р. в Финляндии, линия Воломайта
	

Рис. 1 (А-Г) – Жеребцы, используемые в племенной организации (*фото предприятия*)

Результаты исследований и их обсуждение

Исследования показали, что с 2006 по 2018 год в племенной организации увеличилась высота в холке у молодняка – на 2 см, косая длина туловища – на 4 см, однако при этом уменьшился обхват груди – на 8 см, обхват пясти – на 0,5 см, также уменьшились индексы формата, массивности и костистости – на 0,4, 1,2 и 0,23 соответственно (табл. 1).

При этом по высоте в холке, косой длине туловища, обхвату груди и обхвату пясти достоверных различий между кобылами и жеребцами в 2006-2009 году получено не было. У кобыл был немного ниже индекс костистости – 12,29 против 12,48.

В 2015-2018 году жеребцы отличались от кобыл на 1 см по высоте в холке и косой длине туловища, на 0,5 см – по обхвату пясти, однако кобылы были больше на 9 см по обхвату груди (табл. 2).

С 2016 по 2018 год высота в холке у жеребцов возросла на 4 см, косая длина туловища – на 7 см, об-

хват пясти – на 0,5 см. Индекс формата при этом уменьшился с 100,3 до 99,9, индекс массивности – с 113,3 до 110,0, костистости – с 12, 48 до 12,29.

С 2016 по 2018 год высота в холке у кобыл возросла на 3 см, косая длина туловища – на 5 см, обхват груди – на 2 см. Обхват пясти остался на прежнем уровне. Индекс формата при этом уменьшился с 100,0 до 99,9, индекс массивности – с 114,3 до 111,3, костистости – с 12,29 до 12,05.

Таблица 1. – Промеры и индексы телосложения молодняка русской рысистой породы в период с 2006 по 2018 год

Периоды	Промеры, см				Индексы телосложения		
	ВХ	КД	ОГ	ОП	формат	массивность	костистость
2006-2009	138,0	132,0	156,0	18,0	101,0	114,5	12,71
2015-2018	139,0	136,0	148,0	17,5	100,6	113,3	12,48

Таблицы 2. - Изменение промеров и индексов телосложения жеребцов и кобыл в период с 2006 по 2018 год

Группы животных	Промеры, см				Индексы телосложения		
	ВХ	КД	ОГ	ОП	формат	массивность	костистость
2006-2009							
жеребцы	158,0	159,0	180,0	20,0	100,3	113,3	12,48
кобылы	158,0	160,0	178,0	20,0	100,0	114,3	12,29
2015-2018							
жеребцы	162,0	166,0	171,0	21,5	99,9	110,0	12,29
кобылы	161,0	165,0	180,0	20,0	99,9	111,3	12,05

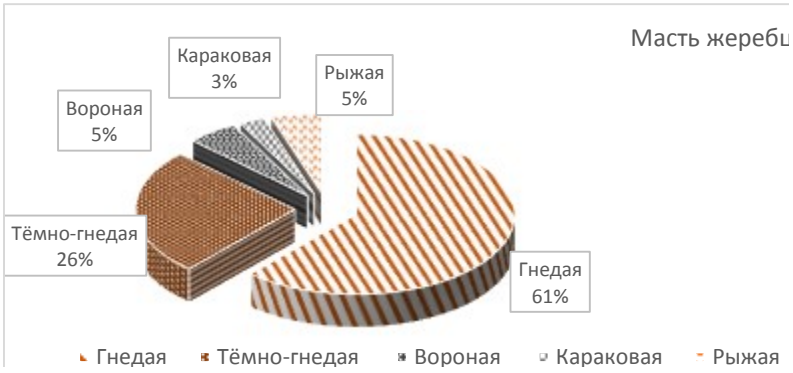


Рис. 2 - Доля жеребцов-производителей с разной мастью

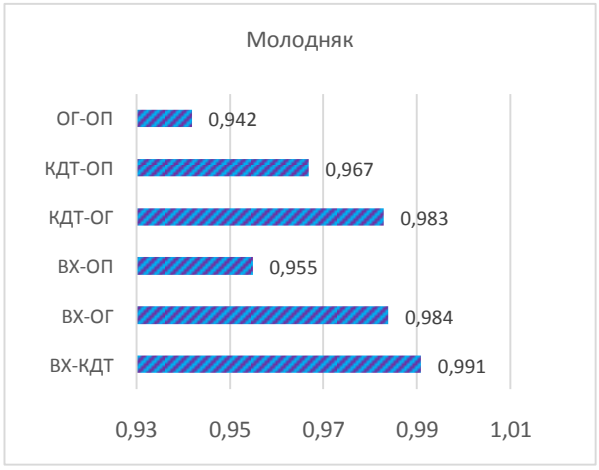


Рис. 3 – Корреляции между промерами молодняка 2018 года рождения (n=20)

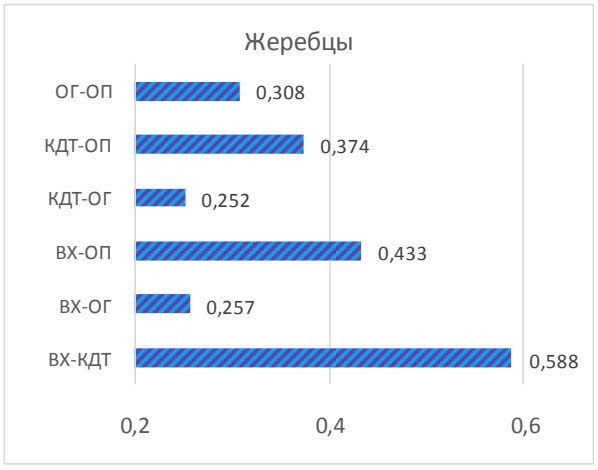


Рис. 4 – Корреляции между промерами жеребцов-производителей (n=39)

Основная доля жеребцов-производителей в предприятии имеет в настоящее время гнедую масть (24 головы), тёмно-гнедой мастью отличаются 10 жеребцов (см. рис. 2), по 2 головы – с вороной и рыжей мастью, 1 – с караковой.

Анализ показал (рис. 3), что все промеры у молодняка коррелировали на уровне, близком к 1 (r=+0,942-+0,991). Это говорит о гармоничном росте и развитии животных. При этом у жеребцов (рис. 4) наблюдалась наибольшая взаимосвязь между высотой в холке и косой длиной туловища (r=+0,588). Слабее всего коррелировали высота в холке и обхват груди, косая длина туловища и обхват груди (на уровне 0,252-0,257). Обхват пясти был положительно связан со всеми изученными промерами. Судя по году рождения и его взаимосвязи с промерами, следует отметить, что общую тенденцию к уменьшению обхвата груди у жеребцов-производителей. Это закономерно в связи с селекцией на резвость рысаков этой породы.

Таким образом, за исследуемый период в поголовье русской рысистой породы ООО «Злынский Конезавод» наметилась тенденция к увеличению высоты в холке и длины туловища при уменьшении обхвата груди. Вполне очевидно, что данные изменения связаны с использованием высокоценных жеребцов американского и европейского происхождения.

Благодарность. Автор выражает благодарность руководству и специалистам ООО «Злынский Конезавод» за предоставленные материалы.

Литература

1. ***Алексеева Е.И., Котельникова М.Ю.*** Исторические аспекты изучения экстерьера лошади // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. - 2017. - № 2 (47). - С. 111-115.
2. ***Бачурина Е.М., Полковникова В.И.*** Фенотипические особенности, оценка двигательных качеств и работоспособности лошадей спортивного направления // Коневодство и конный спорт. - 2017. - № 5. - С. 33-35.
3. **В*инничук Д.Т., Гончаренко И.В.*** Экстерьер лошади: математика и практика // Коневодство и конный спорт. - 2007. - № 6. - С. 14-15.
4. ***Горбуков М.А., Борисовец М.К., Байгина Э.А.*** **Р**езультаты разведения и пути дальнейшего совершенствования русской тяжеловозной породы лошадей в Беларуси // Зоотехническая наука Беларуси. - 2003. -Т. 38. - С. 32-41.
5. ***Зиновьева С.А., Козлов С.А., Маркин С.С., Чаадаева М.А.*** Особенности экстерьера лошадей типа "барокко" // Коневодство и конный спорт. - 2012. - № 6. - С. 9-11.
6. ***Кравец М.С.*** Взаимосвязь экстерьера и прыжковых качеств лошадей спортивных пород // Эпоха науки. - 2016. - № 8. - С. 250-256.
7. ***Кравец М.С.*** Экстерьер и спортивные качества лошадей // Молодой ученый. - 2016. - № 6-5 (110). - С. 82-84.
8. ***Мысина В.А., Козлов С.А., Мысин М.А.*** Орловский рысак и его современный тип и экстерьер // Аграрная Россия. - 2010. - № 3. - С. 50-52.
9. ***Нургалиев Р.Д., Лазько М.В., Лозовский А.Р., Сарсенгалиев К.Д.*** Особенности экстерьера лошадей кушумской породы в Астраханской области // Естественные науки. - 2012. - № 3 (40).- С. 194-199.
10. ***Радзевич А.Н., Иванова И.П.*** Экстерьер и спортивные качества лошадей // Вестник Омского государственного аграрного университета. - 2018.- № 1 (29). - С. 51-56.
11. ***Тарчоков Т.Т., Шахмурзов М.М., Пежева М.Х., Авалишвили Е.Т.*** Экстерьерные особенности лошадей разного генотипа // Вестник Курганской ГСХА. - 2018. - № 4 (28). - С. 57-59.
12. ***Цыганок И.Б.*** Типы телосложения лошадей разного хозяйственного назначения // Иппология и ветеринария. - 2016. - № 2 (20). - С. 36-40.
13. https://en.wikipedia.org/wiki/Seal_brown_(horse) Seal brown (horse). Дата обращения 02.09.2019 г.
14. http://petshoptop.ru/ru/info/horses/breeds/russkaya-rysistaya-poroda-213 Русская рысистая порода. Дата обращения 02.09.2019 г.

Поступила в редакцию: 02.09.2019 г.

Шендаков Андрей Игоревич, доктор сельскохозяйственных наук, профессор
ФГБОУ ВО «Орловский государственный аграрный университет имени Н. В. Парахина»,
aish78@yandex.ru, тел. 8-953-816-78-84

УДК 636.06

А.С. Харитонова, аспирант
ФГБОУ ВО «Орловский государственный аграрный университет имени Н.В. Парахина»,
Орел, Россия, anastasija.zherebtzova@yandex.ru
A.S. Kharitonova, Post-graduate student
Federal State Budgetary Educational Establishment of Higher Education
"Orel State Agrarian University named after N.V. Parakhin", Orel, Russia, anastasija.zherebtzova@yandex.ru

НАСЛЕДУЕМОСТЬ СЕЛЕКЦИОННЫХ ПРИЗНАКОВ В ЛИНИЯХ ГОЛШТИНСКОГО СКОТА

(Heritability of breeding traits in Holstein cattle lines)

В молочном скотоводстве применяют метод разведения по линиям с целью улучшения продуктивности коров. Данный метод позволяет установить наиболее желательный генотип. Необходимо отметить, что не всегда при проведении селекционно-племенной работы со стадом учитывают наследственные качества, которые во многом отражают уровень продуктивности в популяции животных и передачи их следующему поколению. Таким образом, учитывая селекционно-генетические параметры, такие, как корреляция и наследуемость, можно выявить наиболее лучшие сочетания в линиях, тем самым повысить количественные и качественные показатели молочной продуктивности. Исследования были проведены на животных ООО «Юпитер» Орловской области. Изучены показатели корреляции, наследуемости молочной продуктивности коров голштинской породы. Коровы различных линий по-разному наследуют величину удоя и содержание жира и белка в молоке. В результате данного исследования можно сделать следующий вывод, что наибольшая корреляция между удоем за 305 дней, содержание белка в молоке между матерями и дочерями в линиях голштинских быков наблюдается в линии Рефлекшн Соверинг 198998, а по содержанию жира – в линии Монтвик Чифтейн 95679. Наиболее точную оценку быков-производителей голштинской породы по всем показателям молочной продуктивности имеют быки линии Вис Бэк Айдиал 1013415. Наилучшую наследуемость по всем признакам молочной продуктивности имеет линия Рефлекшн Соверинг 198998.

Ключевые слова: молочное скотоводство, линия, голштинская порода, продуктивность, наследуемость, точность оценки быков-производителей, корреляция.

In dairy cattle breeding, the method of line breeding is used to improve the productivity of cows. This method allows to establish the most desirable genotype. It should be noted that not always when carrying out breeding work with the herd take into account hereditary qualities, which largely reflect the level of productivity in the population of animals and their transmission to the next generation. Thus, taking into account the selection and genetic parameters, such as correlation and heritability, it is possible to identify the best combinations in the lines, thereby increasing the quantitative and qualitative indicators of milk productivity. Studies have been conducted on animals, OOO "Jupiter" in Orel region. Indicators of correlation, heritability of milk productivity of Holstein cows were studied. Cows of different lines differently inherit the value of milk yield and the content of fat and protein in milk. As a result of this study, it can be concluded that the greatest correlation between milk yield for 305 days, the protein content in milk between mothers and daughters in the lines of Holstein bulls is observed in the line Reflection Sovereign 198998, and the fat content-in the line Montvik Chieftain 95679. The most accurate assessment of bulls-producers of Holstein breed on all indicators of milk productivity have bulls line Wise Back Ideal 1013415. The best heritability on all signs of milk productivity has a line Reflection Sovereign 198998.

Keywords: dairy cattle breeding, line, Holstein breed, productivity, heritability, accuracy of evaluation of bulls-producers, correlation

Введение. Важнейшей задачей аграрного сектора является достижение устойчивого роста сельскохозяйственного производства и надежное обеспечение населения продуктами питания. Россия продолжает оставаться импортером животноводческой продукции и племенных ресурсов. Для успешного решения этой важнейшей проблемы предусматривается обеспечить рост поголовья скота и повышение его продуктивности [4, стр. 159].

Отрасль молочного скотоводства является одной из составляющих продовольственной безопасности страны и должна быть конкурентна как на внешнем, так и на внутреннем рынке.

Достижение этой цели возможно за счет расширения объемов производства, увеличения ассортимента выпускаемой продукции, применения инноваций и современного оборудования в технологическом процессе, широкого использования отечественных и зарубежных генетических ресурсов [7, стр.100].

Основной проблемой молочного скотоводства остается повышение продуктивности животных путем разведения наиболее высокоценных в племенном отношении пород, генотипов и линии крупного рогатого скота [3, стр. 41].

Ведущую роль в увеличении продуктивности, совершенствовании пород животных играет селекционно-племенная работа. Поэтому необходимо глубокое теоретическое изучение всех сторон селекционного процесса. В последние годы эти вопросы все большее внимание привлекают как практиков-селекционеров, так и ученых-генетиков. Выявление положительной связи между отдельными секционируемыми признаками животных позволяет эффективно вести селекцию по совершенствованию их племенных и продуктивных качеств. В совершенствовании пород крупного рогатого скота большое практи-

ческое значение имеет выделение внутрипородных типов, отбор и разведение желательного типа с высокой продуктивностью и приспособленностью к промышленной технологии [5 стр. 78, 8 стр. 28].

В целях совершенствования продуктивных качеств коров широко используется метод разведения по линиям. Он дает возможность установить наиболее желательный генотип, который обеспечит высокий уровень молочной продуктивности и других хозяйственно-полезных качеств животного [1, стр. 42].

Целью разведения по линиям является, прежде всего, превращение достоинств лучших животных в групповые признаки. Сконцентрировать в отдельных особях все ценное, что есть в породе, невозможно. Накопление у животных одних линий преимущественно одних достоинств, в других линиях – иных, позволяет обеспечить в каждой линии лучшее развитие и более устойчивое наследование необходимых качеств [2, стр. 12].

В условиях современной селекции быки-производители являются одним из важнейших факторов генетического совершенствования молочного скота, что обусловлено возможностью получения от производителей значительного количества потомков. Целенаправленный отбор и оценка быков-производителей по качеству потомства обеспечивает генетический прогресс в молочном скотоводстве.

Для совершенствования продуктивности молочного скота, большое практическое значение имеет оценка быков-производителей, оказывающих наибольший улучшающий эффект на продуктивные качества их дочерей [6, стр. 143; 9, стр. 15, 10, стр. 58; 11, стр. 98].

В связи с вышесказанным является актуальной проблема влияния разведения по линиям на продуктивность коров и оценка быков-производителей голштинской породы. ***Целью исследований*** являлось изучение наследуемости селекционных признаков в линиях голштинского скота. Исходя из цели исследований, были сформулированы следующие задачи: 1) выявить взаимосвязь между признаками продуктивности матерей и дочерей в линиях голштинских быков; 2) определить точность оценки быков производителей голштинской породы; 3) проанализировать наследуемость по линиям.

Материалы и методы исследований

Исследования выполнялись на основе базы данных ООО «Юпитер» Болховского района Орловской области. Объектом исследований служил голштинский скот различной линейной принадлежности. Условия содержания, уровень кормления скота соответствовали зоотехническим нормам.

Селекционно-генетические группы были сформированы методом пар–аналогов: по возрасту (дата рождения с 2012 по 2015 год), происхождению, живой массе, которые были распределены в группы по линейной принадлежности (А.И. Овсянников, 1976). В первую группу включили коров линии Вис Бэк Айдиал 1013415 (n=93), во вторую – линии Рефлекшн Соверинг 198998 (n=66), в третью – линии Монтвик Чифтейн 95679 (n=48). Принадлежность к линии определили из данных племенных карточек по каждой корове. Дочерей быков-производителей оценивали по следующим показателям молочной продуктивности: удой за 305 дней лактации, содержанию жира и белка в молоке (%). Результаты исследований обрабатывались с помощью ПК, с использованием программ MS Excel.

Результаты исследований и их обсуждение

Исследования показали (табл. 1), что у коров голштинской породы на предприятии ООО «Юпитер» наблюдалась как положительная, так и отрицательная связь, степень связи в большинстве случаев – слабая. Наибольшая взаимосвязь установлена у дочерей быка Дуная 62 линии Монтвик Чифтейн 95679 по содержанию жира в молоке – 0,66, наименьшая корреляция – у дочерей быка Дуная 62 линии Монтвик Чифтейн 95679 по удою за 305 дней лактации, которая составила -0,36.

Таблица 1 – Корреляция между признаками матерей и дочерей в линиях голштинских быков-производителей

Кличка быка-производителя, №	n	удой за 305 дней лактации, кг.	жир, %	белок, %
Вис Бэк Айдиал 1013415				
Регел Бэчелор 61690982 (контроль)	37	0,08	0,13	0,12
С. Валлей 134203264	15	0,01	-0,27	-0,03
Санте 139453690	41	0,20	-0,01	0,01
По линии в целом	93	0,10	0,06	-0,02
Рефлекшн Соверинг 198998				
Альта Мадисон 3004886505	20	-0,03	-0,17	-0,08
Комстар Лекзакт 102482659	19	-0,03	-0,08	0,09
Фокал 64700398	27	0,28	-0,15	0,25
По линии в целом	66	0,14	0,10	0,13
Монтвик Чифтейн 95679				
Дунай 62	4	-0,36	0,66	0,17
Л.Т. Би Файнли 61741713	32	-0,19	0,08	0,07
Министер 133588633	12	-0,18	0,50	0,15
По линии в целом	48	-0,03	0,20	0,06
По всему стаду	207	0,09	0,11	0,002

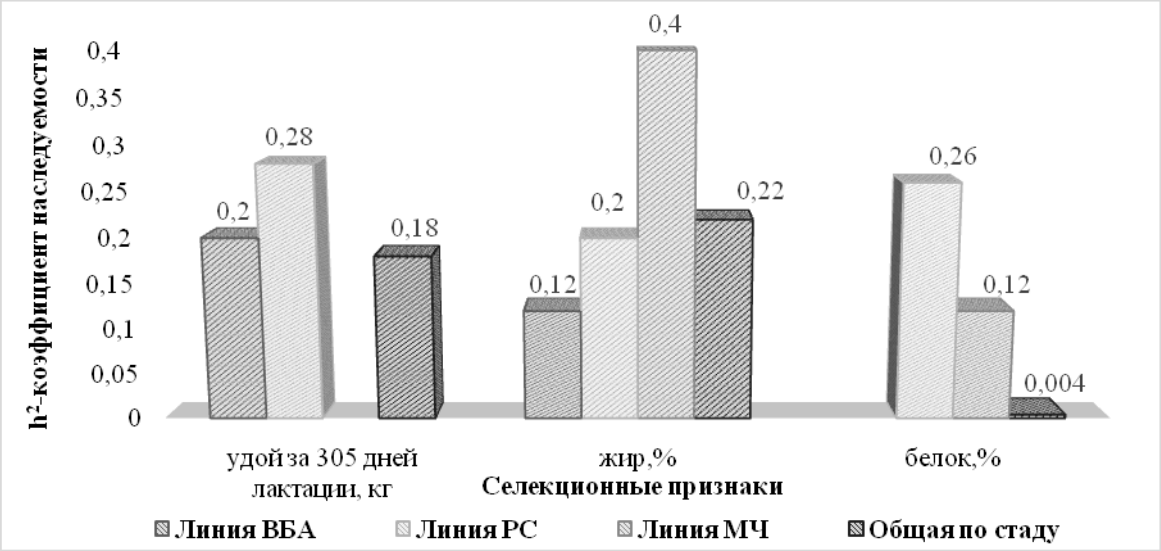


Рис.1 – Наследуемость селекционных признаков скота в линиях, h^2

Установлено (рис. 1), что показатели по удою за 305 дней лактации в линии Монтвик Чифтейн 95679 и содержанию белка в молоке в линии Вис Бэк Айдиал 1013415 не наследуются. Наибольший коэффициент наследуемости по стаду наблюдается по содержанию жира – 0,22, наименьший по содержанию белка – 0,004. Наибольший коэффициент наследуемости по содержанию жира имела линия Монтвик Чифтейн 95679, который был равен 0,4.

Таблица 2 – Точность оценки быков-производителей голштинской породы, %

Кличка быка-производителя, №	n	удой за 305 дней лактации, кг.	жир, %	белок, %
Вис Бэк Айдиал 1013415				
Регел Бэчелор 61690982 (контроль)	37	64	68	3,5
С. Валлей 134203264	15	40	47	1,4
Санте 139453690	41	66	70	3,9
Рефлекшн Соверинг 198998				
Альта Мадисон 3004886505	20	49	54	1,9
Комстар Лекзакт 102482659	19	53	53	1,8
Фокал 64700398	27	56	61	2,6
Монтвик Чифтейн 95679				
Дунай 62	4	16	18,8	0,4
Л.Т. Би Файнли 61741713	32	60	65	3,1
Министер 133588633	12	36	41	1,18

Из полученных данных таблицы 2 следует, что наибольшую точность оценки имел бык Регел Бэчелор 61690982 линии Вис Бэк Айдиал 1013415, по содержанию жира равную 68%, наименьшую точность оценки имел бык Дунай 62 линии Монтвик Чифтейн 95679 по содержанию белка – 0,4%.

Вывод. В результате полученных данных можно сделать следующий вывод, что наибольшая корреляция между удоем за 305 дней, содержанием белка в молоке между матерями и дочерями в линиях голштинских быков наблюдалась в линии Рефлекшн Соверинг 198998, а по содержанию жира – в линии Монтвик Чифтейн 95679. Наиболее точную оценку быков-производителей голштинской породы по всем показателям молочной продуктивности имели быки-производители линии Вис Бэк Айдиал 1013415. Наилучшую наследуемость по всем признакам молочной продуктивности имела линия Рефлекшн Соверинг 198998. Полученные данные подтверждают, что разведение по линиям не потеряла актуальности.

Литература

1. ***Бакай, А.В. Лепёхина Т.В.*** Изменчивость и наследуемость показателей молочной продуктивности у коров черно-пестрой породы в ПЗ «Повадино» [Текст] /А.В. Бакай, Т.В. Лепёхина// Вестник Брятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова. – 2016. – №3(44). – с. 42-45.
2. ***Бекиш, Р.В.*** Влияние линейной принадлежности

на молочную продуктивность коров белорусской черно-пестрой породы [Текст] /Р.В. Бекиш, И.Э. Милош//Ученые записки учреждения образования "Витебская ордена "Знак почета" государственная академия ветеринарной медицины". – 2015. – №1-2. – с.12-16.

3. ***Вильвер, Д.С.*** Взаимосвязь хозяйственно-полезных признаков коров различных генотипов [Текст] /Д.С. Вильер// Достижения науки и техники АПК. – 2015. – Т29 №4. – С. 41-43.
4. ***Жеребцова, А.С.*** Влияние качественного состава кормов на продуктивность животных [Текст] / А.С. Жеребцова, Н.С. Жеребцова, С.В. Мошкина //Вклад молодых ученых в аграрную науку материалы Международной научно-практической конференции. – 2018. – С.159-161.
5. ***Икоева, Л.П.*** Селекционно-генетические параметры продуктивности коров черно-пестрой породы разного типа телосложения [Текст] // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2016. – № 2. – С.78-83.
6. ***Ляшук, Р.Н*** Продуктивность дочерей быков различных линий голштинской породы в условиях Орловской области [Текст] / Р.Н. Ляшук, О.А. Михайлова // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2018. – №9. – С.142-148.
7. ***Ляшенко, В.В.*** Продуктивность голштинских коров-первотелок разной селекции [Текст] /В.В. Ляшенко, И.В. Сотникова// Нива Поволжья. – 2014. – №3(32). – с. 100-106.
8. ***Харитонова, А.С.*** Анализ продуктивности черно-пестрого скота различных внутрипородных типов [Текст] /А.С. Харитонова, Н.С. Жеребцова // Научный журнал молодых ученых. – 2018. – № 4(13). – С.27-33.
9. ***Шендаков А.И.*** Результаты селекции в племенных стадах черно-пестрого скота орловской области // Молочное и мясное скотоводство. – 2018. – № 1. – С. 12-15.
10. ***Шендаков А.И.*** Генетические факторы увеличения селекционных признаков в племенных стадах чёрно-пёстрого скота орловской области // Вестник аграрной науки. - 2018. - № 1 (70). - С. 52-58.
11. ***Kibkalo L.I, Pigorev I.Ya.2, Bugaev S.P., Maslov A.A.*** Productive indicators of Holstein bulls, belonging to different lines // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. - 2019. - № 6. - С. 93-100.

Поступила в редакцию: 07.11.2019 г.

Харитонова Анастасия Сергеевна*, аспирант кафедры частной зоотехнии и разведения сельскохозяйственных животных, ФГБОУ ВО «Орловский государственный аграрный университет имени Н.В. Парахина», e-mail: anastasija.zherebtzova@yandex.ru

*** - научный руководитель: Шендаков Андрей Игоревич**,
д. с.-х., профессор ФГБОУ ВО Орловский ГАУ
aish78@yandex.ru, тел. 8-953-816-78-84

УДК 636:612.336.3

Н.В. Мурленков, аспирант
N.V. Murlenkov, Post-graduate student
ФГБОУ ВО «Орловский государственный аграрный университет имени Н.В. Парахина»,
Орел, Россия
Federal State Budgetary Educational Establishment of Higher Education
"Orel State Agrarian University named after N.V. Parakhin", Orel, Russia
e-mail: chr98@yandex.ru

ПРОБЛЕМЫ И ФАКТОРЫ РАЗВИТИЯ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

(Problems and factors of development of antibiotic resistance in agriculture)

Применение антибиотиков показало хорошие результаты в медицине, после чего их стали активно использовать в различных сферах сельского хозяйства. Одной из таких сфер стало животноводство, причем использовались антибиотики не только для лечения, но и для профилактики, обработки помещений содержания и более активного набора мышечной массы. Эффективность животноводства возросла, но споры относительно пользы этих препаратов в сельском хозяйстве не утихают уже долгое время. В мировом сообществе преобладает тенденция отказа и снижения проблемы резистентности, меняется структура рынка и разрабатываются новые решения на замену. На российском рынке антибиотики занимают довольно прочную позицию. В статье изложен материал о последствиях бесконтрольного применения антибиотиков в ветеринарной практике и животноводстве, формировании антибиотикорезистентности бактерий и последствиях для организма человека.

Ключевые слова: антибиотикорезистентность, антибиотики, животноводство, сельское хозяйство.

The use of antibiotics showed good results in medicine, after which they began to be actively used in various fields of agriculture. Animal husbandry has become one of these areas, and antibiotics have been used not only for treatment, but also for prevention, treatment of facilities and a more active set of muscle mass. The efficiency of animal husbandry has increased, but the debate about the benefits of these drugs in agriculture has not subsided for a long time. The world community is dominated by the trend of failure and reducing the problem of resistance, the market structure is changing and new replacement solutions are being developed. On the Russian market, antibiotics occupy a fairly strong position. The article describes the consequences of the uncontrolled use of antibiotics in veterinary practice and animal husbandry, the formation of antibiotic resistance of bacteria and the consequences for the human.

Keywords: antibiotic resistance, antibiotics, animal husbandry, agriculture.

Отрасль животноводства является одним из крупнейших потребителей антимикробных препаратов, большую долю из которых составляют антибиотики. Большинство мутантных штаммов и антибиотикорезистентности микроорганизмов происходят из животноводческих комплексов [6]. Поэтому жесткий контроль и использования современных антибиотических препаратов крайне необходимы. Это способствует уменьшению развития антибиотикорезистентности микроорганизмов и суперинфекции у людей и животных.

Антибиотикорезистентность – это способность микробов противостоять действию антимикробных средств, в том числе антибиотиков. С 2000-х годов Всемирная организация здравоохранения называет антибиотикорезистентность одной из самых серьезных угроз для здоровья животных и человека [1].

Современное производство продукции животного происхождения требует сосредоточения значительного количества особей в ограниченном пространстве. Это, в свою очередь, приводит к быстрому распространению и развитию инфекционных процессов, бактериальной и вирусной этиологии. Животноводческие предприятия в большинстве случаев с лечебной и профилактической целью применяют значительные количества антибиотических препаратов микробного происхождения [2]. Также их используют в гуманной медицине для лечения бактериальных заболеваний.

Первые препараты против болезнетворных бактерий – сульфаниламиды, пенициллин и др. – начали успешно применять в клинической практике в 30–40-е годы XX века, и уже тогда устойчивость к ним представляла собой проблему. Дело в том, что явление антибиотикорезистентности возникло задолго до открытия человечеством антибиотиков. Миллиарды лет бактерии и грибы вырабатывали антибиотики – вещества для борьбы с другими бактериями и грибами. Те, в свою очередь, приобретали механизмы защиты от этих соединений [9].

Молекулярных механизмов защиты микроорганизмов от антибиотиков не так много. Они всегда связаны с изменениями в генах, и устойчивость к антибиотикам наследуется, переходя из поколения в поколение. Клетка микроорганизма может приобрести устойчивость к антибиотику двумя способами. Первый – случайное изменение генов, то есть мутация. Антибиотик часто действует на микроорганизм, связываясь с мишенью – молекулой белка внутри клетки – и не давая ей выполнять свои функции. Такой мишенью может быть, например, фермент, при помощи которого протекают какие-то жизненно важные для клетки биохимические реакции. Мутация, произошедшая в гене-мишени, может так её менять, что антибиотик потеряет или ухудшит способность связы-

ваться с ней и утратит свою силу. Второй путь приобретения устойчивости для бактериальной клетки – получить гены устойчивости от другой клетки. Например, клетка может приобрести гены ферментов, разрушающих молекулы антибиотика, или гены специальных белков-насосов, которые выкачивают антибиотик из клетки наружу, предотвращая его губительное действие. Однако для закрепления и сохранения антибиотикорезистентности на уровне популяции микробов необходимо воздействие на популяцию самого антибиотика, создающего селективное (то есть осуществляющее отбор) давление, в результате которого выживают лишь клетки, обладающие устойчивостью. Выиграв конкурентную борьбу, они размножаются, распространяются и передают свои гены дальше [7, 9]. Чтобы устойчивые клетки получили преимущество, количество антибиотика должно быть в определённом диапазоне [2], ведь, если доза слишком мала, антибиотик не будет подавлять ни устойчивые, ни чувствительные бактериальные клетки, и никакая селекция не произойдёт, а слишком большая доза, наоборот, начнёт подавлять даже устойчивые клетки, и они вновь не получат никакого преимущества.

В природе гены устойчивости к антибиотикам часто выполняют и другие, никак не связанные с антибиотиками функции. Например [9], белки-насосы, выводящие антибиотики из клетки, могут быть нужны для избавления её и от других токсичных соединений. В таком случае их гены распространяются и в отсутствии воздействия антибиотиков. Разнообразие генов устойчивости к антибиотикам в природе чрезвычайно велико. С начала применения различных классов антимикробных средств в медицине и ветеринарии селективное давление на микроорганизмы, вызывающие заболевания человека и животных, чрезвычайно возросло – в первую очередь это относится к больничным микробам. В условиях всё увеличивающихся масштабов применения антимикробных средств распространение антибиотикорезистентности было всего лишь вопросом времени [10].

Если до начала использования антибиотиков гены антибиотикорезистентности у бактерий находились преимущественно на хромосоме, то теперь чаще располагаются на плазмидах – маленьких кольцевых молекулах ДНК, которые могут легко передаваться от одной бактерии к другой. Посредством плазмид гены устойчивости передаются от микроба к микробу не только одного вида, но и других. В частности, болезнетворные бактерии могут получить такие гены от микрофлоры кишечника животных и даже от свободноживущих бактерий окружающей среды [7]. При этом плазмиды могут нести гены устойчивости сразу к нескольким различным классам антимикробных средств [9]. Свойство множественной устойчивости делает болезнетворные бактерии особенно опасными. К сожалению, встречаются даже так называемые панрезистентные бактерии, то есть устойчивые сразу ко всем видам эффективных против них препаратов [12]. Определяемое плазмидами свойство устойчивости обратимо: в отсутствие селективного давления клетка может плазмиду потерять, чтобы не тратить ресурсы на поддержание ненужного генетического материала. Помимо плазмид существуют и другие формы и механизмы передачи генов устойчивости, например через поражающие бактерии вирусы – бактериофаги.

Есть предположение, что сельскохозяйственные фермы наряду с различными медицинскими учреждениями служат основными источниками полирезистентных видов болезнетворных бактерий (микроорганизмы, устойчивые ко всем классам антибиотиков). Механизм этого явления может быть следующим. На фермах патогенные для человека бактерии встречаются с почвенными бактериями. Устойчивость у патогенов в таких условиях возникает гораздо быстрее, так как путём горизонтального переноса генов (обмен генетической информацией между бактериями разного вида), она приобретается именно от почвенных бактерий [8, 15]. В почве проживает очень большое разнообразие видов микроорганизмов, и они постоянно конкурируют друг с другом за ресурсы, вырабатывая антибиотики. Собственно, путём культивирования в основном именно почвенных бактерий и разработали следующие за пенициллином классы антибиотиков. Соответственно среди них постоянно циркулируют и гены устойчивости к антибиотикам.

Также вследствие избыточного использования антибиотиков, устойчивость к ним появилась не только у болезнетворных бактерий, но и у так называемых условно патогенных микроорганизмов, которых гораздо больше, и в норме они не опасны для человека, но при ослаблении иммунитета способны вызывать болезнь. В ряде стран принимаются законы, призванные обеспечить рациональное применение противомикробных препаратов в различных сферах народного хозяйства. К примеру [2], с 2006 года в Евросоюзе на законодательном уровне запрещено использование антибиотиков в профилактических целях в животноводстве. В США такой закон вышел совсем недавно. Так в США 80% от всего количества выпускаемых антибиотиков шло на нужды животноводства, причём около 60% из них – это те же соединения, что применяются и в медицине. Их применение запрещено с 01.01.2017. В сфере животноводства ограничивают использование в первую очередь критически важных для медицины антибиотиков, резистентность к которым фатальна (табл. 1) [5].

Лидеры по уменьшению применения антибиотиков в животноводстве – страны Северной и Западной Европы: Нидерланды, Дания, Норвегия, Франция, Бельгия, Германия и др. Например, в Нидерландах общий объём применяемых в животноводстве антибактериальных средств с 2007 года удалось снизить на 70%. В Дании (и не только) для животных практически не применяют критически важные для медицины антибиотики. В Норвегии использование антибактериальных средств при выращивании рыбы уменьшили на 99% по сравнению с пиковыми значениями 1987 года. При этом избежать убытков фермерам в этих странах позволяет ужесточение санитарных мер [4, 9].

Таблица 1 – Максимально допустимые уровни содержания остатков антибиотиков (мг/кг)

	мясо	жир	печень	почки	молоко	яйца
Амоксицилин	0,5				0,04	–
Ампицилин	0,05				0,004	–
Бацитрацин	0,15 – для КРС и кроликов, не допускается (<0,2) – для остальных				0,1	–
Галофугион	0,01	0,025	0,03		0,001	0,006
Левомицетин	не допускается (<0,0003)					
Неомицин	0,5			5	1,5	0,5
Оксациллин	0,3				0,03	–
Оксолиновая кислота	0,1	0,05	0,15		–	–
Стрептомицин	0,5			1	не допускается (<0,2)	0,5
Пенициллин V	0,25 – для свиней, 0,025 – для птицы				–	–
Эритромицин	0,2				0,04	0,15

ВОЗ (Всемирная организация здравоохранения) тоже непрерывно трудится над предотвращением распространения устойчивости к антибиотикам. В мае 2015 года она одобрила глобальный план действий по решению проблемы резистентности, предусматривающий конкретные шаги по его реализации в национальных программах стран. По этим вопросам ВОЗ активно работает с такими союзами, как Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций и Всемирная организация здоровья животных.

Согласно публикации итальянских исследователей в журнале «Ланцет», вышедшей в 2019 году, урон жизни и здоровью населения одной только Европы за 2007-2015 годы удвоился [14]. Кроме того, согласно прогнозам британского экономиста Джима О'Нила, если к 2050 году ситуация не изменится, ежегодно из-за антибиотикорезистентности будут умирать более 10 млн. человек.

По результатам систематического обзора, опубликованным сегодня в журнале «The Lancet Planetary Health», мероприятия по ограничению применения антибиотиков в продовольственном животноводстве привели к уменьшению количества устойчивых к антибиотикам бактерий у этих животных на целых 39%. Результаты этого исследования были непосредственно использованы при разработке новых руководящих принципов ВОЗ [13].

В научной сфере отношение к инициативе отказа от антибиотиков – положительное. Слабые стороны заключаются в неспособности противостоять остро возникающим инфекционным заболеваниям. А также наличие у поголовья животных скрытых инфекций. В остальных случаях можно использовать препараты на основе растительного сырья, которые имеют антибактериальный эффект. На сегодняшний день рынок насыщен препаратами, которыми возможно заменить часть антибиотиков, но не в полном объеме. Исключить содержание антибиотиков в готовой продукции возможно, исключить их применение – нет. Антибиотики сегодня занимают порядка 80% всех применяемых в животноводстве лекарственных средств [3]. Таким образом, абсолютно доверять добровольной сертификации нельзя, ведь отсутствие антибиотиков в конечной продукции не означает, что их не применяли в процессе выращивания животных.

Частичный отказ от антибиотиков уменьшит себестоимость производимой продукции [6], но только если будут созданы идеальные условия по содержанию и кормлению поголовья. Государственный контроль за содержанием антибиотиков недостаточен, так как нет методик определения всех применяемых в животноводстве антибиотиков и их подгрупп. Чувствительность существующих методов очень низкая. Исследования дорогостоящие. Проверить можно не на все группы антибиотиков, не говоря о подгруппах.

Кроме того, надо сказать, что на промышленных животноводческих предприятиях, чтобы поддерживать и развивать производственные показатели, невозможно обойтись без лекарственных средств.

Во-первых, используемые высокопродуктивные кроссы птицы и породы свиней генетически уязвимее и требуют поддержки в плане профилактики инфекционных заболеваний. Во-вторых, большой масштаб производства заставляет принимать превентивные меры, ведь если в стадо попадает одно заболевшее животное, теоретически под угрозу может попасть все поголовье, а это уже риски для бизнеса. Сейчас, когда в разных регионах страны фиксируются вспышки птичьего гриппа [12], как никогда актуальным становится вопрос о тщательном контроле биобезопасности, создании оптимальных условий для кормления и содержания животных, автоматизации процессов. Пробиотики и фитобиотики – альтернативные варианты, однако они увеличивают затраты и себестоимость продукта [1, 11]. Ответственные производители используют минимально возможное количество антибиотиков на начальном этапе выращивания животных, не допуская наличия остатков препаратов перед убоем. Как правило, период между прекращением использования антибиотиков и непосредственным убоем для птицы составляет две недели, для свиней – два месяца. Перед убоем в организме животных не должно оставаться следов каких-либо антибактериальных препаратов, мясо на 100% должно быть безопасным [10]. Контроль наличия остатков ветпрепаратов в конечном продукте системно осуществляет аккредитованная Россельхознадзором государственная лаборатория. Сегодня около 90% промышленных производителей мяса используют в производстве лекарственные пре-

параты. Остальная часть пользуется пробиотиками и фитобиотиками – альтернативными инструментами обеспечения здоровья животных. Однако при использовании альтернатив необходимо учитывать, что это увеличивает затраты и себестоимость продукта. При применении фитобиотиков необходимо снизить плотность посадки животных – это уменьшает выход мяса с одного кв. м. То есть исключение антибиотиков возможно, однако это приведет к удорожанию продукции.

Литература

1. **Антибиотикорезистентность** и пробиотикотерапия **В.А.Несчисляев** [и др.] // Гастроэнтерология. 2017. № 1. С. 94-94с.
2. **Антибиотикорезистентность** как глобальная проблема общества XXI века / **К.В.Зеленая** [и др.] Научно-методический электронный журнал «Концепт». 2017. № Т42. С. 38-41.
3. **Антибиотикорезистентность**: эволюционные предпосылки, механизмы, последствия / **О.И. Захарова** [и др.] // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2018. № 3 (64). С. 13-21.
4. **Антибиотикочувствительность** и антибиотикорезистентность патогенных и условно-патогенных энтеробактерий, выделенных из кишечника новорожденных теля / **Д.А. Желябовская** [и др.] // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. 2017. № 11 (134). С. 27-33.
5. **Евразийская экономическая комиссия** // URL: http://www.eurasiancommission.org Дата обращения 10.08.2019
6. **Животноводство** стремится сократить использование антибиотиков / **М. Сазонов** [и др.] // Комбикорма. 2018. № 6. С. 77-79.
7. **Зимина Н.Г., Поджидаева С.В.** Антибиотикорезистентность микроорганизмов и молекулярно-генетический методов // Современные аспекты здравоохранения: достижения и перспективы: материалы 52-й межрегиональной научно-практической медицинской конференции. Ульяновск, 2017. С. 140-142.
8. **Лумбунов С.Г., Ешижамсоева С.Б., Уханаева А.Л.** Экологическая безопасность кормов и продукции животноводства // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова. 2018. № 3 (52). С. 156-160.
9. **Макаров Д.** Назад в доантибиотиковую эру? // Наука и жизнь. №5 С. 75-80
10. **Неклюдов Н.А., Чепелова Н.К.** Антибиотикорезистентность у бактерий: поиск инновационных путей преодоления // World science: problems and innovations: сборник статей XIX международной научно-практической конференции. Пенза, 2018. С. 287-289.
11. **Панасенко Н.А.** Состояние рынка фитобиотиков в России // Актуальные научно-технические средства и сельскохозяйственные проблемы: материалы II национальной научно-практической конференции. Кемерово, 2019. С. 152-157.
12. **Проблема резистентности** к антибиотикам возбудителей болезней, общих для человека и животных / **А.Н. Панин** [и др.] // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2017. № 5. С. 18-24.
13. **Тумгоева Р.А.** Антибиотикорезистентность - угроза национальной безопасности // Аллея науки. 2017. Т. 3. № 13. С. 25-29.
14. **Устойчивость микробов к антибиотикам** – глобальная проблема человечества // URL: http://www.vgnki.ru/ustojchivost-mikrobov-k-antibiotikam-globalnaya-problema-chelovechestva2.html Дата обращения 10.08.2019
15. **Шульга Н.Н., Шульга И.С., Плавшак Л.П.** Антибиотики в животноводстве - пути решения проблемы // Тенденции развития науки и образования. 2018. № 35-4. С. 52-55.

Поступила в редакцию: 20.08.2019 г.

Мурленков Никита Вячеславович*, аспирант кафедры частной зоотехнии и разведения сельскохозяйственных животных, ФГБОУ ВО «Орловский государственный аграрный университет имени Н. В. Парахина», e-mail: chr98@yandex.ru

Murlenkov Nikita Vyacheslavovich, post-graduate student of the Department of zooingering and animals breeding , Federal State Budgetary Educational Establishment of Higher Education "Orel State Agrarian University named after N.V. Parakhin". e-mail: chr98@yandex.ru

*** - научный руководитель: Шендаков Андрей Игоревич**,
д. с.-х., профессор ФГБОУ ВО Орловский ГАУ
aish78@yandex.ru, тел. 8-953-816-78-84

УДК 636.082

Н.Ю. Глазкова, аспирант
А.И. Шендаков, д. с.-х. н., профессор
N.YU. Glazkova, Post-graduate student
A.I. Shendakov, Doctor of Agricultural Sciences, Professor
ФГБОУ ВО «Орловский государственный аграрный университет имени Н.В. Парахина»,
Орел, Россия
Federal State Budgetary Educational Establishment of Higher Education
"Orel State Agrarian University named after N.V. Parakhin", Orel, Russia
e-mail: glazkova_nataliya@bk.ru

АЛЛЕЛИ ГРУПП КРОВИ С ВЫСОКОЙ И НИЗКОЙ КОНЦЕНТРАЦИЕЙ У КОРОВ ЧЁРНО-ПЁСТРОЙ ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ В ОРЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ

(Alleles of blood groups with high and low concentration by the cows of Black-and-White Holstein breed in the Orel region)

Селекция основных видов сельскохозяйственных животных обычно ведётся по количественным признакам, наследование которых чрезвычайно сложно, а развитие их обусловлено многими генами и зависит как от факторов внешней среды, так и от взаимодействия генотипов. Группам крови крупного рогатого скота, разводимых в разных экологических зонах, свойственна определённая частота аллелей и их частота встречаемости в генотипах (динамика). В связи с этим в работе изучены аллели групп крови с высокой и редкой концентрацией в популяции черно-пестрого голштинского скота Орловской области. Было исследовано поголовье коров в 3 стадах: (СПК имени Мичурина – 15 голов; ЗАО «Славянское» Верховского района – 9 голов; ООО «Юпитер» Болховского района – 80 голов; n = 104). В результате анализа полученных данных на основе хозяйств Орловской области, установлено, что от 26,67% до 100 % животных являлись носителями антигенов A1, G2, Y2, W, C1, H', FF. Их концентрация составила от 26,67% до 44,44%, от 47,5% до 66,67%, от 41,25% до 46,67%, от 46,25% до 66,67%, от 40% до 44,44%, от 33,33% до 86,25%, от 82,5% до 86,67%. В изученных стадах прослеживались аллели, которые могут быть генетическими маркерами повышения молочной продуктивности. Наличие этих аллелей в орловской популяции молочного скота является результатом длительного селекционного процесса.

Ключевые слова: черно-пестрая голштинская порода, аллелофонд, генофонд, антигены, аллели, группы кров.

Selection of the main species of farm animals is usually carried out on quantitative grounds, the inheritance of which is extremely difficult, and their development is due to many genes and depends on both environmental factors and the interaction of genotypes. Blood groups of cattle bred in different ecological zones are characterized by a certain frequency of alleles and their frequency of occurrence in genotypes (dynamics). In this regard, we studied alleles of blood groups with high and rare concentrations in the population of black-and-white Holstein cattle of the Orel region. The number of cows in 3 herds was studied: (Michurin - 15 goals, CC «Slavyanskoe» Verhovsk district – 9 goals, LLC «Yupiter» Bolkhov district – 80 goals, n = 104). As a result of the analysis of the received data on the basis of farms of the Orel region, it was established that from 26,67% of all the animals are carriers of the A1, G2, Y2, W, C1, H', FF antigens. Their concentration ranged from 26,67% to 44,44%, from 47,5% to 66,67, from 41,25% to 46,67%, from 46,25% to 66,67%,from 40% to 44,44%, from 33,33% to 86,25% and from 82,5% to 86,67%. In the studied herds, certain alleles are revealed, which can be genetic markers of the milk productivity of cows. The presence of these alleles in the Orel population of dairy cattle is the result of a long selection process.

Keywords: Black-and-White Holstean breed, allele pool, gene pool, antigens, alleles, blood groups.

Введение. Термин «генофонд» в литературу был введён А.С. Серебровским в 1926-1928 гг. Генофондом предложено называть совокупность аллелей какой-либо группы организмов. Популяции, породы, стада, как отмечал А.С. Серебровский, а затем Тимофеев-Ресовский и др., отличаются не набором генов, а наличием разных систем аллелей при одном и том же числе генов. Поэтому более точно богатство внутривидовой изменчивости следует обозначать не термином «Генофонд», а термином «аллелофонд» [3].

Аллели – варианты одного и того же гена, расположенные на гомологичных хромосомах; определяют полиморфизм особей вида по тому или иному признаку [1].

Исследования по аллелофонду систем групп крови являются предпосылкой к формированию генетической структуры пород и отдельных популяций, которая позволяет сохранять существующую генетическую изменчивость и разводить скот без нарастания инбредной депрессии.

Рассматривая перспективы применения аллелофонда, подразумевается решение следующих определённых задач:

❖ проводить работы по совершенствованию племенных и товарных стад животных с учётом внутрипородного инбридинга и гетерозиготности генотипов;

❖ генетический анализ состояния стад и пород должен предшествовать составлению планов селекционно-племенной работы, а также принятию решений о закладке линий (их ликвидации), кроссов, межпородных взаимодействий;

❖ ведущая часть маток через заводские семейства определяет генетический потенциал быков, поэтому селекцию с участием аллелей следует рассматривать самостоятельно или как дополняющую систему разведения по линиям;

❖ генетический анализ должен отражать формирование внутрипородных и заводских типов, а также генетическую однородность и устойчивость наследования селекционных признаков, для чего следует определять желательные блоки генов и учитывать их, как гены количественных признаков;

❖ при межпородном взаимодействии и формировании генетических структурных единиц использовать разнообразие аллелофонда родственных пород. Аллелофонд является предпосылкой ведения системы работы с породами одного направления продуктивности [3, 4, 8].

В связи с этим целью исследований являлось изучение иммуногенетического разнообразия коров черно-пестрой голштинской породы в Орловской области. В соответствии с поставленной целью были определены задачи:

1) определение концентрации аллелей групп крови по 11 систем локусов (EAA, EAB, EAC, EAS, EAF-V, EAJ, EAL, EAM, EAZ, EAR-S', EAT'/N'/U);

2) выявление аллелей с более высокой и низкой концентрацией;

3) сравнение аллелей динамики аллелей в стадах черно-пестрого голштинского скота в Орловской области.

Материалы и методы исследования

Изучение аллелофонда антигенов групп крови проводилось у коров черно-пестрой породы в хозяйствах Орловской области (СПК имени Мичурина – 15 голов; ЗАО «Славянское» Верховского района – 9 голов; ООО «Юпитер» Болховского района – 80 голов; итого 104 головы). Определение эритроцитарных антигенов происходило в лаборатории генетики сельскохозяйственных животных Всероссийского института животноводства имени Л.К. Эрнста. Также нами были изучены и проанализированы племенные свидетельства коров изучаемой породы с группами крови по 11 локусам (EAA, EAB, EAC, EAS, EAF-V, EAJ, EAL, EAM, EAZ, EAR-S', EAT'/N'/U), достоверность происхождения племенного скота хозяйств составляла 100%. Основой для генетико-статистического анализа служила компьютерная программа Microsoft Office Excel.

Результаты исследования и их обсуждения

Результаты исследования показали, что у коров черно-пестрой голштинской породы в хозяйстве СПК им. Мичурина наблюдалась высокая концентрация следующих антигенов: EAA: A_1 = 26,67%; EAB: G_2 = 60%; Y_2 = 46,67%, A'_1 = 46,67%; EAC: W = 53,33%; C_1 = 40%; EAS: H' = 66,67%; EAF-V: FF = 86,67%.

При вычислении концентрации антигенов низкая встречалась была обнаружена у антигенов в системе EAB: I_1 = 6,67%, O = 6,67%; EAC: R_1 = 6,67%; EAF-V: V = 13,33% (табл. 1).

Таблица 1 – Антигены групп крови с высокой и низкой концентрацией у коров черно-пестрого голштинского скота в хозяйствах Орловской области

Изучено голов в стадах	Антигены групп крови по 11 системам локусов	
	С высокой концентрацией	С низкой концентрацией
СПК им. Мичурина Верховского района 15 голов	A1, G2, Y2, A'1, W, C1, H', FF	I1, O, R1, V
ЗАО «Славянское» Верховского района 9 голов	A1, G2, Y2, W, C1, H', FF	A2, I1, O, A'1, R1, V
ООО «Юпитер» Болховского района 80 голов	A1, G2, Y2, A'1, W, C1, H', FF	A2, I1, O, R1, V

В хозяйстве ЗАО «Славянское» Верховского района наблюдалась высокая концентрация следующих антигенов: EAA: A_1 = 44,44%; EAB: G_2 = 66,67%; Y_2 = 44,44%; EAC: W = 66,67%; C_1 = 44,44%; EAS: H' = 33,33%; EAF-V: FF = 83,33%.

Низкая концентрация антигенов встречалась у антигенов в системе EAA: A_2 = 11,11%; EAB: I_1 = 11,11%, O = 11,11%, A'_1 = 11,11%; EAC: R_1 = 11,11%; EAF-V: V = 11,11%.

В хозяйстве ООО «Юпитер» Болховского района наблюдалась высокая концентрация следующих антигенов: EAA: A_1 = 31,25%; EAB: G_2 = 47,5%; Y_2 = 41,25%, A'_1 = 32,5%; EAC: W = 46,25%; C_1 = 40%; EAS: H' = 86,25%; EAF-V: FF = 82,5%.

При вычислении редкой концентрации антигенов встречалась у антигенов в системе EAA: A_2 = 1,25%; EAB: I_1 = 15%, O = 1,25%; EAC: R_1 = 8,75%; EAF-V: V = 16,25%.

Расчёты, основанные на данных опубликованных статей [2, 3, 6, 7], подтвердили в определённой мере новые полученные данные.

Сравнительный анализ частоты встречаемости аллелей высокой концентрации у коров черно-пестрой голштинской породы (рис. 1) выявил, что чаще всего у коров встречались следующие общие аллели, такие, как: A_1, G_2, Y_2, W, C_1, H', FF. Концентрация перечисленных антигенов имела положительную корреляцию в селекции с молочной продуктивностью скота.

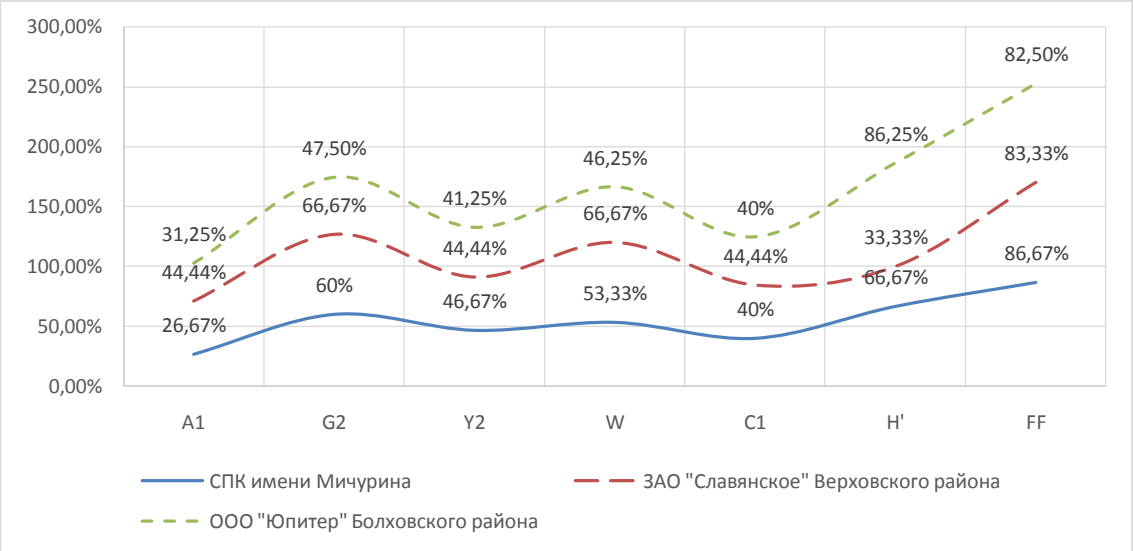


Рис. 1 – Сравнительный анализ встречаемости антигенов с высокой концентрации у коров черно-пестрой голштинской породы

Сравнительный анализ встречаемости аллелей с редкой концентрацией у коров черно-пестрой голштинской породы (рис. 2) выявил, что в трёх хозяйствах есть повторяющиеся антигены, такие, как: I_1, O, R_1, V, что может свидетельствовать о генетическом сходстве разводимого поголовья.



Рис. 2 – Сравнительный анализ встречаемости антигенов с редкой концентрации у коров черно-пестрой голштинской породы

Выводы. В результате анализа полученных данных на основе хозяйств Орловской области установлено, что от 26,67% до 100 % животных являлись носителями антигенов A_1, G_2, Y_2, W, C_1, H', FF. В изученных стадах прослеживались аллели, которые могут быть генетическими маркерами повышения молочной продуктивности. Наличие этих аллелей в орловской популяции молочного скота является результатом длительного селекционного процесса. В связи с этим, по нашему мнению, данные о генофондах по группам

крови, или аллелофондах, имеют не только теоретическое, но и практическое значение при отборе исходного материала для селекции на основе оценки уровней внутри- и межпородной генетической изменчивости. Иммуногенетический анализ позволяет выявить степень генетического влияния отдельных особей на общий генофонд стада, а также формирование аллелофонда у определённых групп животных.

Литература

1. ***Галактионов В.Г.*** Иммунология: Учеб. для студ. вузов [Текст]/ В.Г. Галактионов /. – 3-е изд., испр. и доп. – М.: Издательский центр «Академия», 2004. – 528 с.
2. ***Глазкова Н.Ю.*** Иммуногенетический полиморфизм у голштинских коров ООО «Юпитер» Орловской области/ Н.Ю. Глазкова // Вестник аграрной науки. – 2019. - №2. – С. 135-138.
3. ***Глазкова, Н. Ю.*** Иммуногенетический полиморфизм молочного скота на примере ОАО «Орловское» по племенной работе [Электронный ресурс]: выпускная квалификационная работа / Н. Ю. Глазкова. - Электрон. дан. - Орел: Изд-во Орловского ГАУ, 2018
4. ***Попов Н.А.*** Аллелофонд пород крупного рогатого скота по ЕАВ-локусу / Н.А. Попов, Г.В. Ескин // Справочный каталог. М., 2000. 299 с.
5. ***Попов Н.А.*** Аллелофонд голштинской породы и его использование для совершенствования молочности крупного рогатого скота / Н.А. Попов, Л.К. Марзанова, А.А. Некрасов, Е.Г. Федотова //Молочное и мясное скотоводство. - 2018. -№4. - С.14-20.
6. ***Шендаков А.И.*** Аллели групп крови с высокой и низкой концентрацией у коров чёрно-пёстрой породы в Орловской области/ А.И. Шендаков, Н.Ю. Глазкова // Вестник аграрной науки. – 2019. – №3. – С. 57-62.
7. ***Шендаков А.И.*** Иммуногенетический полиморфизм быков-производителей в орловской популяции молочного скота / А.И. Шендаков, Н.Ю. Глазкова, Т.А. Шендакова // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2018. – № 8. – С. 121-127.
8. ***Шукюрова Е.Б.*** Полиморфизм ЕАВ и ЕАС-локусов групп крови у высокопродуктивных коров черно-пестрой породы сельхозпредприятия «Восточное» Хабаровского края / Е.Б. Шукюрова// APRIORI. Серия: естественные и технические науки. – 2017. - №4. – С. 10.

Поступила в редакцию: 11.11.2019 г.

Глазкова Наталия Юрьевна*, аспирант кафедры частной зоотехнии и разведения сельскохозяйственных животных, ФГБОУ ВО «Орловский государственный аграрный университет имени Н.В. Парахина», e-mail: glazkova_nataliya@bk.ru

*** - научный руководитель: Шендаков Андрей Игоревич**, д. с.-х., профессор ФГБОУ ВО Орловский ГАУ aish78@yandex.ru, тел. 8-953-816-78-84

УДК 579.68

Haffaressas Y., Hamoudi S., Mouffok F.
Laboratory of Food and Water Bacteriology, Environment
Pasteur Institute of Algeria
e-mail: yacinechabani@yandex.ru

Хаффаресс Яс., Хамоуди С., Моуффок Ф.
Лаборатория пищевой и водной бактериологии, окружающей среды
Институт Пастера в Алжире
e-mail: yacinechabani@yandex.ru

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF WATERS

(Микробиологический анализ воды)

Abstract

The objective of the bacteriological analysis of a water is not to make an inventory of all the species present, but to search for those which are likely to be pathogenic or, what is often easier, those which the companions and who are in greater numbers often present in the intestine of mammals and are by their presence indicative of fecal contamination and therefore diseases associated with fecal contamination. In this article, we will see how to perform a bacteriological analysis of water. An analysis that begins with the sampling procedure that must implement methods to ensure the absence of contamination of the sample and bacterial survival (storage conditions). The following are general methods of bacteriological examination of laboratory water; Finally, a selection of applied techniques is presented for the detection of pollution indicator bacteria and treatment efficacy (*Aerobic revivable bacteria,* total Coliforms, thermotolerant Coliforms, Enterococci, Sulphito-reducing Anaerobes), then specific bacteria, strict pathogens or opportunistic pathogens. It can be noted that the absence of faecal contamination does not suggest the absence of any potentially pathogenic species (eg.Salmonella, Staphylococcus, Pseudomonas ...).

Keywords: Bacteriological analysis of water, Indicative of fecal contamination, Pathogenic and Opportunistic Bacteria

Аннотация

Цель бактериологического анализа воды состоит не в том, чтобы провести инвентаризацию всех присутствующих видов, а в том, чтобы найти те, которые могут быть патогенными, или, что зачастую проще, те, которые часто встречаются у спутников и в больших количествах. Присутствуют в кишечнике млекопитающих и своим присутствием указывают на фекальное загрязнение и, следовательно, заболевания, связанные с фекальным загрязнением. В этой статье сказано, как выполнить бактериологический анализ воды. Анализ, который начинается с процедуры отбора проб, которая должна реализовывать методы, обеспечивающие отсутствие загрязнения образца и выживания бактерий (условия хранения). Ниже приведены общие методы бактериологического исследования лабораторной воды. Наконец, представлен комплекс применяемых методов для обнаружения бактерий – индикаторов загрязнения и эффективности лечения (аэробные возрождаемые бактерии, общие колиформы, термоустойчивые колиформы, энтерококки, сульфитредущирующие анаэробы), затем специфические бактерии, строгие патогенны или условно-патогенные патогенны. Можно отметить, что отсутствие каких-либо потенциально патогенных видов (например, Salmonella, Staphylococcus, Pseudomonas…)

Ключевые слова: бактериологический анализ воды, мембранная фильтрация, индикация фекального загрязнения, патогенные и оппортунистические бактерии

I- DISEASES WITH WATER TRANSMISSION OF BACTERIAL ORIGIN

I-1- Typhoid and paratyphoid fever

They are true septicemia due to Salmonella: *Salmonella typhi* and *S. paratyphi* A, B, C. They are characterized by a fever accompanied by an extreme abatement and can have serious complications, sometimes mortal: intestinal hemorrhages. Contamination occurs through the digestive tract from water contaminated with faeces, spoiled food or dirty hands.

I-2- Cholera: causal agent?

Short incubation disease ranging from a few hours to 5 days. It is accompanied by vomiting and epigastric pain with anuria and muscle cramps. Its evolution is fatal in the absence of rehydration and antibiotic therapy. The mechanism of action is due to a 103 amino acid toxin that binds to the duodenum cells responsible for the absorption of water from the intestinal lumen to the inner environment and reverses the mechanism, leading to a loss of water 8 to 10 l / d.

1-3- Acute gastroenteritis

Disease caused by Escherichia coli strains called enterohemorrhagic EHEC. These cause bloody diarrhea and produce a powerful toxin. Although very numerous, these bacteria are hardly pathogenic: 5 to 6% of strains only in children. Only in very rare cases do they enter the blood, causing sepsis or urinary tract infections. Short incubation disease ranging from a few hours to 5 days. It is accompanied by vomiting and epigastric pain with anuria and muscle cramps. Its evolution is fatal in

the absence of rehydration and antibiotic therapy.

II - BACTERIA RESEARCHED IN WATER

II-1-Total Aerobic Mesophilic Flora

Definition

Total aerobic mesophilic flora is a health indicator that can be used to evaluate the number of CFUs (Colony Forming Units) present in a product or on a surface. This count is at 30 ° C which allows to count three major types of flora: Thermophilic flora, optimal growth temperature at 45 ° C; Mesophilic flora, optimal growth temperature between 20 ° C and 40 ° C. The psychrophilic flora, optimum temperature of growth at 20 ° C. As this is an ordinary medium, most microorganisms can grow except those that are demanding and strict anaerobic microorganisms. It is therefore better to talk about Mesophile Aerobic Flora at 30 ° C than "total flora". The unit is the CFU (Colony Forming Unit) because an observable colony on the agar may come from an isolated microorganism, a spore or an association of microorganisms.

II-2 -The Coliforms

II-2 -a- Total coliforms

Definition

Total Coliforms are Gram negative (BGN), aerobic or facultative anaerobic bacilli, non sporulating, oxidase negative, capable of multiplication in the presence of bile salts, and capable of fermenting lactose with the production of acid and gas in 24 to 48 hours at a temperature between 36 /- 2 ° C. These are bacteria used as an indicator of the microbiological quality of water. Either 10 coliforms per mL and more, announces a contamination of drinking water.

II-2-b-Fecal Coliforms

Definition

Fecal coliforms, or thermo-tolerant coliforms, are a subset of total coliforms capable of fermenting lactose at a temperature of 44.5 ° C. The species most frequently associated with this bacterial group is *Escherichia coli* (*E. coli*) and, to a lesser extent, certain species of the genera Citrobacter, Enterobacter and Klebsiella. However, *E. coli* bacteria account for 80 to 90% of the detected thermo-tolerant coliforms. The interest in detecting these coliforms as indicator organisms lies in the fact that their survival in the environment is generally equivalent to that of pathogenic bacteria and that their density is generally proportional to the degree of pollution produced by the bacteria feces. Moreover, since fecal coliforms do not usually proliferate in a distribution network, they are useful for verifying its watertightness, making it possible to detect fecal contamination resulting for example from infiltration of polluted water into the pipes. They are also good indicators of the effectiveness of water treatment, but since they are less numerous than total coliforms, they are preferable for this function.

II- 3- Fecal Streptococci (Intestinal Enterococci)

Definition

It is Gram Positive Cocci (CGP) spherical or ovoid, in chains more or less long, non sporulating, aero-anaerobic facultative, possessing neither catalase nor oxidase. The persistence of Enterococci in various water types may be greater than that of other indicator organisms, in particular because of their known resistance to disinfectants, which makes them preferred indicators for assessing the efficacy of the treatment. water. In addition, their high resistance to drying makes Enterococci indicators for control during repairs to the distribution network requiring drying. Moreover, since there is generally no growth of Enterococci in a distribution network, their detection usually indicates recent faecal pollution. In this context, the role of enterococci as an indicator of faecal contamination in aquifers (groundwater) has recently been recognized, as studies in the United States have demonstrated their usefulness in detecting faecal contamination of groundwater. groundwater. This interest in Enterococci is explained by the fact that, compared with coliforms (including Escherichia coli), they are more resistant to harsh environmental conditions and persist longer in water; such conditions are typical of groundwater where the temperature is generally colder and nutrient poor.

II- 4- Sulphito-reducing Anaerobes

Definition

Spores of anaerobic sulfite-reducing microorganisms (clostridium) are widely distributed in the environment. They are present in human and animal faeces, as well as in wastewater and soil. Unlike *Escherichia coli* and other conforming organisms, spores survive in water for a long time because they are more resistant than vegetative forms to the action of chemical and physical factors. They can thus provide indications on distant or intermittent pollution. They can even be resistant to chlorination in the proportions usually used for water treatment, and are thus useful for the purposes of controls. Their presence in the absence of fecal germs in the water can be interpreted as a lack of protection of the water table against the presence of a foreign bacterial flora. Spores are a good indicator for these microorganisms. In addition, these forms resist chlorination. This explains that for this particular parameter, it is not the bacteria themselves but their spores that are sought.

II- 5- *Vibrio cholera*

Definition

Vibrios are gram negative, curved, aerobic-anaerobic bacilli that can be moved by a single polar eyelash. Vibrio cholerae, responsible for cholera, was discovered in 1854 by PACINI in Florence and cultivated in 1883 by R. KOCH in Cairo. Vibrio cholerae is found in the stools of the sick and some subjects (healthy carriers). It survives in polluted waters as well as on contaminated objects.

II-6-Salmonella

Definition

Salmonellae are enterobacteria whose essential characteristics are not to ferment lactose and not to produce urease. Salmonella belongs to the Enterobacteriaceae family. These are bacilli Gram negative, moving for most (ciliature peritrichous), but some are stationary, optional aero-anaerobic, oxidase -, nitrate reductase + fermentative glucose, lactose - H2S + (or -), urease - , lysine decarboxylase +, using the way of the mixed acid, indole, lacking beta-galactosidase, highly contagious, responsible for gastroenteritis, food poisoning and typhoid and paratyphoid fevers (S. typhi and S. paratyphi).

They cause diseases such as typhoid fever, paratyphoid fever and salmonellosis in humans, one of the main causes of collective food poisoning (TIAC). The main mode of contamination in humans is ingestion in humans. from water (especially S.typhi), food (eg dairy products, eggs, meat) or carrier pets (turtles).

II- 7 - *Pseudomonas aeruginosa*

Definition

Pseudomonas are bacteria GRAM (-), bacilli right and isolated or diplo-bacillus, oxidase (+), Glucose (-), Lactose (-) , no production of H2S (-), Indole (-), strict aerobic, oxidase positive, mobile, naturally resistant to very many antibiotics. Saprophytes, they are found mainly in water. They can contaminate intravenous fluids, antiseptic solutions, liquid drug preparations. The main species, *Pseudomonas aeruginosa*, has the following characteristics:

- Proteolytic,
- *P. aeruginosa* secretes a number of pigments: among others pyocyanin (blue-green), pyoverdine (yellow-green fluorescent).
- Production of a necrotizing exotoxin by some strains.

Pseudomonas aeruginosa expresses its pathogenic potential when introduced into areas with diminished immune defenses. Major opportunist, he is thus responsible:

- "Blue pus" suppurations of wounds and burns,
- Septicemia in the burned,
- Superinfection of the bronchi in cystic fibrosis, thanks to the production of elastase.

II-8- *Staphylococcus aureus*

Definition

The bacteria of the genus Staphylococcus are Gram-positive hulls (Cocci), grouped into clusters in the form of bunches of grapes, immobile, non-sporulating, catalase positive and oxidase negative. Among the 27 species of the genus currently listed, there is the species

S. aureus which is a commensal of the skin and mucous membranes of man and animals (rhino-pharynx, intestine). It is found on the nasal mucosa of about one-third of normal subjects. Eliminated in the external environment, this bacterium can survive for a long time in the environment. Pyogenic germ by excellence, *S. aureus* is the microbe of suppuration. Staphylococci 30/122 Bacteriology - Bacteriology Service 2002 - 2003.

Some strains also act by release of one or more toxins (food poisoning, toxic shock syndrome, impetigo).

III-Sampling equipment

III-1-Choice and sterilization of containers

The container used must once clog, a total protection against any contamination and must not yield toxic substances for bacteria. One can use either 500 and 1000 mL glass vials or single-use plastic vials sterilized by the manufacturer. Before use, the glass vials and stoppers are carefully washed, rinsed, dried and then individually wrapped in a piece of paper and then filter sterilized either by autoclaving (120 °C) for 15 min or at the Pasteur oven (170°C) during 1h. It is desirable to arrange each bottle in a case adapted to its size, to ensure its protection during transport and prevent tearing of the filter paper envelope.In the case of sampling of chlorinated or ozonated water, the disinfectant may, during transport, continue to exert its action on the bacteria present, and it is necessary to destroy it. Add to the sampling bottle before sterilization of sodium thiosulfate at a rate of 17.5mg / l (approximately 8mg per 500mL bottle).

III-2-General methods of sampling

III -2-1 - Sampling at the tap

In this case, the manipulation is carried out under the best conditions of sterilization. Before proceeding with the actual sampling:

- Remove the baffles and rubber hoses adapted to the selected faucet, remove if necessary limestone concretions, which may have been deposited there.
- Wash hands and forearms very thoroughly, rinse with alcohol, allow to dry.
- Flame the faucet for at least 1 min, using, for example, a portable butane gas torch;
- Open the tap and let it run for 3 to 5 minutes before taking the sample. During this wait, and during the sampling, it is useful for an assistant to keep the soldering lamp on, a little above the tap; the operator, in his manipulations, can use it as a Bunsen burner in the laboratory.
- After clearing the sterile packaging, take the flask with your left hand, bring it close to the free fingers of your right hand, remove with them cotton corking the neck;
- Quickly flaring the edge of the neck; fill the bottle almost completely, flaring quickly again the edge of the neck and put the cap on.
- Once the sample has been collected, write on the label the information needed to identify the sample. Replace the bottle in its paper envelope, preferably protecting the cap and the neck. On an attached sheet, write down all the information you need to interpret the analysis. Introduce everything, possibly, into the metal case.

III -2-2-Griffon sampling from sources

It is advisable to isolate first the point of emergence of the water, and to prepare a location of capture, either by pushing in the griffon a pipe which will channel the water and facilitate the sampling is, if the water goes out without gushing out of the ground, by arranging a channel.Anyway, these manipulations should be done immediately before the sampling, but at least 24 hours in advance.

III -2-3- Sampling in a well using a plunger

- Use a sterile plunger wrapped in a protective paper and a rope, the length of which is adapted to the depth of the well, terminated by a carabiner (= metal loop that a spring blade or an articulated lug keeps closed constituting a safety clip).
- Place the plunger on the ground, tear the upper part of the paper so as to release on the one hand the packet of the cap, on the other hand the loop of the cord.
- Engage this loop in the carabiner of the rope, release with the left hand all the upper part of the apparatus and in particular the neck of the bottle.
- During these operations avoid putting the rope in contact with the ground.

- Remove the cotton closing the neck, lift the device, release it completely from the paper and slowly lower it into the well, avoiding touching the walls of it.
- If the sample is made about 50 cm from the surface, which is the most common case, stop shortly before the carabiner, connecting rope and rope, reaches this surface.
- When the bottle is full (no bubbles coming out of the plunger), reassemble the device, disengage the bottle by taking it by the base of the neck (the handle of the plunger being lowered to clear the opening), to empty some of water, possibly flame the edge of the neck, and seal it with the cap clear of its package.

III -2-4 - Sampling of seawater:

The strategy and the sampling plan depend on the objectives and criteria set:

- The first: taking deep water.
- The messenger bottles are available in two positions, horizontal and vertical. The choice of one or the other must be made according to the knowledge of the environment and mainly of the currents; as well as conditions of the surface of the water to the right of the levies.
- The trigger is the messenger, the opening of the cap or the overturning of the bottle must be done when the cable is in the upright position. Obtaining the verticality of the device and therefore the insurance.
- The second corresponds to sampling in the nearshore strip.
- Investigations in this area require a boat but generally small (between 5 and 10 meters). The possibility of reagent storage is generally almost impossible and, depending on the state of the sea, the addition of these reagents is very delicate, even dangerous. In this case, the bottles will be equipped with reagents, and their filling should be done carefully so as not to overflow the sample and thus lose all or part of the reagent.

Bottles

In view of the parameters envisaged for the analyzes, it will be important to use specific

packaging for the bottle. Material characteristics and type of closure can influence and modify the sample.

Contamination

Depending on the type of study you must be aware that all the means used can disturb the environment. Boats, gear and sampling equipment are sources of contamination. The use of disposable gloves is proving to be an essential reflex during the various sampling and sampling operations.

III -3-Transport and conservation in the laboratory

The initial germ content of the water may be modified in the bottle after collection. That's why any analysis should be done as quickly as possible. If the transport time exceeds 1 hour and the outside temperature is above 10 ° C, the samples must be placed in a refrigerated chamber (cooler).The vials should be kept at 4 to 6 ° C in a suitable container. A mobile refrigerator connected to the vehicle battery is preferable to a portable cooler. The ideal is to have an insulated vehicle whose entire box is refrigerated. It is therefore accepted that the maximum delay between the sampling and the start of the analysis must not exceed 24 hours, the sample being kept below + 4 ° C and that it is preferable to shorten this period when the water is presumed to be highly polluted. After taking the test, it is recommended to place the remainder of the unused sample in the refrigerator. It may happen that the first bacteriological readings, 24 or 48 hours after seeding, give unexpected results, prompting to verify the analysis.

IV -Samples, Germs sought and Culture Media used in cultivation of Bacteria

a- Mineral water, Spring and Drilling

Germs sought	Culture Media used in cultivation of Bacteria	Volume of water to analyze
Total Aerobic Mesophilic Flora	TGEA Agar	1mL
Total coliforms and Fecal Coliforms	Tergitol TTC Agar	250mL
Pseudomonas aeruginosa	Cetrimide Agar	250mL
Fecal Streptococci	Slanetz and Bartley Agar, BEA (Bile-Esculin-Azide)	250mL
Sulphito-reducing Anaerobes	*Liver Meat Agar*	50mL
Salmonella	*Rappaport Broth, SFB Medium*	500mL
Staphylococcus aureus	Chapman Agar	250mL

b- Well water

Germs sought	Culture Media used in cultivation of Bacteria	Volume of water to analyze
Total coliforms and Fecal Coliforms	Tergitol TTC Agar	100mL
Fecal Streptococci	Slanetz and Bartley Agar, BEA (Bile-Esculin-Azide)	100mL
Sulphito-reducing Anaerobes	*Liver Meat Agar*	20mL
Salmonella	*Rappaport Broth, SFB Medium*	500mL

c-Swimming pool water

Germs sought	Culture Media used in cultivation of Bacteria	Volume of water to analyze
Total coliforms and Fecal Coliforms	Tergitol TTC Agar	100mL
Pseudomonas aeruginosa	Cetrimide Agar	100mL
Fecal Streptococci	Slanetz and Bartley Agar, BEA (Bile-Esculin-Azide)	100mL
Sulphito-reducing Anaerobes	*Liver Meat Agar*	20mL
Staphylococcus aureus	Chapman Agar	100mL

d- Tap water

Germs sought	Culture Media used in cultivation of Bacteria	Volume of water to analyze
Total coliforms and Fecal Coliforms	Tergitol TTC Agar	100mL
Fecal Streptococci	Slanetz and Bartley Agar, BEA (Bile-Esculin-Azide)	100mL
Sulphito-reducing Anaerobes	*Liver Meat Agar*	20mL

Enumeration of revivable microorganisms at 22°C and 37°C

Incorporation technique

- In the sterile area
- Mix the water bottle to be analyzed and aseptically take 1 ml in duplicate in two empty Petri dishes, numbered and prepared.
- From the water to be analyzed, dilutions 10^{-1} and 10^{-2} are made (Scheme 1).
- Distribute the inoculum into the Petri dishes.
- Then complete with approximately 20 ml of TGEA (TRYPTONE GLUCOSE EXTRACT AGAR).
- Then make "8" shaped movements to allow the inoculum to mix with the agar.
- Let the Petri dishes solidify on the bench.
- Incubate the Petri dishes: The first series will be incubated at 22°C for 72 hours and the second series will be incubated at 37 ° C for 24 hours.

Reading and interpretation

Colonies of microorganisms appear in bulk in lenticular and distinct forms.

Hold the dishes containing less than 300 colonies at two successive dilutions. A box must contain at least 15 colonies. Then calculate the value of the number N, of revivable microorganisms at 22 ° C apart and that of the N number of microorganisms revivable at 37 ° C apart, as a weighted average, using the following equation:

$$N = \frac{\Sigma c}{1{,}1 \times d}$$

Σ c: is the sum of the colonies counted on two boxes of successive dilutions retained.

d: is the dilution ratio corresponding to the first dilution.

Round the calculated results to two significant digits after the decimal point.

The final result of revivable microorganisms counted at 22°C and 37°C per ml of water is denoted by a number between 1.0 and 9.9 multiplied by 10^x where x is the appropriate power of 10.

Example

A count of microorganisms at 37°C gave the following results:

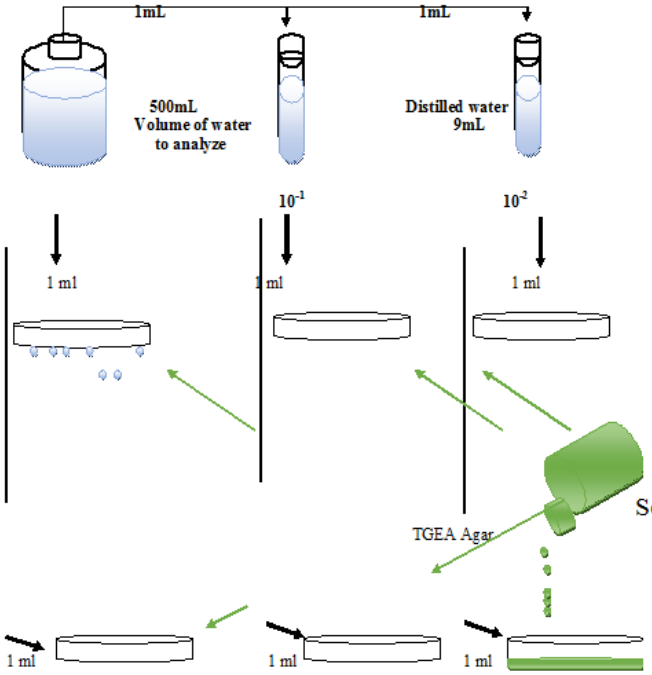
at the first dilution retained 10^{-2}: there are 158 colonies.

at the second dilution retained 10^{-3}: we have 14 colonies.

$$N = \frac{\Sigma c}{1{,}1 \times d} = \frac{148 + 24}{1{,}1 \times 10^2} = \frac{172}{0{,}011} = 1\,5636$$

Round to two significant digits: 16000

1.6×10^4 microorganisms per mL of water at 22°C or 37°C.



Scheme 1: Enumeration of Microorganisms Revivifiable at 22 ° C and 37 ° C.

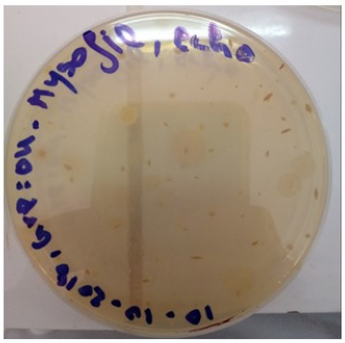
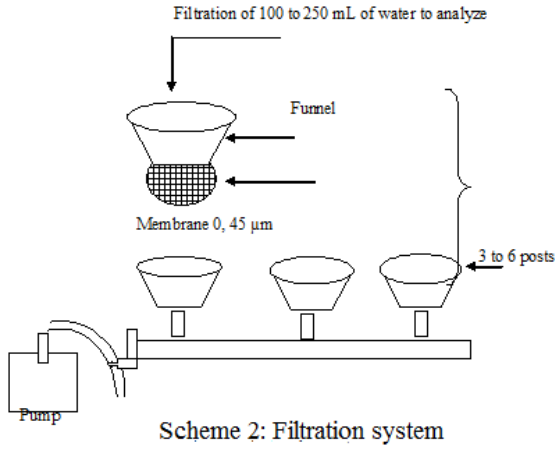


Figure 1. Appearance of total germs on PCA

Enumeration of total and fecal Coliforms
Membrane filtration technique



Scheme 2: Filtration system

The search for coliforms by membrane filtration is done according to the following steps:

- Sterilize the graduated funnel and the porous membrane with a bunsen burner.
- Cool them immediately afterwards with the water to be analyzed if it is available in sufficient quantity or with sterile distilled water.
- Aseptically install a 0.45µm porosity membrane between the porous membrane and the funnel using a sterile forceps.
- Then aseptically deposit 100 to 250 ml of water to be analyzed, depending on the type of water to be analyzed, in front of a bunsen burner.
- Then activate the vacuum pump to absorb water through the membrane.
- Remove the funnel and immediately and aseptically transfer the membrane using a sterile forceps onto the surface of a previously prepared TTC Tergitol agar plate.
- Incubate at 36 ± 2°C for 21 ± 3 hours.

This box will be used to count coliform bacteria, followed by biochemical identification.

Reading and interpretation

Count the colonies after incubation in the form of small pigmented colonies of yellow- orange or yellow (positive lactose). Repeatly transplant 5 colonies on Triple Sugar Iron (TSI) agar for confirmation based on the oxidase test and indole production.

Oxidase test

- Deposit a characteristic colony on an oxidase disk.
- The positive reaction is immediate and translates into a dark purple turn.

Indole test

- Transfer each characteristic colony separately into a tube containing 3 ml of tryptophan broth or indole-free peptone water broth.

- Incubate at 44 ± 0.5 ° C for 21 ± 3 hours (water bath).
- Look for indole production by adding 2 to 3 drops of Kovacs reagent.
- The presence of a red stain on the surface of the broth reflects the production of indole from the tryptophan present in the medium.

In conclusion

Germ	Feature	Oxidase test	Indole test
Coliform	yellow colony	-	(-) 44°C
Escherichia coli	Orange-yellow colony	-	(+) 44°C

- Count the colonies characteristics in each case.
- The results will be expressed in colony-forming unit CFU according to the type of water to be analyzed.

Research and enumeration of intestinal Enterococci

The technique used in this analysis is membrane filtration.

Technique

- Sterilize the graduated stainless steel funnel and the porous membrane with a bunsen burner.
- Cool them immediately afterwards with the water to be analyzed or with sterile distilled water.
- Aseptically install a 0.45 µm nominal porosity membrane between the porous membrane and the funnel using a sterile forceps.
- Then aseptically deposit 100 to 250 ml of water to be analyzed in front of a bunsen burner.
- Then activate the vacuum pump to let the water through the membrane.
- Remove the funnel and immediately and aseptically transfer the membrane using sterile forceps to the surface of previously prepared SLANETZ and BARTLEY agar.
- The latter will be incubated at 36 ± 2 ° C for 44 ± 4 hours.

After incubation, faecal Streptococci colonies appear on the medium giving red or brown color.

Reading and interpretation

After the specified incubation period, intestinal Enterococci or "D" group Streptococci appear as small pigmented colonies in red, brown.

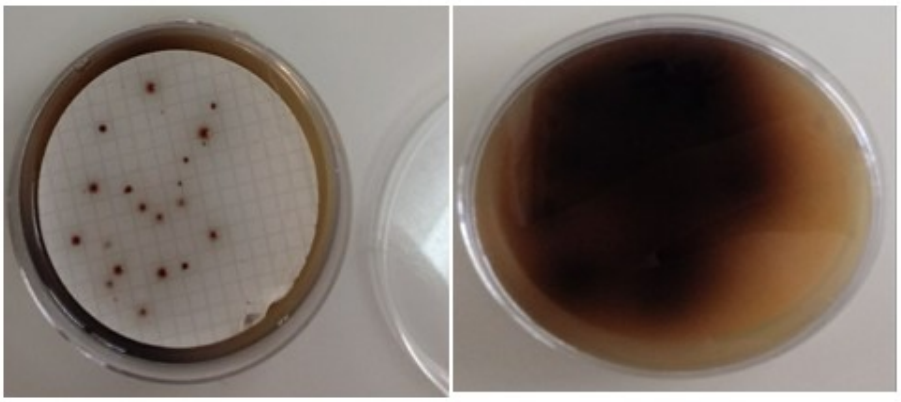


Figure 2. Appearance of intestinal Enterococci on BEA

Confirmation test

Aseptically transfer the membrane from Slanetz and Bartley medium to Bile esculin azide (BEA) agar. The latter will be incubated at 44 ± 0.5 ° C for 2 hours.

The characteristic colonies then take on a black color, thus reflecting the hydrolysis of the esculin present in the medium.

Research and Counting of Spores of Anaerobic Sulfite-Reducing Bacteria

The method used is agar incorporation in deep tubes; it is a method that allows the research and enumeration of spores of sulfite-reducing anaerobic bacteria in water by incorporation into agar deep tubes.

Technique

From the water to analyze:

- Transfer about 20 ml into a sterile tube.
- Heat the tubes in a water bath of about 80 ° C for 10 minutes, in order to destroy all the vegetative forms of the anaerobic sulphite-reducing bacteria possibly present.
- Cool immediately under running water.
- Then divide the contents of this tube into 4 different, sterile tubes at a rate of 5 ml per tube.
- Add about 18 to 20 ml of Liver Meal Agar.
- Mix the medium and the inoculum gently avoiding the introduction of air bubbles and oxygen.
- Allow to solidify on bench for approximately 30 minutes then incubate at 36 ± 2 ° C for 44 ± 4 hours.

Reading and interpretation

- Playback will be at 44 ± 4 hours.
- Count any black colony 0.5 mm in diameter having grown in bulk and report the total number of colonies in the four tubes to 20 ml of water to be analyzed.



Figure 3. Appearance of Spores of Anaerobic Sulfite-Reducing Bacteria on Liver Meal Agar

Research of Salmonella

In this analysis, the filtration method consists of the search and identification of Salmonella present in water intended for human consumption by filtration.

Technique

The search for Salmonella by membrane filtration is carried out according to the following steps:

- Sterilize the graduated stainless steel funnel and the porous membrane with a bunsen burner.
- Cool the graduated funnel immediately afterwards with the water to be analyzed if it is available in sufficient quantity or with sterile distilled water.
- Aseptically place a 0.45 µm membrane between the porous membrane and the funnel using a sterile forceps.
- Then deposit 500 ml or more according to the availability of water to be analyzed in front of a bunsen burner
- Then activate the vacuum pump to absorb water through the membrane.
- Remove the membrane with a sterile forceps and place in a vial containing the SFB double concentration medium and add 20 SFB additive discs.
- Mix the filter well in the medium and incubate it at 37 ° C for 24 to 48 hours. This step is the primary enrichment.
- After incubation, carry out a secondary enrichment by transferring 1 ml of the primary enrichment to the SFB medium in tube (double concentration = D / C).
- Mix the medium well with the inoculum and incubate at 37 ° C for 20 ± 4 hours.
- After incubation, isolate on Hektoen medium and incubate at 36 ± 2 ° C for 20 ± 4 hours.

Reading and interpretation

- Identify characteristic colonies.
- Make a biochemical identification mainly based on ONPG, TSI, Urea-Indole, LDC ...
- If necessary, make an antigenic identification based essentially on agglutination.



Figure 4. Appearance of Salmonella on Hektoen

Research of *Staphylococcus aureus*

In this analysis, the membrane filtration method consists of the research and enumeration of coagulase positive staphylococci.

Technique

The research of coagulase-positive Staphylococci or more particularly *Staphylococcus aureus* by membrane filtration which proceeds according to the following steps:

- First, the graduated stainless steel funnel and the porous membrane should be sterilized with a bunsen burner.
- Cool them immediately afterwards with the water to be analyzed if it is available in sufficient quantity or with sterile distilled water.
- Aseptically install a 0.45 µm porosity membrane between the porous membrane and the funnel using a sterile forceps.
- Fix this device with the corresponding clamp.
- Then aseptically deposit 100 or 250 ml of water to be analyzed, depending on the type of water to be analyzed in front of a bunsen burner.
- Then activate the vacuum pump to absorb water through the membrane.
- Remove the funnel and immediately and aseptically transfer the membrane using a sterile round-nosed forceps to the prepared Chapman mannitol agar surface.
- The latter will be incubated at 36 ± 2 ° C for 44 ± 4 hours.
- Reading and interpretation
- After the incubation period, coagulase-positive Staphylococci, or more particularly Staphylococcus aureus, appear as small colonies pigmented in yellow (fermentation of mannitol).
- Take 3 to 5 colonies, one half colony will be used for the catalase test, the other half will be triturated in a tube containing BHIB broth, incubate at 36 ± 2 ° C for 20 ± 4 hours.

Catalase test

- Separately place two drops of a 20 volume hydrogen peroxide solution on a microscope slide. Take a

half colony with a glass rod (Pasteur pipette) and gently emulsify it in one of the two drops.

- Observe immediately and after 5 minutes whether there is appearance (catalase positive) or absence (catalase negative) of oxygen bubbles.
- The observations can be made macroscopically or using a microscope at low magnification.

Coagulase test

- After incubation of the BHIB broth, add 0.1 ml of this culture sterile to 0.3 ml of rabbit plasma contained in a sterile haemolysis tube, and incubate again at 36 ± 2 ° C for 2-6 hours.
- Examine coagulation of rabbit plasma otherwise re-incubate and examine again at 20 ± 4 hours.
- Consider that the reaction to coagulase is positive when the coagulum occupies more than three quarters of the volume initially occupied by the liquid.



Figure 5. Coagulase-positive (*S. aureus*)



Figure 6. Appearance of *S.aureus* on Chapman

Research of *Pseudomonas aeruginosa*

The method used in this analysis is the membrane filtration method.

Technique

The search for *Pseudomonas aeruginosa* by membrane filtration requires prior preparation which takes place according to the following steps:

- Sterilize the graduated stainless steel funnel and the porous membrane with a bunsen burner.
- Cool them immediately afterwards with the water to be analyzed if it is available in sufficient quantity or with sterile distilled water.
- Aseptically install a 0.45 µm nominal porosity membrane between the porous membrane and the funnel using a sterile forceps.
- Then aseptically deposit 100 or 250 ml of water to be analyzed, depending on the type of water to be analyzed, in front of a bunsen burner.
- Then activate the vacuum pump to absorb water through the membrane.
- Remove the funnel and immediately and aseptically transfer the membrane using a sterile forceps to the surface of a previously prepared cetrimide agar plate.
- The latter will be incubated at 36 ± 2 ° C for 44 ± 4 hours.

Reading and interpretation

After the specified incubation period, Green blue pigmented colonies thus producing pyocyanin are considered colonies of *Pseudomonas aeruginosa.*

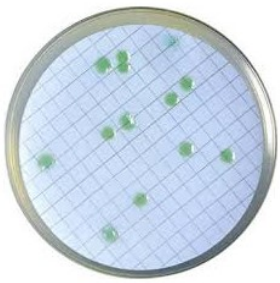


Figure 7. *Pseudomonas aeruginosa* on Cetrimide

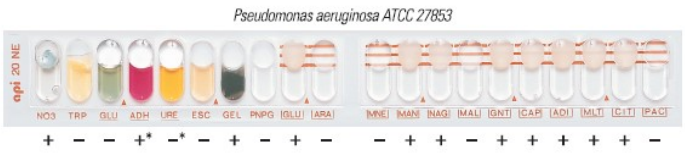


Figure 8. Identification of *Pseudomonas aeruginosa*-API 20NE-

Research of *Vibrio cholera*

The method used to search for this germ is as follows:

- In a bottle containing 50 ml of EPA (Alkaline Peptone Water), add 450 ml of the water sample to be analyzed (seawater case) under sterile conditions.
- Incubation 8 hours at 37 ° C

The first isolation: without shaking, using a graduated pipette and a pro pipette flambéed from the surface, a drop is collected and seeded on a petri dish (GNAB agar) and then incubated at 37 ° C. / 24 hours, and 1 mL of the stock solution is also deposited in a tube containing EPA, incubated at 37 ° C / 24 hours.

Second isolation: from one drop from the tube onto another petri dish (GNAB agar),incubate at 37 ° C / 24 hours.

Reading and interpretation

- Aspect of the tube: homogeneous disorder
- On GNAB: characteristic colonies: round, medium size, about 2 mm in diameter after 18 hours of culture, bluish translucent with regular edges. But the appearance of colonies varies greatly depending on the seeded peptone: presence of *Vibrio cholera*

not agglutinating or clumping.

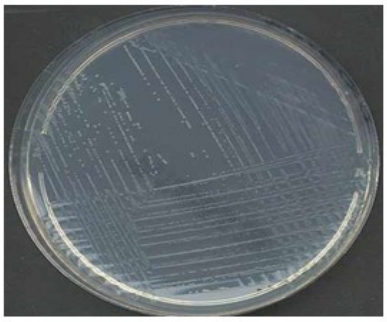


Figure 9. *Vibrio cholerae* on GNAB

Conclusion

The count and the search for microorganisms in the water are potentially pathogenic and takes time, costs are high. The bacteriological analysis is important because the bacteriological quality of water is not a stable parameter, but on the contrary subject to fluctuation, by accidental pollution, requiring permanent controls and representing the most frequent cause of non-potability of the water. Also recent and reliable techniques must be used for the detection of pathogenic germs in water intended for human consumption or other.

References

1. ***Clausen E.M.*** Fecal streptococci: indicators of pollution/ Clausen E.M. [et al.] // American Society for Testing and Materials, ASTM STP 635. –1977. – P.247-264.
2. ***DELARRAS C.*** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : réglementation, prélèvements, analyses/ DELARRAS C. [et al.] // Editions Tec et Doc-EM Inter. –2003.
3. ***DELARRAS C.*** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux/ DELARRAS C. [et al.] // LAVOISIER TEC & Doc. –2003.
4. ***DELARRAS C.*** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire/ DELARRAS C. [et al.] // Editions Tec et Doc-EM Inter-Lavoisier. –2007.
5. ***DELAY M.*** La gestion des aquifères/ DELAY M. [et al.] // MASSON. – 1997.
6. ***DELCOURT M.O.*** Equilibres chimiques en solution/ DELCOURT M.O. [et al.] // De Boeck Université. –2 000.
7. ***DESJARDINS C.*** Le traitement des eaux/ DESJARDINS C. [et al.] // LAVOISIER TEC & Doc. –1997.
8. ***DESJARDINS R.*** Le traitement des eaux/ DESJARDINS C. [et al.] // Presses Internationales Polytechniques. 2e édition. – 1997.
9. ***Edberg S.C.*** *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection/ Edberg S.C. [et al.] // Journal of Applied Microbiology. –2000. –Vol.88. –P. 106-116.
10. ***Elmund G.K.*** Comparison of Escherichia coli, total coliform and fecal coliform populations as indicators of wastewater treatment efficiency/ Elmund G.K. [et al.] // Water Environment Research. –1999. –Vol.71. – P.332-339.
11. ***Gleeson C.*** The coliform index and waterborne disease/ Gleeson C. [et al.] // E & FN Spoon. –1997. –P.194.
12. ***HASLAY C.*** Microbiologie des eaux d'alimentation/ HASLAY C. [et al.] // Technique et Documentation. – 1993.
13. ***LARPENT J. P.*** Mémento technique de microbiologie/ LARPENT J. P. [et al.] // Technique et Documentation. –1990.
14. ***MARTIN G.*** Point sur l'épuration et le traitement des effluents (Eau/Air)/ MARTIN G. [et al.] // Tec et Doc. Bactériologie des milieux aquatiques. – 1985. –Vol.2.
15. ***Olivieri V.P.*** Bacterial indicators of pollution/ Olivieri V.P. [et al.] // Bacterial indicators of pollution, CRC Press. –1982. –P.21-41.
16. ***Rodier J.*** L'Analyse de l'eau / Rodier J. [et al.] // Dunod 9e édition. – 2009. –1579P.

Поступила в редакцию: 20.09.2019 г.

Haffaressas Y., Hamoudi S., Mouffok F.
Лаборатория пищевой и водной бактериологии, окружающей среды, Институт Пастера в Алжире
e-mail: yacinechabani@yandex.ru

scientia, virtus, libertas