

ИХ МИССИЯ — ПРИНОСИТЬ РЕАЛЬНУЮ ПОЛЬЗУ ПТИЦЕВОДАМ



Профессия лаборанта производственной технологической лаборатории (ПТЛ), безусловно, требует подготовки по высшему стандарту, но едва ли не важнее ответственный, осмысленный, творческий подход к делу. Об этом нам рассказала **Ольга Викторовна Плаксина**, заместитель директора по качеству, при встрече на Новооскольском комбикормовом заводе в Белгородской области.

ПРОИЗВОДСТВЕННО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРИЯ

Наше знакомство с ПТЛ началось с отдела, занимающегося отбором и формированием проб сырья, поступающего на комбикормовый завод. Отобранные в соответствии с требованиями ГОСТ точечные пробы сырья объединяются в одну, из нее выделяется средняя, которую делят на два идентичных образца: один из них — арбитражный — засыпается в специальный контейнер и хранится на случай разногласий, другой поступает на анализ в химическую лабораторию, работающую в круглосуточном режиме по 12 часов в смену. Наиболее тонкое измельчение проб, по словам специалистов ПТЛ, обеспечивает лабораторная мельница Rich. Это необходимо для того, чтобы навеска продукта для определения содержания таких показателей, как сырой протеин, клетчатка, жир, была репрезентативной. По методике ее масса составляет всего 0,7 г, а она должна представлять качество, например, 60-тонной партии рыбной муки. На достоверность результатов влияет, разумеется, не только тонина измельчения, но и соблюдение правил отбора. «А неправильно отобранные и неправильно подготовленные пробы — это неправильные результаты», — поясняет О.В. Плаксина.

В сырье и комбикормах определяют прежде всего влажность или массовую долю влаги на двух влагомерах MA-150 Sartorius, в которых реализован экспресс-метод. На приборах немецкой фирмы Gerhardt и итальянской фирмы Velp устанавливается содержание клетчатки. Рассказывая об этих приборах, руководитель лаборатории обратила внимание на некоторые недостатки при работе на них, усложняющие получение достоверных результатов. Дело в том, что, например, в фильтрующем стеклянном тигле применяются минеральные фильтры, которые «выщелачиваются» под действием растворов щелочи и кислоты, то есть фильтры истончаются, что в итоге искажает результат. Поэтому клетчатку можно определять по методу, предполагающему «ручной» ре-

жим и в большей степени исключаящему погрешности, «если, конечно, аккуратно работать с одноразовыми пакетами-фильтрами». На определение сырого жира по методу Сокслета на анализаторах Velp химики-лаборанты затрачивают около трех часов, при этом одновременно успевают обработать шесть проб, что позволяет проверить за смену все: и поступившее сырье, и выработанный комбикорм. Полученный после окончания анализа жир расходует на навеску для определения кислотного и перекисного числа.

Сырой протеин (азот) определяют в ПТЛ по методу Кьельдаля. Пробоподготовка заключается в сжигании навесок сырья и комбикорма в колбах с добавлением специальных реактивов в двух дигесторах (печи минерализации), которые практически не выключаются круглые сутки. Отгонка аммиака и титрование раствора проводится на анализаторах Velp и Beger.

Различные показатели определяют в лаборатории Новооскольского комбикормового завода, что является обычным делом для производственно-технологических лабораторий. Но необычно то, что в этой лаборатории под руководством Ольги Викторовны Плаксиной, имеющей





огромный опыт работы, трудится думающий коллектив специалистов-химиков, технологов. Каждый результат для них не просто результат. Они всесторонне его анализируют, интерпретируют, прежде чем выдать «на-гора».

— Мы всегда решаем какие-то задачи, постоянно проводим эксперименты, — говорит О.В. Плаксина. — Например, сейчас усиленно занимаемся ферментными препаратами, определяем активность фитазы, ксиланазы, целлюлазы, бета-глюканазы. Эти непростые по своей сути анализы осложняются тем, что каждый производитель ферментных препаратов предлагает свою, а чаще вовсе не указывает методику определения активности его продукта.

Специалисты-диетологи агрохолдинга «Приосколье», в состав которого входит Новооскольский комбикормовый завод, находятся в постоянном поиске оптимальных рецептов для откорма бройлеров, поэтому хотят видеть то один фермент, то другой, то третий; просят провести сравнение ферментов по термостабильности и т.д.

В лаборатории занимаются адаптацией универсальной методики *in vitro*, которая регламентирует определение активности фермента при температуре 50°C. «Но это полный абсурд. У какой сельскохозяйственной птицы такая температура в желудочно-кишечном тракте? Нужно рассматривать ферментацию в ее организме при температуре, соответствующей физиологической норме, и ни в коем случае не искажать условия. Ферменты должны быть биодоступными, работать и помогать птице, — считает заместитель директора по качеству. — Мне уже давно понятно, что анализы должны нести какой-то смысл. И каждый должен понимать, для чего он выполняет тот или иной анализ, чем может помочь птицефабрике, чего она может добиться при этом. Нельзя работать вслепую и «перемолачивать» просто так пробы, чтобы галочку поставили, что выполнены анализы. Сотрудник, не понимающий смысла работы, для птицеводов будет попросту бесполезным. Думаю, не этого они от нас ждут».

Очередной пример творческого подхода к выполнению рутинных анализов касается метода определения активности уреазы в продуктах переработки соевых бобов,

позволяющего оценить качество термической обработки и доступности белка. Однако бессмысленно определять активность уреазы в бразильском соевом шроте, стабилизированном органическими кислотами в процессе его транспортировки и перевалки (иначе он не сохранится). Их добавление искажает реальную картину с pH продукта. В данном случае этот анализ неактуален, однако соевые бобы, перерабатываемые на местных заводах, нуждаются в такой проверке. Кроме того, сейчас соевый шрот и жмых анализируют на массовую долю растворимого протеина. Анализ проводят в слабощелочной среде. Но почему не в кислой? Ведь корм, поступая в желудок птицы, сразу попадает в кислую среду желудочного сока, включающего соляную кислоту и ферменты, в частности пепсин. Тогда причем же здесь слабощелочной раствор? Оказывается, выведены новые ГМ-сорты соевых бобов, протеин которых трудно переваривается в условиях желудка — не до конца расщепляется под воздействием соляной кислоты и пепсина. Однако, проходя по желудочно-кишечному тракту в нейтральной и слабощелочной среде, он хорошо разлагается в кишечнике трипсином, а там уже слабощелочная среда (выброс трипсина поджелудочной железой обеспечивает полное расщепление белка на аминокислоты). Поэтому анализ именно с щелочным раствором показывает истинную картину, насколько протеин растворяется в кишечнике. Если соя не дожарена, то белковые вещества — глобулины — связывают трипсин и химотрипсин, выделяемые поджелудочной железой животного. Ингибиторы трипсина инактивируются при термической обработке.

Также внедрен метод определения азота в растворе соляной кислоты с добавлением пепсина, демонстрирующий, какая часть не только сои, но и других составляющих комбикорма растворяется в желудке птицы.

Были сложности с анализом небелкового азота в мясной муке. Вдруг, применяя различные методы, его там стали обнаруживать в большом количестве, хотя не должно быть больше единицы. И точно было известно, что производители не добавляли туда неорганических солей азота. Выяснилось, что даже при небольших нарушениях в технологии термообработки от молекул белка отрываются



короткоцепочечные моно- и дипептиды. Вследствие своей невысокой молекулярной массы они проявляют свойства неорганических солей азота и могут быть определены как неорганический (небелковый) азот. Это еще раз подтверждает, что к полученным результатам необходимо подходить обдуманно.

На ИК-анализаторе немецкой фирмы Bruker в лаборатории снимают спектры образцов сырьевых компонентов и отправляют их через сеть Интернет во Францию (там проводился балансовый опыт на петушках, у которых удалена слепая кишка). Оттуда в режиме онлайн приходит ответ на трех листах. На первом листе указываются результаты по содержанию протеина, золы, жира, клетчатки, доступного или общего фосфора. На втором — уровень лизина, метионина, триптофана, валина, изолейцина, аргинина и других аминокислот, а также усвояемых лизина и метионина. На третьем листе показано количество валовой (дифференцированно), балансной и базисной (чистой) энергии, которая была установлена в балансовых опытах. Сотрудничество с французской лабораторией еще раз продемонстрировало, как многогранна работа ПТЛ.

«По сути, наша лаборатория становится исследовательской. И нам ничего другого не остается, как расширять ее методологическую и приборную базу, пополнять и углублять знания, обеспечивать достоверные результаты, взвешенно их интерпретировать, быть неравнодушными к своей работе», — подчеркивает Ольга Викторовна.

Стоит отметить многолетнюю приверженность лаборатории Новооскольского комбикормового завода к использованию систем капиллярного электрофореза «Капель» Санкт-Петербургской компании «Люмэкс». «Конечно, нам их нужно еще больше, но не хватает места для размещения», — сетует на отсутствие места руководитель ПТЛ. В лаборатории пока только четыре таких прибора. На одном из них определяют содержание водорастворимых витаминов, на другом — аминокислотный состав сырья и комбикормов по методике, которая позволяет в одном анализе определить содержание 14 аминокислот: аргинина, лизина, метионина, треонина и др. Отработаны и постоянно применяются методики по определению содержания триптофана и цистина. Третий прибор предназначен для анализа катионов: кальция, натрия, магния, калия, из растворов, подготовленных для анализа аминокислот (преимущества — нет нужды гидролизовать другую пробу). И хотя этот метод еще не стандартизован, методика для определения катионов на «Капели» уже аттестована. Тот же раствор используется для определения в нем анионов: хлоридов, сульфатов,

фосфатов (в пересчете на фосфор) — одной пробой, как говорится, убивают сразу трех зайцев.

На приборах «Капель» по методике «Люмэкс» устанавливают концентрацию действующего вещества в антибиотиках и содержание органических кислот. Проводят эти сложные анализы химики с высшим образованием. Свою квалификацию они повышают на семинарах, ежегодно проводимых компанией «Люмэкс».

В отделе хроматографии на жидкостном хроматографе определяют витамины А, D, E, на газовом — состав и качество жирных кислот, в том числе содержание линолевой кислоты, являющейся омега-6 ненасыщенной жирной кислотой, имеющей большое значение для родительских и прародительских стад бройлеров, особенно для продуктивности петухов. Выращивать племенное стадо ответственно, поэтому заводчики кросса рекомендуют контролировать эти показатели, чтобы грамотно рассчитать рецепт комбикорма для получения качественного инкубационного яйца и, соответственно, хорошего поголовья бройлеров.

Лаборатория должна учитывать все нюансы, которые могут помочь птицеводам. Ведь в Белгородской области у ЗАО «Приосколье» одновременно содержится 23 млн голов птицы. Поэтому надо смотреть, что называется, в оба. Органические кислоты вводятся в корм; они проявляют подкисляющие и антимикробные свойства, сдерживают рост патогенных бактерий в желудочно-кишечном тракте. «Что касается анаэробных бактерий, тех же клостридий, их сложно уничтожить короткоцепочечными кислотами — муравьиной и пропионовой. Но как же воздействовать на анаэробную инфекцию? Западные фирмы предлагают среднецепочечные жирные кислоты, такие как каприловая, лауриновая, миристиновая, оказывающие благотворное влияние на кишечник. В лаборатории в обязатель-



ном порядке определяют их содержание в препаратах, чтобы и на комбикормовом заводе, и на птицефабрике были уверены в том, что они там есть в заявленном количестве, а значит, будут эффективны против анаэробных бактерий», — утверждает О.В. Плаксина.

На автоматическом экспресс-анализаторе при необходимости проводят биотестирование сырья и кормов на инфузориях (стилонихиях и парамециях). Если тестирование показывает «токсично» или «слабо токсично», анализ дублируют на мышах собственного вивария. Прибор Stat Fax с помощью соответствующих тест-систем позволяет выявлять микотоксины, а также остаточное количество антибиотиков в мясе.

Как уже упоминалось, аттестованная лаборатория Новооскольского комбикормового завода работает на нужды ЗАО «Приосколье», осваивает много нового, на первый взгляд, даже не относящегося к ее функциям.



БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРИЯ

Бактериологическая лаборатория, отметившая недавно свое 10-летие, была создана в соответствии с требованиями СанПиН и требованиями к безопасности работ с микроорганизмами II-III-IV групп патогенности, что редкость для производственных лабораторий, особенно по II группе, соответствовать которой весьма сложно.

Лаборатория состоит из двух зон — «чистой» и «заразной». В «чистой» зоне находятся два отдела — моечная и средоварка. В средоварке готовят среды, необходимые для анализов. Они хранятся в специальном холодильнике, на нем прикреплен список сред со сроком их хранения. В моечной подготавливают посуду (обезжиривают, моют, сушат) и инструменты к стерилизации в сушильном шкафу. Здесь же находится дистиллятор и система обработки воды, которая не только очищается от минеральных примесей, солей жесткости, железа и т.д., но и облучается ультрафиолетом. Для лаборатории это важно — в воде не должно быть бактерий.



В «заразной» зоне следующие комнаты: для приема проб; посевная с биологическими боксами; термостатная; рабочая; автоклавная; а также микологический отдел. Все, что находится в этих комнатах-отделах, — мебель, оборудование, рабочий инвентарь — подписаны (промаркированы) с указанием информации о том, для чего они предназначены и к какой зоне относятся. Ничего случайного в этой зоне нет. Ламинированные инструкции, которые можно обрабатывать дезинфицирующими растворами, хранятся на специальных стендах, причем для каждой комнаты свой. Помещения оснащены бактерицидными облучателями.

Отобранные образцы доставляются в комнату приема проб в специальных сумках-холодильниках, исключающих контаминацию и поддерживающих необходимую температуру при доставке. Образец делится на два: один идет сразу на исследование, а другой закладывается в стерильный пакет и хранится в специальном шкафу в течение месяца как арбитражная проба. От банок для хранения отказались — там проба не «дышит».

В посевной комнате оборудованы два ламинарных бокса для первичного посева, для пересева. Все необходимое для работы находится в стерильных условиях: весы, вортексы, мельницы, водяные бани, центрифуги, спиртовки, контейнеры с дезраствором, куда сбрасывается отработанный инструмент (ложки, пипетки, наконечники), а также другие инструменты. Для каждой пробы свой стерильный набор инструментов, чтобы не было сомнений при

получении результата исследования. Раздельные боксы обязательны — нельзя допускать контаминацию. Здесь же находится и запас агглютинирующих сывороток, которые необходимы для подтверждения результата: точно определить тип и подвид возбудителя можно только при проведении реакции агглютинации.

В лаборатории есть коллекция «музейных» штаммов. Это чистые культуры, необходимые для контроля качества новых и приготовленных сред (чувствительность, влияние питательной среды на типичность микроорганизмов, эффективность, ингибирующие свойства). Также штаммы используются для идентификации бактерий, если есть сомнения при анализе.

На фильтровальной установке анализируют воду — питьевую и сточную: для птицефабрик — ее чистоту, на наличие термотолерантных бактерий, которые устойчивы к термообработке, и на наличие кишечной палочки.

В рабочей комнате проводят окраску мазков по Граму, чтобы под микроскопом можно было правильно идентифицировать микроорганизмы: палочки и кокки, бактерии образующие споры, грамположительные или грамотрицательные.

Все отходы обеззараживаются в автоклаве при определенных режимах стерилизации — для каждого вида микроорганизмов свои показатели. Главное, чтобы обеспечить не только правильный результат, но и безопасность в работе. После автоклавирования отходы хранятся в специальном холодильнике в разных по цвету пакетах: в желтом — отходы класса Б, в красном — класса В. В конце месяца согласно договору все отходы сдаются для дальнейшей утилизации представителю ООО «ТК «Эко-транс» (Белгород), оказывающего полный спектр услуг в сфере обращения с отходами (медицинские отходы — по весу). Один талон остается в лаборатории, другой передается в Роспотребнадзор. Подразделение, работающее с II-III-IV группами патогенности, не имеет права по закону выбрасывать отходы на общую свалку.

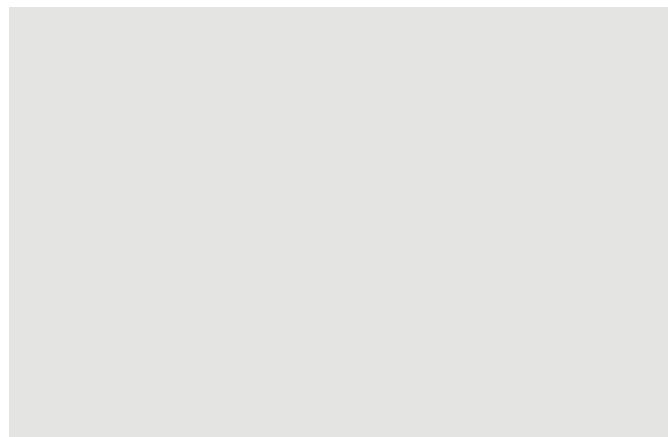
В термостатах при определенной температуре выдерживаются посевы, а затем в зависимости от роста определяются следующие действия: либо записывать на экспертизу, либо оставить для дальнейшего роста. «Бывает всякое, и ошибки случаются. Но их нельзя утаивать, — уверена О.В. Плаксина. — Например, высеяли кишечную палочку для проверки поступившей партии подсолнечного шрота и видим: в посевах что-то растет. Мы даем письменное распоряжение на термическую обработку этой партии сырья. После нее снова берем пробы, пересеем и, убедившись, что там ничего плохого нет, рекомендуем к производству. Иначе поступать нельзя. Если после термообработки вредные микроорганизмы не уничтожены, отправляем сырье на утилизацию. А, впрочем, такое сырье мы и вовсе не принимаем, поскольку заранее проверяем образцы, доставленные в лабораторию коммерческим отделом».

Микологический отдел от бактериологического отделен тамбуром в соответствии с рекомендациями, полученными при лицензировании. Отдел оборудован шкафами, термостатом, автоклавом, сушильным шкафом, ламинарным боксом, мойкой. Лабораторная посуда для проведения микологического анализа не выходит за пределы этой комнаты.

В отличие от наметившейся практики выявлять микотоксины в этой лаборатории работают на «опережение» — исследуют зерновое сырье на микроскопические грибы. Делается это в первую очередь для того, чтобы знать ситуацию с состоянием зерновых культур на складах. Если обнаружено, что на каком-то участке зерновой насыпи начинается самосогревание, в срочном порядке отбирают пробы в этом очаге и проверяют их на наличие грибов, то есть не ждут появления микотоксинов. «Для нас важно обогнать этот процесс, — утверждает Ольга Викторовна. — Зерно, в котором мы выявляем грибы, отправляем на термическую обработку, при которой они погибают, не успев выделить микотоксины. Мониторинг, который мы периодически проводим по микроскопическим грибам, дает нам возможность отследить микотоксины. Кроме того, микологический анализ проще, чем анализ микотоксинов, потому что для выделения грибов при их посеве используются только питательные среды. И по стоимости он дешевле, и видно, какие грибы там действительно растут, а зная, какие они продуцируют микотоксины, лаборанты легко их определяют».

Отведена отдельная комната для хранения и учета прекурсоров: соляной и серной кислот, эфиров, марганцовокислого калия, ацетона, агрессивных сред. Специальная внешняя комиссия проверяет, в каких условиях содержатся эти вещества.

Виварий (лат. *vivarium*, от *vivus* — живой) — это помещение для содержания различных животных, преимущественно лабораторных, используемых в экспериментальной работе. В микробиологических учреждениях в виварии содержат обычно животных, особо восприимчивых к заболеваниям, вызываемым микроорганизмами.



Виварий размещен в отдельно построенном здании, разделенном на «чистую» и «заразную» (блок инфицированных животных) зоны, с отдельными входами. Между «чистой» и «заразной» зонами установлен тамбур-шлюз для перехода из «чистой» зоны в «заразную» и возвращения в «чистую» зону через санпропускник «заразной» зоны, душевую, санпропускник «чистой» зоны и выходом в «чистую» зону. В помещении светло, чисто, уютно; господствует белый цвет: на стенах ослепительно белая плитка до потолка, пластиковые белые двери, оборудование белого и серебристого цвета, светлый кафельный пол. Мебель и оборудование промаркированы. В виварии приточно-вытяжная вентиляция; кондиционеры в тех кабинетах, где разрешено требованиями НТД; ультрафиолетовые облучатели дезинфицируют воздух. Лабораторная посуда, инструментарий и другой вспомогательный материал передаются через передаточные окна. В полу оборудованы стоки для удаления воды.

В виварии работает дружный творческий коллектив из четырех специалистов, прошедших специальное обучение. В «чистой» зоне для них оборудована раздевалка (для каждого сотрудника по два индивидуальных шкафа — для личной одежды и спецодежды), а также два кабинета для работы с документами.

Карантинное помещение предназначено для размещения новых лабораторных животных, поступающих с документами. По окончании карантинного наблюдения их переводят в помещение для здоровых животных, где они живут на стеллажах в прозрачных пластиковых клетках. Кормление и уход осуществляет специально обученный сотрудник. Комбикорм в кормлении лабораторных животных не используется, чтобы не вызывать привыкания к нему и не нарушать методику исследования. Корм для них готовится в кормокухне, где проводят его обеззараживание. Животным скармливают по нормам стерильную зерновую смесь, сухари, сено, овощи, овсяную кашу на молоке и мясном бульоне. Чтобы получить достоверный результат биопробы и не вызвать толерантности к микроорганизмам у лабораторных животных, все обеззараживается: корм, подстилка, предметы ухода, поилки, клетки — в соответствии с требованиями санитарных правил. По-

сле дезинфекции предметы ухода, поилки, клетки моют в моечной.

В «заразной» зоне вивария размещаются манипуляционная, вскрывочная, помещение для зараженных животных, автоклавная. Патматериал из баклаборатории поступает в виварий через входную дверь «заразной» зоны в контейнере для патматериала. После дезобработки контейнера патматериал отправляют в помещение по назначению выполнения биотестирования (токсичность, патогенные свойства, в том числе анаэробы, кормов и сырья). В манипуляционной ставится биопроба на токсичность. Применяют два вида экстрагирования (органический растворитель или водную вытяжку корма и компонентов) и введение экстракта белым мышам в желудок. Клетки с зараженными животными передают через передаточное окно в помещение для зараженных животных под наблюдение. На патогенные свойства кормов и сырья заражают белых мышей во вскрывочной в ламинарном боксе и так же передают в помещение для зараженных животных под наблюдение. Анаэробы исследуются на морских свинках.

При падеже зараженных лабораторных животных и по завершении срока наблюдения за ними проводится патологоанатомическое исследование внутренних органов трупов (внешний вид, размер, изменение органов, мазки-отпечатки, посевы из органов, термостатирование и др.), после чего оформляются результаты.

Виварий, в соответствии с СанПиН, оснащен в достаточном количестве оборудованием, стерильным одноразовым инструментарием, перчатками, защитной одеждой. По окончании работы в блоке инфицированных животных патматериал, лабораторная посуда, инструменты и защитная одежда автоклавируются. После дезинфекции лабораторная посуда и инструменты передаются в моечную, затем стерилизуются в сушильном шкафу Binder. Спецодежда после дезинфекции стирается ежедневно в стиральной машине. Сотрудники вивария после работы в «заразной» зоне проходят в «чистую» зону через санпропускник и душевую. Все работы проводятся в соответствии с требованиями безопасности.

Лаборатория ПЦР (полимеразная цепная реакция) была открыта 21 марта 2016 г., а подготовка к этому началась с осени 2015 г. «Перед нами стояла задача определять вирусные инфекции, поражающие птицу, — вспоминает О.В. Плаксина. — Руководителя нашей компании не устраивало, что мы отвозили ее на исследование в другие организации, и только через месяц, когда птица была забита, там устанавливали наличие вируса. Теперь мы сами научились распознавать его».

В лабораторию в термосумках поступает материал — органы птицы и мазки, которые помещаются в специальную холодильную камеру. Еще одна камера служит для хранения системы выделения ДНК и РНК, куда входят раствор для лизиса, отмывка, сорбент, на который впоследствии будет «посажена» нуклеиновая кислота, и растворитель,



в котором будет находиться чистая форма нуклеиновой кислоты, используемой в дальнейшем для анализа. Также имеется морозильная камера, обеспечивающая заморозку исследуемого материала до температуры -86°C .

Начальный этап анализа проходит после поступления сырья в «заразную» зону. В ламинарном боксе BIO II A идет выделение нуклеиновой кислоты. Как альтернатива в лаборатории есть автоматическая станция выделения нуклеиновых кислот QIAcube. В центрифуге размещаются специальные адаптеры с тремя позициями. В одну из них помещается приемная пробирка, в которой после завершения процесса будет находиться нуклеиновая кислота, а в другую — колонка с сорбентом. Станция оснащена штативом для дополнительных реагентов (протеиназы и других ферментов). Для ее работы задается программа, и каждому виду исследуемого материала соответствует свой протокол. Операция выделения длится в среднем около 40 мин. На выходе получается жидкость — чистая форма нуклеиновой кислоты в элюенте. На следующем этапе готовят необходимые растворы, собирая их из пробирок в миксы. Потом работники раскапывают их по пробиркам. Удобно, когда пробы идут потоком, тогда всю эту операцию можно провести с помощью станции дозирования жидкостей QIAgility. Если проб немного, это делается вручную в ПЦР-боксе БАВ-ПЦР-«Ламинар-С». Тест-система состоит из ПЦР-смеси: праймеров, свободных нуклеотидтрифосфатов и фермента полимеразы, а при работе с РНК в набор дополнительно включен фермент ревертаза. Ревертаза обеспечивает преобразование молекулы РНК до ДНК, пригодной для дальнейших превращений. Праймеры представляют собой готовые блоки из нуклеотидтрифосфатов, которые садятся на определенное место в разветвленной цепочке ДНК после того, как ее «расплели». Свободные трифосфаты должны заполнить пространство между праймерами. Полимераза обеспечивает протекание реакции.

В комнате для проведения амплификации находятся два прибора для выполнения ПЦР в режиме реального времени — Rotor-Gene (Германия) и CFX (США). Програмируемый термостат может обеспечивать необходимый оптимум температур для реакции. Прибор сначала выдерживает температуру 95°C для активации полимеразы. Следующий шаг — многократное повторение температурных циклов: при 95°C идет раскрутка цепи ДНК (денатурация), азотистые основания которой соединены водородными связями; затем устанавливается температура 56°C , при которой праймеры садятся на свое место в раскрученной цепи (отжиг праймеров). К праймерам прикреплены зонды (флуоресцентные метки), которые при отжиге отщепляются и начинают флуоресцировать. Далее при температуре 72°C достраивается вторая цепь из свободных нуклеотидтрифосфатов с помощью полимеразы. Происходит накопление продуктов амплификации, которое регистрируется за счет свечения зондов с помощью фотоэлектронного



умножителя (ФЭУ) и отражается на экране в виде кривой накопления. Результат считается положительным, если имеет форму логарифмической кривой с обязательным выходом на плато. Запрограммированный температурный цикл повторяется 50 раз. Положительными считаются те образцы, которые до 40 цикла начали «подниматься», а 50 циклов делают для полноты картины. Чтобы исключить контаминацию, ставится отрицательный контроль, который проходит все стадии подготовки, но без добавления исследуемого материала. Отдельно ставится положительный контроль, который показывает, что система работает. Положительный результат может быть следствием вакцинации или заболевания, что можно уточнить с помощью полногеномного секвенирования. Кроме вирусов, на этих приборах идентифицируется ГМО в сое. Подготовка аналогичная (выделение нуклеиновых кислот и т.д.) — согласно методике к тест-системе. Также в лаборатории определяют фальсификацию рыбной муки, например, по выявлению ДНК птицы (подмешана перьевая мука).

Сотрудники лаборатории, прошедшие специальное обучение в Москве в ФБУН ЦНИИЭ и имеющие соответствующие сертификаты, делают в месяц более ста подобных анализов.

Таким образом, и оснащенность лаборатории, и уровень подготовки ее специалистов позволяют обеспечивать надлежащий контроль качества и безопасности не только комбикормов и сырья для их производства, но и птицеводческой продукции. Лаборатория активно участвует в решении многих производственных задач. Ее деятельность направлена на то, чтобы приносить реальную пользу птицеводам. ■

