

Достоверное ускорение СОЭ у опытных морских свинок наблюдали уже через 1 час после введения прокипяченной суспензии в 2,6 раза, через 12 часов в 2,3 раза, а через 24 часа – в 1,7 раза быстрее, чем у животных контрольной группы.

Таким образом, изменение морфологических показателей крови после введения им прокипяченной суспензии сетарий через 1, 12 и 24 часа дает основания полагать, что это вещество содержит термостабильные соединения, которые вызывают в организме животных изменения, характерные для аллергических реакций.

Изменения биохимических показателей крови после введения прокипяченной суспензии приведено в табл. 3. Из данных таблицы видно, что содержание общего белка через 1 час после введения животным суспензии было достоверно ниже на 8,1%, через 12 часа на 16%, а через 24 часа на 4,7%, чем у животных контрольной группы.

Таблица 3 – Биохимические показатели крови морских свинок после введения прокипяченной суспензии из сетарий ( $M \pm m$ ,  $n = 12$ )

Показатели	Группы животных	До введения суспензии	Через 1 час	Через 12 час	Через 24 час
Общий белок, г/л	Контрольная	60,2±0,064	60,1±0,087	60,1±0,087	60,2±0,064
	Опытная	60,1±0,087	55,2±0,222*	50,5±0,249*	57,4±0,311*
Альбумины, г/л	Контрольная	45,3±0,058	45,2±0,065	45,2±0,065	45,2±0,058
	Опытная	45,2±0,065	50,8±0,342*	54,5±0,218*	52,2±0,218*
Глюкоза, ммоль/л	Контрольная	8,4±0,057	8,4±0,063	8,4±0,063	8,4±0,057
	Опытная	8,4±0,063	8,0±0,214	7,0±0,312*	8,1±0,111
АсАТ, Од/л	Контрольная	2,41±0,024	2,40±0,067	2,40±0,067	2,41±0,024
	Опытная	2,40±0,067	2,72±0,088	4,43±0,055***	3,84±0,041
АлАТ, Од/л	Контрольная	1,32±0,050	1,31±0,051	1,31±0,051	1,32±0,050
	Опытная	1,31±0,051	2,35±0,067**	3,22±0,111***	2,4±0,085*

Примечания: 1. \*  $p < 0,05$  сравнительно с интактными животными; 2. \*\*\*  $p < 0,001$  сравнительно с интактными животными

Содержание альбумина было достоверно высоким на протяжении всего периода исследований. Через 1 час он повышался на 11%, через 12 часов на 17% и через 24 часа на 13,4% по отношению к животным контрольной группы.

Концентрация глюкозы через 1 и 24 часа не отличалась от контроля, но через 12 часов была достоверно ниже на 16,6%.

Активность АсАТ и АлАТ через 1 час после введения суспензии не отличалась от ее показателей у животных контрольной группы, но через 12 часов активность АсАТ была достоверно повышена на 30%, а АлАТ на 40%. Через 24 часа эти изменения были незначительными, а активность обеих показателей снизилась до исходных.

**Заключение.** Изменения морфологических и биохимических показателей крови после введения прокипяченной суспензии дают на основании полагать, что наличие в ней термостабильных соединений вызывает в организме животных изменения, характерные для аллергических реакций. Эти изменения подобны изменениям, которые возникают после введения натуральной суспензии из сетарий.

**Литература.** 1. Зайцев, Н.Я. Изучение токсического и сенсибилизирующего влияния аскаридий на организм цыплят (экспериментальное исследование): автореф. дис. на соискание науч. степени д-ра вет. наук. – М., 1970. – 27 с. 2. Кондрахин, И.П. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии / И.П. Кондрахин. – М.: Агропромиздат, 1985. – 485с. 3. Левченко, В.І. Клінічна діагностика хвороб тварин / В.І. Левченко, М.О. Судаков, Й.Л. Мельник. – К.: Урожай. – 1995. – 368с. 4. Наумычева, М.И. Антигены *Ascaris suum* и аллергия при аскаридозе свиней: автореф. дис. на соискание науч. степени д-ра вет. наук. – М., 1973. – 32 с. 5. Галат, В.Ф. Сетариоз животных в Украине / В.Ф. Галат, Н.М. Сорока, А.В. Березовский, Ю.В. Прудкий // Ученые записки Витебской гос. акад. вет. мед. – Витебск, 2004. – Т. 40, Ч. 1 – С.187–188. 6. Сорока, Н.М. Стан гуморального імунітету при хронічному сетаріозі великої рогатої худоби / Н.М. Сорока // Вісник Дніпропетровського державного аграрного університету. – 2002. – № 1. – С. 109–111. 7. Методичні вказівки з діагностики філяріатозів тварин та стратегія основних лікувально-профілактичних заходів при них / Н.М.Сорока, А.В.Березовський, В.Ф.Галат, О.П.Литвиненко, М.С.Павленко // – Київ: Ветінформ, 2002. – 26 с. 8. Галат, В.Ф., Клінічні та біохімічні дослідження при хронічному сетаріозі великої рогатої худоби / В.Ф. Галат, Н.М.Сорока, К.В. Дідаш // Тез. доп. XII конф. Україн. наук. товариств паразитологів. – Севастополь, 2002. – С. 28 – 29. 9. Кербабеев, Э.Б. Обоснование методов и средств борьбы с иксодовыми клещами, комарами и мухами на крупном рогатом скоте в условиях многоукладного хозяйствования / Э.Б. Кербабеев, В.Г. Гладков, Т.С. Катаева // Тр. Всерос. Ин-та гельминт. – 2000. – Т. 36. – С. 58–64.

УДК 619 : 579.842.11

## ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ЭШЕРИХИЙ

Зайцев В.В., Дремач Г.Э.\*, Горбунова И.А.\*, Билецкий М.О.\*\*

УП «Витебская биофабрика»

\*УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»

\*\* ЛДУ «Витебская областная ветеринарная лаборатория»

г. Витебск, Республика Беларусь

Авторами статьи разработана рецептура питательной среды, содержащей ферментализат мяса, приготовленный специальным методом, 5%-ный раствор хлорида натрия и очищенную воду при определенном их соотношении. Разработанная среда обеспечивает более интенсивный рост микроорганизмов.

*The authors of the article have worked out compounding of nourishing environment containing fermentoisate meat, prepared by the special method, 5 % solution of chloride of natrium and cleared water at their certain correiation. Thls environment provides more intensive height of microorganisms.*

**Введение.** Вакцинация при многих инфекционных болезнях животных является наиболее эффективным профилактическим мероприятием. Успех вакцинопрофилактики во многом зависит от качества выпускаемых биопрепаратов, которое определяется свойствами производственных штаммов микроорганизмов, технологией и условиями производства.

На УП «Витебская биофабрика» выпускается в настоящее время 11 наименований бактериальных вакцин. Номенклатура этих препаратов периодически изменяется в связи с эпизоотической ситуацией и заменой менее эффективных вакцин препаратами, обладающими более высокой активностью.

Одним из элементов производства биологических препаратов является питательная среда. Качество изготавливаемых вакцин во многом определяется составом питательных основ, на которых производится культивирование вакцинных штаммов. Несмотря на большой ассортимент питательных сред, предлагаемых для выращивания различных культур микроорганизмов, по-прежнему актуальным остается вопрос разработки более экономичных и эффективных сред, основу которых составляют естественные аминокислоты и пептиды, полученные протеолитической обработкой белковых компонентов.

Технология создания сред на основе белковых гидролизатов проста и универсальна. Предложено значительное число белковых гидролизатов казеина, цельной крови, сыворотки крови, эмбрионов, внутренних органов, мышечной ткани, животных и растительных белков.

Для культивирования бактерий также используют сывороточные среды, гидролизаты мяса, мясокостной муки, субпродуктов животных и придатков семенников, гидролизатов крови и др.

Применение микробиологических питательных сред сбалансированного состава является одним из определяющих условий успешного осуществления различных биотехнологических процессов, основанных на выращивании микроорганизмов. Кроме того, это один из путей совершенствования и удешевления используемых сред.

В настоящее время разработка состава питательных сред хотя и проводится на основании современных представлений о физиологических потребностях микробов и особенностях их метаболизма, но соотношения компонентов в среде подбираются обычно эмпирически, реже – с использованием весьма трудоемкого метода многофакторного планирования. Такие подходы приводят к созданию сред, недостаточно оптимальных и экономичных по составу.

Так, бульон Хоттингера, применяемый для выращивания культур *E. coli* при изготовлении биологических препаратов ветеринарного назначения по ряду показателей не удовлетворяет требованиям современного производства.

Панкреотический ферментолитат говяжьего мяса в биологической промышленности готовят путем смешивания 1 части кусочков мяса и 2 частей воды, кипячения смеси в течение 15–20 минут и последующей ее гомогенизации. Полученный гомогенат подщелачивают 20%-ным раствором гидрокарбоната натрия до pH 7,8–8,0 и добавляют 20% (к объему смеси) фарша поджелудочной железы, очищенной от жира, соединительной ткани. Содержимое емкости тщательно перемешивают и добавляют 1–3% хлороформа. Смесь инкубируют при температуре 38–42°C в течение 7 суток, периодически встряхивая вначале через каждые 30 минут, далее – несколько раз в день. Под действием трипсина мясо, ферментируясь, превращается в однородный осадок серовато-желтого цвета, жидкость при этом становится прозрачной с соломенно-желтым оттенком. Полученный ферментолитат фильтруют и стерилизуют при 1 атм. 40–45 минут. Далее ферментолитат разводят водой очищенной до содержания 180–200 мг%, добавляют пептон и хлорид натрия до 0,5%. pH среды устанавливают 7,6–8,0 и стерилизуют.

Данный способ изготовления среды не лишен недостатков: низкий выход среды и целевого продукта, около 35–40% от первоначального объема белкового неферментированного сырья сбрасывается в канализацию.

Цель настоящих исследований – повысить биологическую активность питательных сред на основе ферментолитатов мяса и ее выход.

**Материал и методы исследований.** Нами предложен новый способ получения питательной среды из мясного сырья. Способ получения предлагаемой питательной среды для выращивания эшерихий заключается в том, что предварительно готовили протеолитический ферментолитат мяса путем его инкубации с ферментом алкалазой с активностью 2,4 единицы, взятых в соотношении от 5:0,2 до 0,5:10, в присутствии очищенной воды при температуре 45–60°C и pH 6,5–8,5 в течение 4–24 часов.

На основе мяса и фермента алкалазы нами были получены следующие варианты питательных сред:

Вариант №1. Фарш мяса смешивали с ферментом алкалазой в присутствии очищенной воды при соотношении компонентов 5:0,2:10 в течение 4 часов при температуре 45°C и pH 6,0. Ферментолитат мяса, 5%-ный раствор хлорида натрия и очищенную воду смешивали в соотношении 5:1:14.

Вариант № 2. Фарш мяса смешивали с ферментом алкалазой в присутствии очищенной воды при соотношении компонентов 5:0,1:10 в течение 10 часов при температуре 45°C и pH 7,0. Компоненты смешивали в соотношении 5:1:14.

Вариант № 3. Фарш мяса смешивали с ферментом алкалазой в присутствии очищенной воды при соотношении компонентов 5:0,5:10 в течение 24 часов при температуре 60°C и pH 7,0. Компоненты смешивали в соотношении 5:1:14.

Вариант № 4. Фарш мяса смешивали с ферментом алкалазой в присутствии очищенной воды при соотношении компонентов 4:1:11 в течение 12 часов при температуре 50°C и pH 7,0. Компоненты смешивали в соотношении 5:1:14.

Вариант № 5. Фарш мяса смешивали с ферментом алкалазой в присутствии очищенной воды при соотношении компонентов 6:0,2:9 в течение 24 часов при температуре 50°C и pH 6,5. Компоненты смешивали в соотношении 5:1:14.

Вариант № 6. Ферментализат мяса готовят аналогично варианту 1, но полученный ферментализат мяса, 5%-ный раствор хлорида натрия и очищенную воду смешивают в соотношении 5:1:4.

Вариант № 7. Ферментализат мяса готовят аналогично варианту 1, но полученный ферментализат мяса, 5%-ный раствор хлорида натрия и очищенную воду смешивают в соотношении 5:2:13.

Вариант № 8. Ферментализат мяса готовят аналогично варианту 1, но полученный ферментализат мяса, 5%-ный раствор хлорида натрия и очищенную воду смешивают в соотношении 10:1:9.

Вариант № 9. Ферментализат мяса готовят аналогично примеру 1, но полученный ферментализат мяса, 5%-ный раствор хлорида натрия и очищенную воду смешивают в соотношении 11:1:9.

Вариант № 10. Ферментализат мяса готовят аналогично примеру 1, но полученный ферментализат мяса, 5%-ный раствор хлорида натрия и очищенную воду смешивают в соотношении 4:1:15.

В качестве контрольной питательной среды использовали бульон Хоттингера.

Испытание опытных вариантов питательных сред и бульона Хоттингера проводили с испытуемыми культурами эшерихий (*E. coli* O8:K43, O9:K30, O15:K14:H30, O20, O26:K60:O41, O55, O78:K80, O86 и O115) и тест-штаммами микроорганизмов (*Staphylococcus aureus* штамм Лоссманов, *Streptococcus pyogenes* Dick I, *Shigella flexneri* 8515, *Escherichia coli* 675, *Corinebacterium diphtheroides* 1911, *Streptococcus faecalis* 6783, *Erysipelothrix rhusiopathiae* штамм BP-2) в соответствии с Методическими рекомендациями по контролю качества питательных сред для микроорганизмов (Раздел 3. «Биологический контроль белковых гидролизатов и получаемых из них питательных сред»).

Рост микроорганизмов оценивали для тест-штаммов через 24 часа, для испытуемых штаммов *E. coli* – через 18 часов.

**Результаты исследований.** Данные по росту тест-штаммов микроорганизмов в средах из гидролизатов мяса приведены в единицах оптической плотности в сравнении ростом этих штаммов в бульоне Хоттингера (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты оценки эффективности изученных питательных сред при стационарном культивировании эшерихий (млрд./см<sup>3</sup>)

Наименование культуры	Концентрация эшерихий, млрд./см <sup>3</sup>										Бульон Хоттингера
	среды из гидролизатов мяса, полученные разными способами										
	Вариант № 1	Вариант № 2	Вариант № 3	Вариант № 4	Вариант № 5	Вариант № 6	Вариант № 7	Вариант № 8	Вариант № 9	Вариант № 10	
<i>E. coli</i> O8:K43	4,70±0,50	3,51±0,41	4,82±0,52	3,66±0,38	3,48±0,38	4,80±0,52	4,76±0,48	4,82±0,49	3,10±0,32	2,96±0,26	2,61±0,25
<i>E. coli</i> O9:K30	4,65±0,60	3,44±0,48	4,77±0,55	3,62±0,36	3,52±0,36	4,84±0,55	4,72±0,52	4,84±0,52	3,12±0,28	3,0±0,25	2,66±0,22
<i>E. coli</i> O15:K14:H30	4,81±0,61	3,52±0,50	4,84±0,51	3,64±0,32	3,50±0,32	4,78±0,48	4,70±0,50	4,80±0,48	3,15±0,26	3,06±0,22	2,62±0,24
<i>E. coli</i> O20	4,72±0,54	3,49±0,48	4,80±0,48	3,62±0,30	3,44±0,30	4,76±0,44	4,68±0,42	4,80±0,46	3,10±0,28	3,02±0,25	2,58±0,20
<i>E. coli</i> O26:K60:O41	4,66±0,60	3,42±0,43	4,72±0,42	3,65±0,36	3,46±0,30	4,82±0,52	4,68±0,50	4,82±0,50	3,16±0,32	2,95±0,20	2,60±0,22
<i>E. coli</i> O55	4,62±0,58	3,40±0,42	4,80±0,56	3,60±0,36	3,48±0,33	4,78±0,42	4,72±0,48	4,86±0,48	3,12±0,28	2,98±0,25	2,60±0,24
<i>E. coli</i> O78:K80	4,59±0,67	3,50±0,40	4,72±0,48	3,68±0,36	3,44±0,30	4,80±0,48	4,70±0,42	4,84±0,50	3,10±0,26	2,96±0,24	2,54±0,22
<i>E. coli</i> O86	4,84±0,71	3,44±0,41	4,70±0,44	3,66±0,32	3,48±0,36	4,84±0,52	4,72±0,46	4,80±0,48	3,16±0,28	2,98±0,24	2,58±0,20
<i>E. coli</i> O115	4,91±0,64	3,46±0,55	4,75±0,46	3,65±0,30	3,50±0,41	4,80±0,50	4,70±0,43	4,76±0,42	3,10±0,28	2,94±0,26	2,62±0,28

Как видно из таблицы 1, гидролизаты мышечной ткани, полученные в оптимизированных условиях, более эффективны для роста испытуемых штаммов эшерихий, чем бульон Хоттингера. Так, концентрация микроорганизмов на средах, приготовленных по варианту №1 была в 1,77-1,89, по варианту № 3 – в 1,81-1,86, по варианту № 6 – в 1,83-1,86, по варианту № 7 – в 1,8-1,83, по варианту № 8 – в 1,83-1,87 раз больше, чем на контрольной среде.

Результаты опытов по изучению свойств сред из мяса, полученных ферментацией алкалазой, представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Рост тест-штаммов микроорганизмов на средах разного состава в единицах оптической плотности (E 670,5 мм),  $p = \bar{X} \pm Sx$

Наименование питательных сред	Наименование культур						
	<i>St. aureus</i> штамм Лоссманов	<i>Str. pyogenes</i> Dick I	<i>Sh. flexneri</i> 8515	<i>E. coli</i> 675	<i>C. diphtheroides</i> 1911	<i>Str. faecalis</i> 6783	<i>E. rhusiopathiae</i> штамм BP-2
Вариант № 1	0,64±0,018	0,72±0,020	0,69±0,018	0,90±0,028	0,64±0,022	0,64±0,021	0,76±0,020
Вариант № 2	0,40±0,012	0,53±0,016	0,46±0,010	0,56±0,016	0,42±0,010	0,46±0,011	0,35±0,010

Вариант № 3	0,72±0,010	0,78±0,022	0,74±0,012	0,88±0,024	0,66±0,020	0,63±0,021	0,68±0,014
Вариант № 4	0,38±0,016	0,48±0,012	0,42±0,010	0,52±0,016	0,39±0,012	0,40±0,010	0,33±0,012
Вариант № 5	0,40±0,012	0,48±0,010	0,43±0,010	0,54±0,014	0,42±0,014	0,41±0,012	0,36±0,010
Вариант № 6	0,68±0,010	0,75±0,020	0,75±0,018	0,89±0,031	0,63±0,015	0,64±0,010	0,66±0,014
Вариант № 7	0,70±0,015	0,78±0,024	0,76±0,024	0,92±0,030	0,64±0,012	0,62±0,012	0,76±0,019
Вариант № 8	0,69±0,012	0,74±0,020	0,75±0,022	0,89±0,029	0,64±0,015	0,69±0,010	0,75±0,018
Вариант № 9	0,38±0,010	0,52±0,010	0,40±0,010	0,50±0,018	0,39±0,011	0,38±0,012	0,34±0,013
Вариант № 10	0,35±0,016	0,50±0,018	0,30±0,011	0,52±0,014	0,39±0,010	0,38±0,015	0,32±0,010
Бульон Хоттингера	0,42±0,020	0,56±0,022	0,44±0,012	0,58±0,021	0,42±0,014	0,44±0,012	0,36±0,010
Среда по методическим рекомендациям	0,40±0,010	0,12±0,011	0,15±0,010	0,50±0,030	0,12±0,012	0,30±0,01	-

Как видно из таблицы 2, питательные среды, приготовленные по вариантам № 1, № 3, № 6, № 7 и № 8, обеспечивают более эффективный рост тест-штаммов микроорганизмов по сравнению с бульоном Хоттингера.

При изготовлении питательных сред необходимым условием остается рациональное использование сырьевых ресурсов, что создает предпосылки получения более эффективных малоотходных производств и способствует снижению остроты экологических проблем.

Результаты исследований по определению выхода питательных сред с 1 кг мяса представлен в таблице 3.

Таблица 3 – Выход сред, приготовленных разными способами, с 1 кг мяса

Вариант приготовления питательной среды	Выход среды с 1 кг мяса, дм <sup>3</sup>
Вариант № 1	9,0
Вариант № 2	4,0
Вариант № 3	9,2
Вариант № 4	6,4
Вариант № 5	6,6
Вариант № 6	9,1
Вариант № 7	9,0
Вариант № 8	9,2
Бульон Хоттингера	4,8

На основании проведенных исследований нами установлено, что для изготовления протеолитического ферментализата фарш мяса следует смешивать с алкалазой с активностью 2,4 АУ/г в присутствии очищенной воды при соотношении компонентов 5:0,2-0,5:10 в течение 4-24 часов при температуре 45-600С и рН 6,0-7,0. При таких условиях выход сред составил 9,0-9,2 дм<sup>3</sup> с 1 кг мяса (варианты № 1, № 3, № 6, № 7 и № 8). Увеличение или уменьшение в реакционной смеси алкалазы, воды и мяса способствует снижению выхода среды до 4,0-6,8 дм<sup>3</sup> с 1 кг мяса, т.е. в 1,4-2,3 раза (варианты № 2, № 4 и № 5).

Выход бульона Хоттингера из 1 кг мяса составляет 4,8 дм<sup>3</sup>.

**Заключение.** На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Ферментализаты мяса, полученные с помощью алкалазы, обеспечивают более интенсивный рост тест-штаммов, чем бульон Хоттингера.
2. Использование сбалансированных сред в производстве биопрепаратов за счет повышения выхода биомассы эшерихий позволяет снизить расход ее на 39-42%.
3. Повышение выхода готовой среды из мяса позволяет снизить ее себестоимость в 1,8-1,9 раза.
4. Использование предлагаемого метода ферментации мяса алкалазой позволяет снизить отходы производства в 8-9 раз.

**Литература.** 1. Зайцев В.В. и др. Питательная среда для выращивания микроорганизмов и способ ее получения. Патент № 6292, 2004. 2. Короткевич А.С. и др. Питательная среда для выращивания микроорганизмов. – А.с. 1237707 СССР // Открытия. – 1986. – № 22. 3. Методические рекомендации по контролю качества питательных сред для микроорганизмов / А.П. Медведев [и др.] // Справочник по бактериологическим методам исследований в ветеринарии / сост. А.Э. Высоцкий, З.Н. Барановская. – Минск: Белтаможсервис, 2008. – С. 124-134. 4. Руководство к практическим занятиям по ветеринарной микробиологии / Н.И. Смирнова и др.; Под ред. Н.И. Смирновой. – Минск: «Высшая школа», 1977. – С. 46-50. 5. Справочник ветеринарного лаборанта / Ф.З. Андросов, И.Я. Беляев, Р.Т. Ключко и др.; Под ред. В.Я. Антонова. – М.: Колос, 1981. – С. 20-24. 6. Сравнительное изучение фракционного состава ферментативного и кислотного гидролизатов крови, используемых для конструирования микробиологических сред / Н.Л. Шагам, Б.М. Раскин, В.А. Мельников и др. // ЖМЭИ. – 1981. – С. 89-92, С. 8. 7. Ярец М.Я. Разработка технологии производства живых сухих вакцин против пастереллеза птиц, рожи свиней и бруцеллеза животных (экспериментальные исследования и внедрение): Дисс. ... докт. биол. наук. – М., 1990. – С. 224, С. 406.