Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова»

Институт биотехнологии
Кафедра микробиологии и биотехнологии

«ЗЫКИНСКИЕ ЧТЕНИЯ»

Материалы Национальной научно-практической конференции, посвященной памяти доктора медицинских наук, профессора Леонида Федоровича Зыкина



САРАТОВ 2024

УДК 60(08)
ББК 36:48
З96

Редакционная коллегия:
Д-р биол. наук Ларионова О.С., канд. биол. наук Спиряхина Т.В.,
к.с.-х.н. Горшунова С.В.

З96 ЗЫКИНСКИЕ ЧТЕНИЯ: Материалы национальной научно-практической конференции, посвященной памяти докт. мед. наук, профессора Л. Ф. Зыкина [Электронный ресурс] / под редакцией О.С. Ларионовой, Т. В. Спиряхиной, С.В. Горшунова – Саратов: ФГБОУ ВО Вавиловский университет, 2024. – 229 с.

ISBN 978-5-7011-0862-0

УДК 60(08)
ББК 36:48

Ответственность за аутентичность и точность цитат, имен, названий и иных сведений, а также за соблюдение законов Российской Федерации в области интеллектуальной собственности и авторского права, несут авторы публикуемых материалов

Материалы опубликованы в авторской редакции

ISBN 978-5-7011-0862-0 © ФГБОУ ВО Вавиловский университет, 2024

Научная статья
УДК 579.23

Участие флавоноидов в реализации стресс-протекторного действия лектинов азоспирилл на корни проростков пшеницы при гипо- и гипертермии

Светлана Александровна Аленькина
Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН),
Саратов

Аннотация. В статье представлены данные, демонстрирующие способность лектинов азоспирилл воздействовать на резистентность макропартнера в условиях стрессовой нагрузки и позволяющие рассматривать их как перспективные соединения для защиты растений от стресса и повышения их продуктивности. Изучали влияние лектинов эпифитного и эндофитного штаммов азоспирилл на содержание флавоноидов растения-хозяина при действии температурного стресса, что позволяет оценить участие этих белков в стимулировании ответа растительной клетки на воздействие лимитирующих факторов.

Ключевые слова: корни проростков пшеницы, лектины, флавоноиды, температурный стресс

Participation of flavonoids in the implementation of the stress-protective effect of *Azospirillum* lectins on the roots of seedlings wheat for hypo- and hyperthermia

Svetlana A. Alen'kina
Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS)
Saratov

Abstract. The article presents data demonstrating the ability of *Azospirillum* lectins to influence the resistance of a macropartner under stress conditions and allows them to be considered as promising compounds for protecting plants from stress and increasing their productivity. We studied the effect of lectins from epiphytic and endophytic strains of *Azospirillum* on the content of flavonoids in the host plant under the influence of temperature stress, which makes it possible to evaluate the participation of these proteins in stimulating the response of the plant cell to the influence of limiting factors.

Keywords**:** wheat germ roots, lectins, flavonoids, temperature stress

В данное время большое внимание уделяется развитию экологически

устойчивых сельскохозяйственных систем, в которых продуктивность растений обеспечивается использованием их биологических возможностей, при минимальном применении экологически опасных агрохимикатов – минеральных удобрений, пестицидов, регуляторов роста. Повышение устойчивости и адаптации растений к неблагоприятным агроклиматическим условиям и антропогенным воздействиям, являются актуальными для сельского хозяйства. Почвенные микроорганизмы могут оказывать положительные эффекты на рост и питание растений. Изучению роли микроорганизмов в облегчении абиотических стрессов для растений уделяется большое внимание в последние несколько десятилетий. Микробы с их потенциальными внутренними метаболическими и генетическими способностями способствуют нивелированию воздействия абиотических стрессов для растений. Частичное или полное замещение агрохимикатов препаратами симбиотических или ассоциативных микроорганизмов является одним из основных способов достижения цели – создание экологически устойчивых сельскохозяйственных систем [Souza *et al*., 2015; Аленькина *с соавт*., 2019, 2020].

Азоспириллы способны синтезировать биологически активные вещества, которые влияют на развитие растений-хозяев. К таким веществам относятся лектины – гликопротеины, связывающие строго определенные углеводные группы на поверхности клетки-мишени и участвующие в межорганизменной коммуникации. Все лектины, в том числе бактериальные осуществляют «молекулярный диалог», важный для формирования и перестройки метаболизма партнера-симбионта. С поверхности двух отличающихся по способу колонизации растений штаммов азоспирилл - *A. brasilense* Sp7(эпифит) и *A. brasilense* Sp245(эндофит) были изолированы лектины, являющиеся гликопротеинами, характеризующимися различными молекулярными массами и углеводной специфичностью [Alen'kina *et al*., 2014; Shelud'ko *et al*., 2009]. Многолетние исследования свойств и функций лектинов азоспирилл позволили утверждать о их полифункциональности [Alen'kina *et al*., 2006; 2010; 2014; Аленькина *с соавт*., 2022]. Значительный интерес представляют исследования процессов, сопровождающих изменение устойчивости в начальный период влияния на растения неблагоприятных факторов. Считается, что именно в этот период адаптации к неблагоприятным факторам происходят события, во многом определяющие весь последующий ход формирования устойчивости.

Высокая температура (гипертермия) отрицательно влияет на метаболизм растений. При нагревании нарушается четвертичная структура сложных белковых комплексов. Низкая температура также негативно сказывается на метаболизм, существенно снижая продуктивность. Известно, что максимальная температура прорастания для большинства сортов пшеницы равна в среднем 38°С, а оптимальная – в пределах от 20 до 32°С. Температура, находящаяся за пределами этих значений, считается неблагоприятной и отрицательно сказывается на растениях, приводя к снижению урожайности и качества зерна.

Основными компонентами фенольного комплекса растительных клеток являются флавоноиды [Олениченко *с соавт.,* 2006]. Флавоноиды выполняют

разнообразные физиологические функции, многие из которых, по-видимому, прямо или косвенно связаны с их антиоксидантными эффектами. При этом их можно рассматривать в качестве полифункциональных протекторов растительных клеток, поскольку помимо антиоксидантной функции они могут выполнять роль осмопротекторов, связывать тяжелые металлы, экранировать избыточное освещение и, возможно, участвовать в передаче клеточных сигналов. Любой биотический или абиотический стресс (воздействие патогенных грибов, бактерий, вирусов, температурные перепады, механические повреждения, яркий свет, ультрафиолетовое облучение, дисбаланс минеральных компонентов в почве, засуха, засоленность, воздействие озона, гербицидов, солей тяжелых металлов) может привести к интенсификации биосинтеза флавоноидов в различных анатомических частях растения [Khlestkina, 2013].

Цель работы заключалась в сравнительной оценке способности лектинов *A. brasilense* Sp7 и *A. baldaniorum* Sp245 оказывать воздействие на содержание флавоноидов в корнях проростков пшеницы при воздействии смоделированных гипо- и гипертермии.

Исследовали два штамма азотфиксирующих ассоциативных бактерий рода *Azospirillum – A. brasilense* Sp7 и *A. baldaniorum* Sp245 из коллекции микроорганизмов ИБФРМ РАН (http://collection.ibppm.ru). Выделение лектинов с поверхности клеток бактерий проводили как было описано ранее [Alen'kina *et al.*, 2014].

В экспериментах использовали корни четырехдневных проростков семена пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта «Саратовская 29». Они были получены из поверхностно стерилизованных и выращенных в асептических условиях в чашках Петри на дистиллированной воде в темноте при 25ºС. Для изучения влияния стресса, корни в течение двух часов подвергали совместному воздействию лектинов (концентрация 5, 10, 20 и 40 мкг/мл) и температуры +5°С, +42°С. В качестве контроля выступали корни проростков, выращенные при 25°С.

Определение содержания флавоноидов проводили после их извлечения из корней проростков 70 %-ным этанолом [Олениченко с соавт., 2006]. Содержание флавоноидов определяли с 1 %-ным раствором ванилина в 70 %-ной серной кислоте (поглощение при 500 нм) [Gage and Wendei, 1950]. Калибровочные кривые в обоих случаях строили по по эпикатехину. Для сравнительного анализа вариантов содержание определяемых веществ выражали в относительных единицах. За 100 % принимали количество флавоноидов, содержащихся в клетках исходных корней.

Статистическую обработку данных проводили с использованием дисперсионного анализа (ANOVA) с помощью пакета программ «AGROS» для статистического анализа. Объем выборки n=3. Варианты, достоверно различающиеся по критерию Фишера (F-критерию) при $p \leq 0{,}05$, обозначены в таблицах с результатами разными буквами латинского алфавита.

В условиях гипотермии содержание флавоноидов в корнях при действии лектинов превышало таковой контрольного варианта. У лектина *A. brasilense* Sp7 эти изменения проявлялись в большей степени при концентрации 20 мкг/мл (в

1.6 раза), а у *A. baldaniorum* Sp245 – при концентрации 10 мкг/мл (в 1.8 раза) после часового воздействия стрессовой температуры. Присутствие лектинов в среде в случае гипертермии влияло на содержание флавоноидов в корнях проростков аналогичным гипотермии образом. При концентрации лектина *A. brasilense* Sp7 20 мкг/мл и *A. baldaniorum* Sp245 10 мкг/мл содержание изучаемого вещества в корнях увеличивалось (на 50 % и 87 % по сравнению с контролем, соответственно).

Результаты настоящей работы продемонстрировали участие лектинов азоспирилл в повышении способности растений переносить воздействие абиотических факторов, развивая биохимические реакции, направленные на усиление устойчивости растения. Таким образом, полученные принципиально новые данные являются важными для понимания роли лектинов азоспирилл в механизмах регуляции, обеспечивающих поддержание гомеостаза клеток растений при стрессовых воздействиях. В целом наши данные убедительно показывают, что лектины могут выступать не только в качестве стимуляторов роста, но обладают способностью повышать устойчивость пшеницы к повреждающим абиотическим факторам, что в конечном итоге приводит к повышению урожайности. Причем эффект достигается в очень низких, экологически безопасных концентрациях.

Список источников

1. Souza R.D., Ambrosini A., Passaglia L.M.P. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. Genet. Mol. Biol. 2015. Vol. 38. P. 401–419.
2. Аленькина С.А., Федорова А.Г., Никитина В.Е. Влияние лектинов азоспирилл на содержание аскорбата в корнях проростков пшеницы при абиотических стрессах. Аграрные конференции. 2019. В.14(2). С. 1–13.
3. Alen’kina S.A., Nikitina V.E. Effect of *Azospirillum* lectins on the ascorbate peroxidase activity and ascorbic acid content in wheat seedling roots exposed to abiotic stresses. Appl. Biochem. and Microbiol. 2020. Vol. 56. P. 211–218.
4. Alen’kina S.A., Bogatyrev V.A., Matora L.Yu., Sokolova M.K., Chernysheva M.P., Trutneva K.A., Nikitina V.E. Signal effects of the lectin from the associative nitrogen-fixing bacterium *Azospirillum brasilense* Sp7 in bacterial–plant root interactions. Plant Soil. 2014. Vol. 381. P. 337–349.
5. Shelud’ko A.V., Ponomareva E.G., Varshalomidze O.E., Vetchinkina E.P., Katsy E.I., Nikitina V.E. Hemagglutinating activity and motility of the bacterium *Azospirillum brasilense* in the presence of various nitrogen sources. Microbiology 2009. Vol. 78. P. 696–702.
6. Alen’kina S.A., Payusova O.A., Nikitina V.E. Effect of *Azospirillum* lectins on the activities of wheat-root hydrolytic enzymes. Plant Soil. 2006. Vol. 283. P. 147–151.
7. Alen'kina S.A., Matora L.Y., Nikitina V.E. Assessment of the effect of azospirilla lectins on c-AMP level in plant cells. Microbiology. 2010. Vol. 79. P. 853–855.
8. Alen’kina S., Kupryashina M. Influence of *Azospirillum* lectins on the antioxidant system response in wheat seedling roots during abiotic stress. Soil Res. 2022. Vol. 60. P. 197–209.

9. Олениченко Н.А., Загоскина Н.В. Ответная реакция озимой пшеницы на действие низких температур: образование фенольных соединений и активность фенилаланинаммиаклиазы // Прикл. биохимия и микробиология. 2005. Т. 41. С. 600–603.
10.Gage T. B., Wendei S. H. Quantitative Determination of Certain Flavonol-3-glycosides by Paper Partition Chromatography. Analytical Chemistry. 1950. Vol. 22. P. 35–41
11.Khlestkina E.K. The adaptive role of flavonoids: emphasis on cereals // Cereal Res. Commun. 2013. Vol. 41. P. 185–198.

© Аленькина С.А., 2024

Научная статья
УДК 663.1:632.4:634.21 (470.44)

Грибы, входящие в состав микокомплексов побегов абрикоса при их усыхании на территории г. Саратова

Олеся Олеговна Бабичева[1], Лидия Владимировна Карпунина[1], Александра Михайловна Петерсон[2], Александр Михайлович Голубев[3]
[1]Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия
[2]Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, г. Саратов, Россия
[3]Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока, г. Саратов, Россия

Аннотация. Проведён сравнительный анализ микокомплексов здоровых побегов абрикоса и абрикоса с признаками микозного усыхания на территории г. Саратова. С поверхности поражённых побегов абрикоса выделено 6 видов грибов, с поверхности здоровых – 4 вида грибов. Обнаружена высокая встречаемость фитопатогенных грибов родов *Clasterosporium*, *Trichothecium* и *Alternaria.*

Ключевые слова: микозные усыхания, микокомплекс, косточковые культуры, абрикосы, плесневые грибы

Mushrooms that are part of the mycocomplexes of apricot shoots during their drying on the territory of Saratov

O.O. Babicheva[1], L.V. Karpunina[1], A.M. Peterson[2], A.M. Golubev[3]
[1]Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, Saratov, Russia
[2]Saratov National Research State University named after N.G. Chernyshevsky, Saratov, Russia
[3]Federal Agrarian Scientific Center of the South-East, Saratov, Russia

Abstract. A comparative analysis of mycocomplexes of healthy apricot shoots and apricots with signs of mycotic drying out in the city of Saratov has been studied. 6 types of fungi were isolated from the surface of affected apricot shoots, and 4 types of fungi were isolated from the surface of healthy ones. A high occurrence of phytopathogenic fungi of the genera *Clasterosporium*, *Trichothecium* and *Alternaria* was found.

Keywords: mycotic shrinkage, mycocomplex, stone crops, apricots, mold fungi

Введение. Культивирование абрикосов на территории России имеет важное значение. Среди косточковых деревьев, абрикосы отличаются богатым составом макро- и микроэлементов, оказывая положительное влияние на сердечно-

сосудистую и нервную системы организма. Из-за негативного воздействия биотических и антропогенных факторов в агроценозе косточковых культур в южном регионе страны увеличилась вредоносность доминантных заболеваний, вызываемых различными микопатогенами, приводящих к дестабилизации фитосанитарной ситуации плодовых насаждений [1]. По литературным данным, грибы *Cladosporium carpophilum* Thuem. (сумчатая стадия - *Venturia carpophilum* Fisch.) способны вызывать поражения листовых пластинок абрикоса [1]. Большинство косточковых культур поражаются возбудителем млечного блеска - грибом *Chondrosterium purpureum* [2]. Для абрикоса наиболее опасной болезнью является дырчатая пятнистость – клястероспориоз, вызываемая грибом *Clasterosporium carpophilum* (Lev.) Aderh, которая сопровождается растрескиванием и почернением коры деревьев [3]. Известно, что схожие патологии у абрикоса могут вызывать и другие плесневые грибы родов: *Fusarium* и *Rizopus* [4]. Следует отметить, что видовой состав грибов, вызывающих микозные усыхания абрикоса на территории России, полностью не изучен.

В связи с этим, целью данной работы стало изучение грибной микрофлоры на побегах абрикоса при их микозных усыханиях на территории г. Саратова.

Объект и методы исследований. В экспериментах *in vitro* были использованы части побегов абрикоса 3-4-х-летнего возраста 3 сортообразцов: XXV-03-1, Новичок Юго-Востока, 1-42-22 с признаками микозного усыхания и без какой-либо патологии, полученные из коллекции лаборатории молекулярно-генетической селекции плодовых культур, «Федерального аграрного научного центра Юго-Востока». Перед началом эксперимента побеги не стерилизовались, и на них сохранялась их естественная микрофлора. На поверхность голодного агара в чашках Петри помещали фрагменты побегов длиной 2 см. Посевы культивировали при 28 ºС во влажных камерах. Количественный учёт микромицетов проводили на 7, 14, 21 сутки. Выделенные микроорганизмы были отсеяны и получены чистые культуры. Видовую принадлежность грибов устанавливали по морфологическим и культуральным свойствам с помощью определителя грибов [5].

Результаты исследований и их обсуждение. В ходе эксперимента с поверхности поражённых побегов абрикоса были выделены следующие грибы: *Clasterosporium carpophilum, Trichothecium roseum, Alternaria alternata, Fusarium chlanuydosporum*, *F. dimerum, Aspergillus flavipes*. Среди выделенных грибов только представители рода *Clasterosporium* встречались на пораженных побегах абрикоса (Таблица 1) у всех образцов. В 83 % случаев у больных деревьев обнаруживали гриб *Trichothecium roseum*. Грибы рода *Alternaria* встречались на пораженных побегах в 41,6 % случаев. Встречаемость грибов родов: *Aspergillus* и *Fusarium* составила всего 8 %.

Таблица 1 – Встречаемость грибов (%) на побегах абрикоса с признаками микозного усыхания на территории г. Саратова

Таксоны грибов	Сортообразцы деревьев		
	XV-03-1	Новичок Юго-Востока	1-42-22
Alternaria alternata	50	50	25
Aspergillus flavipes	0	25	0
Clasterosporium carpophilum	100	100	100
Fusarium chlanuydosporum	25	0	0
Fusarium dimerum	0	0	25
Trichothecium roseum	75	100	75

С поверхности здоровых побегов абрикоса были выделены следующие грибы: *Alternaria alternata, Aspergillus flavus*, *Rizopus arrhizus* и *Trichothecium roseum*. Встречаемость представителей рода *Alternaria* на здоровых побегах абрикоса составила 91,6 % (Таблица 2). Грибы рода *Rizopus* встречались на здоровых побегах в 33 % случаев. А встречаемость грибов *Trichothecium roseum* и *Aspergillus flavus* составила 25 и 16,6 %, соответственно.

Таблица 2 – Встречаемость грибов (%) на побегах абрикоса без признаков микозного усыхания на территории г. Саратова

Таксоны грибов	Сортообразцы деревьев		
	XV-03-1	Новичок Юго-Востока	1-42-22
Alternaria alternata	100	100	75
Aspergillus flavus	50	0	0
Rizopus arrhizus	0	50	50
Trichothecium roseum	0	0	75

Заключение. Таким образом, показано, что на побегах абрикоса с признаками микозного усыхания встречаемость фитопатогенных грибов выше, чем на здоровых. Гриб *R. arrhizus* был выделен с поверхности здоровых побегов у двух сортообразцов из трёх изученных, но на поражённых образцах отсутствовал. По литературным сведениям, штамм данного вида *Rhizopus arrhizus* Fischer-67 обладает антагонистическим действием в отношении возбудителей грибковых и бактериальных инфекций растений [6]. В работе [7] было показано, что из грибов *R. arrizus* получен хитозан, который эффективен в отношении бактерий: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* и *Yersinia enterocolitica*. Роль этого плесневого гриба в развитии микозных усыханий абрикосов требует дальнейшего изучения.

Список источников

1. Мищенко, И. Г. Фитосанитарная ситуация в патоценозе косточковых культур южного региона России / И. Г. Мищенко // Защита растений от вредных организмов, Краснодар, 21–25 июня 2021 года: Материалы X международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию Кубанского государственного аграрного университета. – Краснодар: Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2021. – С. 247-249.

2. Головин, С. Е. Влияние аномальных погодных условий 2013 года на развитие микозного усыхания косточковых культур / С. Е. Головин // Селекция и сорторазведение садовых культур: Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 170-летию ВНИИСПК, Орёл, 02–05 июня 2015 года / Редколлегия: Князев С.Д., Грюнер Л.А., Красова Н.Г., Леоничева Е.В., Макаркина М.А., Седышева Г.А., Синицына Е.Г.. Том 2. – Орёл: Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур, 2015. – С. 34-37.

3. Ноздрачева, Р. Г. Селекция абрикоса на устойчивость к болезням / Р. Г. Ноздрачева, Е. А. Мелькумова // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. – 2013. – № 2(37). – С. 152-161.

4. Стародуб, А. А. Особенности микробных ассоциаций поверхности скелетных частей абрикосов при микозных усыханиях на территории Саратовской области / А. А. Стародуб, А. М. Петерсон // Евразийский союз ученых. – 2019. – № 5-2(62). – С. 12-16.

5. Саттон, Д. Определитель патогенных и условно патогенных грибов / Д. Саттон, А. Фотергилл, М. Ринальди // Пер. с англ. К. Л. Тарасова, Ю. Н. Ковалева; Под ред. И. Р. Дорожковой. – М.: Мир, 2001. – 468 с.

6. Патент № 2650777 C1 Российская Федерация, МПК C12N 1/20, A01N 63/00, C12R 1/845. Биопрепарат микробного происхождения, обладающий антагонистическим действием в отношении возбудителей грибковых и бактериальных инфекций растений, питательная среда для его получения и способ обработки растений / Н. М. Сущевская, В. С. Качурина, М. А. Серова, С. А. Качурин, № 2017135569; заявл. 05.10.2017; опубл. 17.04.2018.

7. Green Conversion of Agroindustrial Wastes into Chitin and Chitosan by *Rhizopus arrhizus* and *Cunninghamella elegans* Strains / L.R.R. Berger, T.C.M. Stamford, T.M. Stamford-Arnaud [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2014. – № 15(5). – P. 9082-9102.

© Бабичева О. О., Карпунина Л. В., Петерсон А. М., Голубев А. М., 2024

Научная статья
УДК 619:615.37:636.7

Комплексные вакцины для собак отечественного производства

Кристина Сергеевна Баслакова, Полина Максимовна Густова, Юлия Викторовна Степанова, Ирина Михайловна Семенова, Константин Александрович Иванищев
Рязанский государственный агротехнологический университет имени П.А.Костычева, г. Рязань

Аннотация. В данной статье рассмотрены комплексные вакцины для собак отечественного производства, а также дано краткое описание самых распространённых вирусных инфекций, встречающихся в нашей стране и за рубежом среди домашних любимцев.
Ключевые слова: вирус, вакцина, вакцинация, вирусные инфекции, бешенство, чума собак, парвовирус, аденовирусная инфекция, лептоспироз, парагрипп, коронавирусный энтерит

Complex vaccines for dogs of domestic production

Kristina' S. Baslakova, Polina' M. Gustova, Julia' V. Stepanova, Irina' M. Semenova, **Konstantin' A. Ivanichev**
Ryazan State Agrotechnological University named after P.A.Kostychev, Ryazan

Abstract. This article reviews complex vaccines for dogs of domestic production, and gives a brief description of the most common viral infections occurring in our country and abroad among pets.
Key words: virus, vaccine, vaccination, canine viral infections, rabies, canine distemper, canine parvovirus, canine adenovirus infection, leptospirosis, canine parainfluenza, canine coronavirus enteritis

В наши дни вирусы окружают нас по всюду и с каждым днём специалисты, работающие в разных отраслях всё больше и больше проявляют интерес к ним. Вирусы являются самыми мельчайшими из всех известных ныне науке микроорганизмами, они стоят на границе между живым и неживым. Эти инфекционные частицы относятся к облигатным внутриклеточным паразитам, поэтому они не способны к проявлению каких – либо признаков вне клеток живых существ. Одними из самых главных возбудителей большинства заразных заболеваний на протяжении уже многих лет являются именно вирусы. Поэтому одной из ветвей биотехнологии, которая интенсивно развивается в наши дни, является создание противовирусных вакцин.

Отечественные производители активно создают разные вакцины для сельскохозяйственных и домашних животных. Для профилактики ветеринарные

врачи рекомендуют проводить ежегодную вакцинацию. Такая процедура обеспечивает формирование активного иммунитета, направленного против определённого инфекционного агента или вырабатываемых им экзотоксинов, а также создание специфической невосприимчивости к инфекционным болезням у различных живых существ. Она осуществляется за счёт введения в организм антиген – специфичных компонентов.

Базовыми вакцинами для собак в России являются чума собак или плотоядных, парвовирус собак, аденовирусная инфекция собак, так же законодательство и эпидемиологическая ситуация обязывают вакцинировать наших хвостатых друзей от бешенства, для отдельных регионов и ситуаций стоит так же рассматривать лептоспироз. Необязательными являются парагрипп собак, коронавирусный энтерит собак.

Чума собак или плотоядных (Canine Distemper virus или CDV, Canine Morbillivirus) – заболевание, вызываемое вирусами, и протекающее в острой форме течения болезни. Характеризуется такими явлениями, как повышение температуры тела, воспаление и повреждение слизистых оболочек, а так же пневмония, кожная экзантема и нарушения в работе нервной системы, связанные с её повреждением. В данный момент времени чума собак встречается практически на всём Земном шаре.

Парвовирусный энтерит собак (Canine Parvovirus type 2 или CPV - 2, Canine Parvovirus type 1 или CPV - 1, Canine Minute Virus) – высоко контагиозное и остропротекающее заболевание, возбудителем которого являются вирусы. Их действие направленно преимущественно на желудочно – кишечный тракт.

Аденовирусная инфекция собак или инфекционный гепатит собак (Adenovirus canine type 1 или CAV – 1, Adenovirus canine type 2 или CAV – 2) – заболевание собак, протекающее в острой форме и передающееся посредством непосредственного контакта, а также через факторы передачи. Из клинических признаков выражены лихорадка, воспалительные процессы дыхательной системы и желудочно – кишечного тракта. Нарушаются функции печени и центральной нервной системы. Болезнь распространена и случаи заражения регистрируют практически в каждом государстве.

Бешенство (Rabies virus) – острое инфекционное вирусное заболевание многих видов животных и человека. Наиболее характерным признаком является нарушение нормальной деятельности центральной нервной системы.

Лептоспироз, инфекционная желтуха, болезнь Вейля, «штутгарская болезнь», геморрагический энтерит, эпизоотическая желтуха, тиф (вызывается патогенными серогруппами спирохет – Leptospira Icterohaemorrhagiae, Leptospira Canicola, Leptospira Grippotyphosa) – остропротекающая болезнь собак, кошек, иногда заражается человек. Проявляется непродолжительной гипертермией, геморрагическим гастроэнтеритом, образованием язв в ротовой полости, иногда желтухой и закономерным поражением центральной нервной системы, связанным с интоксикацией организма.

Парагрипп собак (Canine parainfluenza virus – кратко CPIV) - высококонтагиозное инфекционное опасное респираторное заболевание, при

котором поражаются органы дыхательной системы животных. Часто осложняется секундарной инфекцией или сопровождает течение других респираторных заболеваний.

Коронавирусный гастроэнтерит собак (Canine Enteric Coronavirus – кратко CCoV) – достаточно часто встречающееся и распространенное и вирусное инфекционное заболевание, которое представляет огромную угрозу здоровью и жизни пушистых любимцев. Наиболее подвержены к возникновению болезни молодые животные. Патологические процессы возникают в желудочно-кишечном тракте или верхних дыхательных путях.

На сегодняшний день в нашей стране возник дефицит импортных ветеринарных вакцин, а некоторые иностранные поставщики сделали заявления о прекращении поставок препаратов для профилактики вирусных инфекций в Россию. Однако, это не значит, что теперь наши домашние любимцы останутся без защиты от опасных болезней. Для проведения сезонной вакцинации от всех вышеперечисленных болезней собак имеется широкий ряд вакцин, которые представлены на рынке и официально зарегистрированы.

В данной статье будут рассмотрены 2 комплексные вакцины, разработанные отечественными производителями – АСТЕРИОН DHPPiLR и Мультикан – 8. Так как они наиболее распространены и чаще всего используются для иммунизации. Они достаточно хорошо зарекомендовали себя среди ветеринарных врачей и владельцев собак.

АСТЕРИОН DHPPiLR – вакцина, предназначенная для профилактики таких инфекционных заболеваний собак, как чума, аденовирусная инфекция, парвовирусный энтерит, парагрипп, лептоспироз и бешенство. Состоит из 2 – х компонентов. Сухой компонент (АСТЕРИОН DHPPi) – твёрдая лекарственная форма в виде порошка для приготовления суспензии для инъекций. Получают путём лиофилизации ослабленных производственных штаммов соответствующих вирусов. Относится к живым вакцинам. Жидкий компонент (АСТЕРИОН LR) – суспензия для инъекций, в состав которой входят убитые производственные штаммы лептоспир 3 – х серогрупп и вируса бешенства. Гидроокись алюминия используется как адъювант. Относится к инактивированным вакцинам.

Формирование иммунного ответа происходит через 14 – 21 дней после иммунизации, который сохраняется в течении 6 – 8 месяцев у щенков и 12 – 15 месяцев у взрослых собак. Вакцина является безвредной и ареактогенной, никакими лечебными свойствами обладать не может. Категорически запрещается вакцинировать животных с явными клиническими признаками заболевания. Не подлежат вакцинации беременные суки на последнем месяце и в 1 – ый месяц после родов, щенки не достигшие 9 – недельного возраста. Для вакцинации выбирают внутримышечную инъекцию в заднюю поверхность бедра или подкожную инъекцию в область холки, в зависимости от благополучности района по инфекционным болезням собак.

Срок годности вакцины составляет 18 месяцев от даты выпуска при условии, что хранение и транспортировка препарата происходили при температурном

режиме от 2 до 8 °С. Отпуск в продажу может быть осуществлён без рецепта от ветеринарного врача.



Рисунок 1. АСТЕРИОН DHPPiLR

Мультикан 8 – вакцина, с помощью которой можно профилактировать CCoV, CAV, CPV, CDV, лептоспироз, бешенство. Лекарственная форма представлена 2 – мя компонентами: сухим и жидким. 1 – ый из них производят из аттенуированных производственных штаммов вирусов – живая вакцина. 2 – ой из них представляет из себя суспензию для инъекций, приготовленную из производственных инактивированных штаммов лептоспир 3 – х серогрупп и вируса бешенства с адъювантом – инактивированная вакцина.

Иммунный ответ появляется через 14 – 21 дней с момента иммунизации и сохраняется в активном состоянии у молодых животных в течении 6 – 8 месяцев, у взрослых от 12 до 15 месяцев. Вакцина не несёт никакого вреда, а также не обладает свойством вызывать при введении в организм животного каких – либо побочных эффектов, например таких, как гипертермия, отёчность. Лечебные свойства у вакцины отсутствуют. Запрещено вакцинировать животных у которых при клиническом осмотре были обнаружены нарушения, а так же тех, которые являются ослабленными. Собаки в последний месяц беременности и в 1 – ый месяц после щенности, щенки до 8 – недельного возраста не подлежат вакцинации. Инъекцию осуществляют посредством внутримышечного введения препарата в заднюю поверхность бедра.

Срок годности вакцины составляет 18 месяцев от даты выпуска при условии, что были соблюдены условия хранения (температурный режим от 2 до 8 °С) и транспортировки. Отпуск в продажу может быть осуществлён без рецепта от ветеринарного врача.



Рисунок 2. Мультикан – 8

Следует помнить, что при проведении вакцинации любым из вышеперечисленных препаратов следует соблюдать правила личной гигиены и асептики, а также техники безопасности. Флаконы с вакцинами, которые не имеют маркировки, повредились, изменили внешний вид, не были использованы после вскрытия и растворения, с истёкшим сроком годности выбраковывают и обезвреживают кипячением и производят утилизацию.

В заключении отметим, что вакцинация животных вакцинами, разработанными и выпущенными в Российской Федерации, позволяет значительно снизить восприимчивость собак к инфекционным заболеваниям, которые в некоторых случаях могут привести даже к гибели питомца.

Список источников

1. Авилов, Ч. К. Справочник ветеринарного врача: справочник / Авилов Ч. К., Алтухов Н. М., Бойко В. Д. – Москва: КолосС, 2013. - 736 с.

2. Куркина, О. Д. Бешенство – пуля, которая никогда не подводит / О. Д. Куркина, Е. А. Вологжанина // Актуальные вопросы ветеринарной медицины, зоотехнии и биотехнологии: Материалы Всероссийской научно-практической конференции, Рязань, 14 июня 2023 года. – Рязань: Рязанский государственный агротехнологический университет им. П.А. Костычева, 2023. – С. 114-119.

3. Митрофанова, С. Бешенство. Нужна ли вакцинация? / С. Митрофанова, И. А. Кондакова // Сборник научных трудов профессорско-преподавательского состава Рязанского государственного агротехнологического университета им. П.А. Костычева: Материалы научно-практической конференции 2007 г., Рязань, 01 января – 31 2007 года / Министерство сельского хозяйства РФ; ФГОУ ВПО "Рязанский государственный агротехнологический университет имени профессора П.А. Костычева". – Рязань: Рязанский государственный агротехнологический университет им. П.А. Костычева, 2007. – С. 193-197.

4. Пыркова, Д. А. Обзор современных вакцин для мелких домашних животных/ Д. А. Пыркова, А. В. Ситчихина // Теоретические и практические аспекты инновационных достижений молодых ученых в животноводстве, ветеринарной медицине и экологии: Материалы Всероссийской студенческой научно-практической конференции, Рязань, 08 ноября 2023 года. – Рязань: Рязанский государственный агротехнологический университет им. П.А. Костычева, 2023. – С. 309-314.

5. Журавель, Н. А. Сравнительная оценка лечебных и профилактических мероприятий при чуме собак / Н. А. Журавель, А. А. Суриков // Перспективные направления научных исследований молодых ученых и специалистов Урала и Сибири: Материалы VI научно-практической конференции, Троицк, 01 января – 31 2002 года / Министерство сельского хозяйства российской Федерации, Департамент кадровой политики и образования, Уральская государственная академия ветеринарной медицины. – Троицк: Уральская государственная академия ветеринарной медицины, 2002. – С. 37-38.

© Баслакова К.С., Густова П.М., Степанова Ю.В., Семенова И.М., Иванищев К.А., 2024

Научная статья
УДК 60-7

Перспективы использования биотехнологий в переработке молока

Камила Равшановна Бахтеева, Евгений Андреевич Калиничев
Пензенский государственный аграрный университет
г. Пенза

Аннотация. В настоящее время применение биотехнологий в пищевой промышленности становится более актуальным ввиду нарастающих перспектив. Одним из наиболее популярных направлений использования биотехнологических процессов выступает переработка молока.

Ключевые слова: биотехнология, ферментация, молочные продукты, бифидобактерии

Prospects for the use of biotechnology in milk processing

Kamila R. Bakhteeva, Evgeniy A. Kalinichev
Penza State Agrarian University, Penza

Abstract. Currently, the use of biotechnology in the food industry is becoming more relevant due to growing prospects. One of the most popular areas for the use of biotechnological processes is milk processing.

Key words: biotechnology, fermentation, dairy products, bifidobacteria

Молоко – один из важнейших продуктов питания. Молочную промышленность заслуженно можно назвать одной из самых важнейших, поскольку она занимает ответственное место в развитие экономики страны. В последнее время наблюдается интенсивный спрос на молочную продукцию, что связано с большим ростом населения и с изменением предпочтений. Пищевые продукты из молока представляют собой важный источник витаминов, белка, кальция.

Наблюдается расширенный спектр возможностей усовершенствования средств переработки сырья в готовые продукты и рост качества выпускаемой продукции ввиду использования биотехнологии. Сюда относятся натуральные красители и ароматизаторы; новые технологические добавки; эмульгаторы и ферменты; инновационные методы для сохранения безопасности продуктов в процессе их изготовления [1-3].

Пищевая биотехнология – наука об использовании микроорганизмов и других бактерий для производства и сертификации, в частности, молочнокислых продуктов питания, основанная на знаниях микробиологии, генетики и генной инженерии.

Молоко является уникальной субстанцией, используемой в исследованиях в области биотехнологии, поскольку в силу своего состава предоставляет питательную среду для развития микроорганизмов. Например, стрептококки и молочнокислые бактерии участвуют в сквашивание молока.

Технологические процессы производства молочных продуктов разделяются на две составляющие:

1) Первичная переработка – уничтожение побочной микрофлоры.

2) Вторичная переработка: с использованием микроорганизмов и ферментов выпускают, к примеру, кефир, творог, простокваши, сыры, с применением ферментов – сухую молочную смесь для коктейлей, мороженного и т.д.

В большинстве случаев при производстве молочных продуктов используются бифидобактерии. Бифидобактерии улучшают белковый и минеральный обмен веществ, они препятствуют проникновению возбудителей кишечных инфекций в слизистую оболочку. Именно эти свойства делают употребление молочнокислых продуктов полезным. Полученный продукт может иметь определенные вкусовые качества в зависимости от вида бактерий, воспроизводящих этот процесс.

Выделяют два вида молочнокислого брожения:

1) Гомоферментативное молочнокислое брожение – молочный сахар преобразуется только в молочную кислоту.

2) Гетероферментативное молочнокислое брожение – помимо молочной кислоты образуются и другие продукты: летучие кислоты, эфиры и спирты.

Закваски, в свою очередь, представляют собой концентрат различных микроорганизмов, грибков и бактерий. Они запускают процессы ферментации при добавлении молока, и в процессе сквашивания получаются кисломолочные продукты (сметана, кефир, ряженка и так далее).

Применяемые для изготовления вышеупомянутых продуктов закваски можно получить двумя методами:

1) Традиционный метод заключается в том, что небольшое количество готового продукта хранится отдельно, а затем добавляется в новую партию приготовленного свежего молока для сквашивания.

Этот метод популярен на небольших предприятиях, среди предпринимателей, фермеров, и даже в домашнем сквашивании.

При современном технологическом варианте производства в каждую новую партию молока для сквашивания добавляется сухая смесь бактерий и микроорганизмов, изготовленная промышленным путём. Это способствует получению более однородных партий продуктов, с предсказуемыми показателями качества, одинаковой структурой и меньшим количеством дефектов. В основном используется крупными промышленными предприятиями с наибольшими объёмами производства.

С помощью генной инженерии и ферментации различных компонентов молока можно получать продукты с высоким содержанием полезных веществ, таких как пробиотики, антиоксиданты и витамины.

Это не только повышает питательную ценность продуктов, но и, помимо этого, помогает укрепить иммунитет и сохранить здоровье. Благодаря биотехнологии возможно создавать новые вкусы и текстуры молочных продуктов, расширяя ассортимент и удовлетворяя потребности самых разных потребителей.

Также биотехнологические процессы возможно использовать для уменьшения или устранения каких-либо аллергенов, которые содержатся в молоке, в результате чего молочная продукция становится более доступной для населения с различными ограничениями в питании. Часть населения страдает непереносимостью лактозы – состояние, при котором организму трудно переваривать молочные продукты.

При помощи биотехнологии в молоко добавляется фермент лактаза, который расщепляет лактозу на более усвояемые компоненты. Этот способ делает молоко наиболее безопасным для употребления населению с непереносимостью лактозы, а также сохраняет полезные свойства молока.

В дальнейшем перспективы использования биотехнологий в переработке молока будут только возрастать. Одним из ведущих направлений развития биотехнологий в области переработки молока представляется создание функциональных продуктов, благотворно влияющих на здоровье человека.

Исходя из этого, можно сделать вывод, что перспективы использования биотехнологий имеют большой потенциал для улучшения качества продукции, увеличения ассортимента продукции. Также развитие данного направления будет способствовать созданию инновационных продуктов, отвечающих актуальному спросу и помогающие удовлетворению потребностей рынка и потребителей.

Список источников

1. Калиничев, Е. А. Анализ технологии хранения и перспективы использования современных танков для охлаждения молока / Е. А. Калиничев, Л. А. Малкина // Научно-образовательные и прикладные аспекты производства и переработки сельскохозяйственной продукции : Сборник материалов V Международной научно-практической конференции, Чебоксары, 15 ноября 2021 года. – Чебоксары: Чувашский государственный аграрный университет, 2021. – С. 315-320. – EDN WTFOKO.

2. Калиничев, Е. А. Инновационые подходы в хранении молока / Е. А. Калиничев, К. А. Мещеринов // Передовые достижения науки в молочной отрасли : Сборник научных трудов по результатам работы V Международной научно- практической конференции, Вологда-Молочное, 26 октября 2023 года. Том 1. – Вологда-Молочное: Вологодская государственная молочнохозяйственная академия им. Н.В. Верещагина, 2023. – С. 67-70. – EDN DJHRJG.

3. Калиничев, Е. А. Современные способы увеличения молочной продуктивности крупного рогатого скота / Е. А. Калиничев, К. С. Першикова // Инновационные идеи молодых исследователей для агропромышленного

комплекса: Сборник материалов Международной научно-практической конференции, Пенза, 24–25 марта 2022 года. Том II. – Пенза: Пензенский государственный аграрный университет, 2022. – С. 231-234. – EDN BPINHG.

© Бахтеева К.Р., Калиничев Е.А., 2024

Научная статья
УДК 579.61

Сравнительный анализ физико-химических показателей качества гидролизата из эритроцитарной массы и традиционных основ питательных сред

Владимир Александрович Бенцлер[1,2], Константин Игирович Холматов[1], Марина Владимировна Антонычева[1], Наталия Ивановна Вахрушина[1], Светлана Васильевна Астафьева[1], Татьяна Владиславовна Спиряхина[2]
1- Федеральное казенное учреждение науки Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов
2- Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова», г. Саратов

Аннотация. В настоящей работе представлен сравнительный анализ физико-химических показателей качества гидролизата эритроцитарной массы, полученного из отхода производства гетерологичного антирабического иммуноглобулина, с традиционно применямыми гидролизатами (гидролизат мяса КРС по Хоттингеру, панкреатический гидролизат казеина, ферментативный гидролизат фибрина). Сравнительный анализ показал, что физико-химические показатели качества гидролизата эритроцитарной массы не уступают, а в некоторых показателях превосходят, традиционные гидролизаты.
Ключевые слова: основы питательных сред, гидролизат, эритроцитарная масса, физико-химические показатели качества, отходы производства

Comparative analysis of physicochemical indicators of the quality of hydrolyzate from erythrocyte mass and traditional foundations of nutrient media

Vladimir Alexandrovich Bentsler[1,2], Konstantin Igirovich Kholmatov[1], Marina Vladimirovna Antonycheva[1], Natalia Ivanovna Vakhrushina[1], Svetlana Vasilyevna Astafieva[1], Tatiana Vladislavovna Spiryakhina[2]
1- Federal State Institution of Science Russian Scientific Research Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, Saratov
2- Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov", Saratov

Abstract. This paper presents a comparative analysis of the physico-chemical quality indicators of erythrocyte hydrolysate obtained from the waste of the production of heterologous anti-rabies immunoglobulin with traditionally used hydrolysates

(Hottinger cattle meat hydrolysate, pancreatic casein hydrolysate, enzymatic fibrin hydrolysate). Comparative analysis has shown that the physico-chemical quality indicators of erythrocyte hydrolysate are not inferior to, and in some respects superior to, traditional hydrolysates.

Key words: basics of nutrient media, hydrolysate, erythrocyte mass, physical and chemical quality indicators, production waste

В производстве бактериологических питательных сред в качестве основы выступают продукты различной степени расщепления белка – гидролизаты, имеющие отличия по пептидным и аминокислотным показателям качества. Для производства гидролизатов, используемых в бактериологических питательных средах, применяют разные виды белкового сырья (продукты животного происхождения, растительное сырье, биомасса микроорганизмов) [3,8-9]. Для оценки качества и стандартизации гидролизатов применяют физико-химические и биологические методы контроля [1,2].

В ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора ранее была разработана технология производства гидролизата эритроцитарной массы (ГЭМ) из отхода производства гетерологичного антирабического иммуноглобулина. Проведена апробация бактериологичеких питательных сред на его основе по биологическим показателям при культивировании штамма *F. tularensis 15* НИИЭГ и тест-штамма *V. cholerae O1 M-878* биовара Эльтор, которые подтвердили эффективность разработанных питательных сред [4,6]. Однако в работах не приведены данные физико-химических показателей качества ГЭМ.

В связи с вышесказанным была обозначена цель работы: изучить физико-химические показатели качества гидролизата из эритроцитарной массы в соответствии с нормативной документацией (НД) и сравнить полученные данные с традиционными белковыми гидролизатами, используемыми для приготовления бактериологических питательных сред.

В работе использовали экспериментальный ГЭМ, произведенный по ранее описанному способу [6], который сравнивали по физико-химическим показателям качества с традиционными панкреатическими гидролизатами [5]: гидролизат мяса КРС (по Хоттингеру), панкреатический гидролизат казеина и гидролизат фибрина.

В исследовании физико-химических показателей качества ГЭМ прозрачность и цветность определяли визуально в проходящем свете. Определение общего азота и полипептидов проводили на колориметре фотоэлектрическом концентрационном (КФК-2, Россия). Аминный азот определяли потенциометрическим методом (pH-метр pH-150M, Беларусь), для определения сухого остатка использовали электрический колбонагреватель (LOIP LH-250, Эстония), сухожаровой шкаф (Binder FED 400 RS 422 c, Германия) и весы лабораторные электронные (Adventurer Pro RV313, Швейцария).

Статистическую обработку результатов исследования проводили путем вычисления средней арифметической (M) и стандартной ошибки средней арифметической (m), используя t-критерий Стьюдента. При оценке достоверности различий, сравниваемых данных за уровень значимости принимали $p < 0,05$.

Контроль физико-химических показателей качества питательных основ и сред на этапе приготовления является важным в комплексе контрольных мероприятий, так как в производстве гидролизатов различные серии могут отличаться по своей питательной ценности и другим характеристикам [7,9]. В связи с чем, гидролизаты для бактериологических питательных сред и питательные среды на их основе должны подвергаться контролю по физико-химическим и биологическим показателям качества в соответствии с НД [1,2].

Полученные результаты изучения физико-химических показателей качества ГЭМ и традиционных панкреатических гидролизатов, применяемых в качестве основы для бактериологических питательных сред представлены в таблице 1.

Таблица 1 – (Сравнительный анализ физико-химических показателей качества ГЭМ и традиционно используемых гидролизатов)

Показатель	Значение показателя МУК 4.2.2316-08 [2]	ГЭМ (n=3)	Гидролизат фибрина [5]	Гидролизат казеина [5]	Гидролизат мяса КРС (по Хоттингеру) [5]
Прозрачность, цветность	Прозрачная темно-коричневая жидкость (возможен белый осадок тирозина)	Прозрачная жидкость, темно-коричневого цвета	Прозрачная жидкость, коричневого цвета	Прозрачная жидкость, коричневого цвета	Прозрачная жидкость, темно-коричневого цвета
Сухой остаток, %	Не нормируется	11,00±0,91	7,06±0,56	10,27±0,62	8,05±0,99
Общий азот, %	Не менее 1,20	1,66±0,11	1,10±0,17	1,43±0,11	1,16±0,12
Аминный азот, %	Не менее 0,7	1,2±0,09	0,60±0,10	0,93±0,11	0,72±0,08
Пептиды, %	Не менее 2,0	2,45±0,61	1,84±0,12	2,51±0,11	2,49±0,93

Степень расщепления белка, %	Не нормируется	70,2±3,12	56,0±4,02	64,13±2,15	61,83±3,17

Показатели прозрачности и цветности в значительной степени определяют достоверность визуальных наблюдений стерильности, наличием или отсутствием роста микрофлоры исследуемых микроорганизмов [7], отсутствие взвешенных частиц и примесей. Сухой остаток указывает на концентрацию питательных веществ. Показатель общего азота определяет общее содержание азота во всех формах, включая аминокислоты, полипептиды и другие азотсодержащие соединения. Содержание аминного азота означает содержание азота, присутствующего в аминокислотах и свободных аминах, и в совокупности со степенью расщепления белка являются основными показателями питательной ценности гидролизата [3]. Изученные нами показатели качества ГЭМ (прозрачность, цветность, сухой остаток, общий азот, аминный азот, пептиды, степень расщепления белка) соответствуют ГОСТ 29311-1992 и МУК 4.2.2316-08 [1,2], свидетельствуют о глубокой степени гидролиза эритроцитарной массы и достаточно высоком содержании в основе аминокислот и других азотистых оснований.

Физико-химические показатели качества ГЭМ подтверждают соответствие экспериментальной основы бактериологических сред, полученной из отхода производства гетерологичного антирабического иммуноглобулина, требованиям НД [1,2]. Экспериментальный ГЭМ не уступает традиционным панкреатическим гидролизатам, а по некоторым показателям превосходит (сухой остаток, аминный азот, степень расщепления белка).

ГЭМ в составе питательных сред обеспечивает типичный рост микроорганизмов [4,6], что предполагает возможность его использования при культивировании других микроорганизмов.

Список источников

1. ГОСТ 29311-1992 «Гидролизаты панкреатические для бактериальных питательных сред. Общие технические условия». Введ.1993-01-01. М.: Изд-во стандартов, 1992. 12 с.

2. МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред». М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008. 67 с.

3. Дятлов, И.А. Питательные среды для выделения, культивирования и идентификации возбудителей особо опасных инфекций бактериальной природы / И.А. Дятлов, В.В. Кутырев, М.В. Храмов. М.: ООО «ТиРу», 2012. 415 с.

4. Использование гидролизата из эритроцитарной массы в качестве основы питательных сред для культивирования холерного вибриона / В.А. Бенцлер, К.И. Холматов, Н.И. Вахрушина, В.В. Рогожин // Материалы Национальной научно-практической конференции, посвященной памяти доктора медицинских наук, профессора Леонида Федоровича Зыкина. Саратов, 2023. С. 28-31.

5. Пат. 2425866 Российская федерация, МПК C12N 1/20, C12R 1/63. Питательная среда для глубинного культивирования холерного вибриона / М.В. Антонычева; Саратов. РосНИПЧИ "Микроб". № 2010121691/10; заявл. 27.05.2010; опубл. 10.08.2011, Бюл. №22.

6. Получение основы микробиологических питательных сред из отхода производства профилактических препаратов с опытом применения для культивирования Francisella tularensis / К.И. Холматов, Н.Г. Авдеева, Ю.И. Самохвалова, Н.И. Вахрушина и др. // Зыкинские чтения: материалы Национальной научно-практической конференции, посвященной памяти доктора медицинских наук, профессора Леонида Федоровича Зыкина. Саратов, 2021. С. 272-276.

7. Поляк, М.С. Питательные среды для медицинской микробиологии / М.С. Поляк, В.И. Сухаревич, М.Э. Сухаревич. Санкт-Петербург: Книга издана при содействии Научно-исследовательского центра фармакотерапии (НИЦФ), 2002 г. 80 с.

8. Разработка питательных сред из растительного сырья для культивирования возбудителей особо опасных инфекций / А.А. Курилова, Т.В. Таран, Л.С. Катунина, С.И. Головнева // Проблемы особо опасных инфекций. Ставрополь, 2009. С. 66-68.

9. Телишевская Л.Я. Белковые гидролизаты. М.: Аграрная наука, 2000. 295 с.

© Бенцлер В.А., Холматов К.И., Вахрушина Н.И., Антонычева М.В., Астафьева С.В., Спиряхина Т.В., 2024

Научная статья
УДК 60-7

Перспективы использования биотехнологий в мясоперерабатывающей промышленности

Михаил Петрович Быченков, Евгений Андреевич Калиничев,
Пензенский государственный аграрный университет
г. Пенза

Аннотация. В настоящее время решение проблемы мясной промышленности, обусловленное ростом спроса на мясные продукты и сопутствующими экологическими проблемами, является важной задачей. Основное внимание уделяется использованию биотехнологий в решении данной проблемы, включая перспективы создания искусственного мяса и применение пробиотиков и биоконсервантов в производстве кормов для животных. Изучается возможность разработки новых типов биореакторов для культивации клеток и улучшения качества и безопасности кормов. В статье описывается роль пробиотиков и биоконсервантов в улучшении здоровья животных, повышении производственных показателей и снижении экологического воздействия мясной промышленности.

Ключевые слова: переработка мяса, биотехнологии, нанотехнологии, мясо

Prospects for the use of biotechnologies in meat processing industry

Mikhail P. Bychenkov, Evgeniy A. Kalinichev
Penza State Agrarian University, Penza

Abstract. Currently, solving the problem of the meat industry, due to the growing demand for meat products and associated environmental problems, is an important task. The main attention is paid to the use of biotechnology in solving this problem, including the prospects for creating artificial meat and the use of probiotics and biopreservatives in the production of animal feed. The possibility of developing new types of bioreactors for cell cultivation and improving the quality and safety of feed is being studied. This article describes the role of probiotics and biopreservatives in improving animal health, increasing production performance and reducing the environmental impact of the meat industry.

Key words: meat processing, biotechnology, nanotechnology, meat

В настоящее время активно растет спрос на мясо и мясные продукты. Данный рост обусловлен увеличением численности населения, по прогнозам ФАО до 9,7 миллиарда людей к 2050 году, а также ввиду улучшения благосостояния людей

в развивающихся странах на фоне популярности западной культуры питания, где мясо является одним из основных продуктов.

Существуют факторы, не позволяющие мясоперерабатывающей промышленности успешно функционировать. Так расширение пастбищ и земель для кормов истощает ресурсы, что впоследствии приводит к обезлесиванию и деградации почв. Данная промышленность потребляет огромное количество воды, это приводит к истощению водных ресурсов и загрязнению водоемов стоками из ферм. Производство кормов по типу сои, требует значительных ресурсов, что может привести к обезлесиванию и увеличению выбросов парниковых газов. Также широкое использование антибиотиков для профилактики и лечения заболеваний приводит к появлению устойчивых к ним бактерий, что несет серьезную угрозу для здоровья людей [1-3].

Решением вышеперечисленных проблем может стать использование биотехнологий. Одним из многообещающих направлений можно считать культивацию мяса. Она представляет собой процесс производства мяса в лабораторных условиях без необходимости забивать животных. Процесс выращивания культивируемого мяса начинается с извлечения клеток, обладающих высокой скоростью пролиферации, то есть способных быстро размножаться. Среди них могут быть эмбриональные и взрослые стволовые клетки, миосателлиты (одноядерные взрослые стволовые клетки мышечной ткани) и миобласты (молодые одноядерные клетки мышечной ткани). Клетки с плюрипотентностью, то есть способные превратиться в различные типы клеток, за исключением клеток внутренних органов эмбриона, размножаются быстрее других. Однако они еще не перешли к дифференциации в конкретные типы клеток, что может вызвать проблемы с неправильной дифференциацией и требовать управления их ростом и развитием в определенном направлении.

После извлечения необходимых клеток для производства добавляется специальный раствор, называемый средой роста. Эти среды должны содержать необходимые питательные компоненты в форме, доступной для миобластов и других соответствующих клеток. Для этой цели вносятся улучшения в состав доступных на рынке сред для культивирования клеток, что увеличивает возможность успешного выращивания различных типов клеток животных. После того, как клетки получают необходимые питательные вещества, их помещают в биореактор, где они могут расти в оптимальных условиях.

Для производства искусственного мяса в промышленных масштабах понадобятся новые типы биореакторов, которые будут способны сохранять структурную целостность культивируемого материала, обеспечивать равномерное распределение питательных веществ и кислорода в больших объемах. В некоторых исследованиях по инженерии скелетных мышц использовались роторные биореакторы, разработанные NASA. Они имеют ряд преимуществ, клетки почти постоянно находятся в подвешенном состоянии, что минимизирует "сдвиг" жидкости, подвешенность позволяет культивировать ткани толщиной до 1 см.

Биореакторы способны поддерживать концентрацию клеток до 108 клеток/мл, что позволяет предположить, что масштабирование до промышленных размеров не должно влиять на работу системы.

Разработка новых типов биореакторов является важным шагом на пути к производству искусственного мяса в промышленных масштабах. Ученые постоянно совершенствуют методы культивирования клеток, что позволяет им создавать искусственное мясо, которое по своим свойствам и вкусу максимально приближено к натуральному.

Также существует перспективное направление по модификации кормов для животных. Чтобы поднять мясную продуктивность скота и улучшить его здоровье, можно использовать пробиотики. Они представляют из себя живые микроорганизмы, такие как бактерии или дрожжи, которые оказывают положительное воздействие на организм, когда они потребляются в достаточном количестве. Пробиотики у молодых телят способствуют повышению веса и улучшению переваривания корма. Желудочно-кишечный тракт животных выполняет множество функций таких, как пищеварение, всасывание питательных веществ, но также в нем находится около 75 % иммунной системы. Нарушение защитной системы кишечника может привести к повреждению слизистой оболочки и воспалению из-за воздействия патогенов. Пробиотики могут влиять на данную защитную систему, регулируя воспалительные процессы. Использование пробиотиков в кормлении животных имеет много преимуществ: они улучшают состав микробиоты кишечника, стимулируют иммунный ответ, улучшают усвояемость питательных веществ, способствуют росту животных, а также улучшают качество мяса.

Помимо пробиотиков можно использовать биоконсерванты для заготовки кормов. Они помогают предотвратить разложение и порчу корма, сохраняя его питательные свойства и вкус. Это позволяет сохранить качество корма в течение длительного времени, что особенно важно в условиях хранения и транспортировки. Их использование может помочь предотвратить рост и размножение патогенных микроорганизмов, таких как бактерии и плесень, в корме. Это уменьшает риск передачи инфекций и заболеваний животным через заготовленные корма.

Биотехнологии играют ключевую роль в разработке инновационных решений. Культивация искусственного мяса открывает перспективы для уменьшения экологического воздействия животноводства и улучшения безопасности продукции. Применение пробиотиков и биоконсервантов в кормлении животных способствует улучшению пищеварения и повышения производственных показателей. Разработка новых типов биореакторов для культивации клеток и совершенствование методов кормления имеют большое значение для устойчивого развития мясной промышленности.

Использование биотехнологий в мясной промышленности не только помогает решать текущие проблемы, но и открывает перспективы для создания более эффективных и экологически устойчивых методов производства, способствуя

таким образом развитию устойчивого и ответственного подхода к производству мясных продуктов.

Список источников

1. Калиничев, Е. А. Использование полифункциональных добавок в переработке мяса / Е. А. Калиничев // Научно-образовательные и прикладные аспекты производства и переработки сельскохозяйственной продукции : Сборник материалов VII Международной научно-практической конференции, Чебоксары, 15 ноября 2023 года. – Чебоксары: Чувашский государственный аграрный университет, 2023. – С. 225-228. – EDN YZMHJK.
2. Калиничев, Е. А. Перспективные кормовые добавки, используемые в рационе крупного рогатого скота / Е. А. Калиничев, М. С. Буянина // Инновационные идеи молодых исследователей для агропромышленного комплекса : Сборник материалов Международной научно-практической конференции, Пенза, 24–25 марта 2022 года. Том II. – Пенза: Пензенский государственный аграрный университет, 2022. – С. 228-231. – EDN VTTQDK.
3. Калиничев, Е. А. Современные способы увеличения молочной продуктивности крупного рогатого скота / Е. А. Калиничев, К. С. Першикова // Инновационные идеи молодых исследователей для агропромышленного комплекса : Сборник материалов Международной научно-практической конференции, Пенза, 24–25 марта 2022 года. Том II. – Пенза: Пензенский государственный аграрный университет, 2022. – С. 231-234. – EDN BPINHG.

© Быченков М.П., 2024

Научная статья
УДК:615:616.932

Оценка возможности хранения производственных штаммов *Vibrio cholerae* в условиях низкотемпературного замораживания

Светлана Александровна Воробьева[1], Наталия Георгиевна Авдеева[1], Елена Юрьевна Щелканова[1], Анастасия Дмитриевна Орлова[2], Нина Ивановна Белякова[1], Ольга Александровна Шамина[1], Оксана Александровна Волох[1]
[1]ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора,
[2]ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»,
г. Саратов

Аннотация. В работе показана возможность хранения штаммов-продуцентов холерной вакцины *Vibrio cholerae* O1 в условиях замораживания при -70°С с использованием в качестве криопротектора лактозо-желативоной среды в течение одного года наблюдения. Отмечено сохранение штаммами культурально-морфологических, серологических, иммунохимических и молекулярно-генетических свойств. Проведено сравнение жизнеспособности с образцами штаммов, хранившихся в лиофилизированном виде при температуре (6±2) °С, до замораживания в среде с криопротектором. Установлено незначительное снижение концентрации клеток производственных штаммов через год хранения при -70°С. Для *V. cholerae* 569B падение значения жизнеспособности составило 1,1 lg КОЕ/мл, у *V. cholerae* M41 - 0,6 lg КОЕ/мл. Через 12 месяцев хранения было проведено реакторное культивирование и получены специфические компоненты холерной вакцины. Подтверждено соответствие их характеристик показателям, установленным нормативно-технической документацией.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, низкотемпературное замораживание, жизнеспособность, посевная культура

Assessment of the possibility of storing *Vibrio cholerae* production strains under low temperature freezing

Svetlana A. Vorobeva[1], Natalia G. Avdeeva[1], Elena Yu. Shchelkanova[1], Anastasia D. Orlova[2], Nina I. Belyakova[1], Olga A. Shamina[1], Oksana A. Volokh[1]
[1]FSSI Russian Anti-Plague Institute “Microbe” of the Rospotrebnadzor,
[2]FSBIS HE “Saratov National Research State University named after N.G. Chernyshevsky",
Saratov

Abstract. The work shows the possibility of storing cholera vaccine-producing strains *Vibrio cholerae* O1 under freezing conditions at -70°C using lactose-gelatin medium as a cryoprotectant during a one-year observation period. The strains retained cultural-morphological, serological, immunochemical and molecular-genetic properties. The survival rate was compared with samples of strains stored in lyophilized form at a temperature of (6±2) °C before freezing in a medium with the cryoprotectant. A marginal decrease in the concentration of cells of production strains was found after a year of storage at -70°C. For *V. cholerae* 569B, the drop in survival rate was 1.1 lg CFU/ml, for *V. cholerae* M41 - 0.6 lg CFU/ml. After 12 months of storage, reactor cultivation was carried out and specific components of the cholera vaccine were obtained. The compliance of their characteristics with the indicators established by the regulatory and technical documentation has been confirmed.

Key words: *Vibrio cholerae,* low-temperature freezing, viability, seed culture

Культивирование штаммов-продуцентов и сохранение их свойств является необходимым требованием биотехнологического производства, а также важными условиями научной и практической работы с микроорганизмами. Установлено, что, несмотря на широкое разнообразие методов сохранения микробных культур, соблюдается ряд основных требований, являющихся обязательными к применению в лабораторных исследованиях: метод должен обеспечивать высокий уровень жизнеспособности микроорганизмов; при хранении должна поддерживаться стабильность биологических свойств микробов; должна обеспечиваться чистота сохраняемой культуры, невозможность ее контаминации посторонней микрофлорой [1, 2]. Самыми распространенными методами длительного хранения является лиофилизация, криоконсервация и замораживание при низких температурах.

При производстве иммунобиологического лекарственного препарата «Вакцина холерная бивалентная химическая» штаммы *Vibrio cholerae* – продуценты специфических компонентов хранятся в лиофилизированном состоянии при температуре (6±2) °С и обладают типичными культурально-морфологическими, биохимическими, антигенными холерогенными, токсигенными и иммуногенными свойствами [ФС.3.3.1.0020.15, 2018]. Посевную культуру получают путем восстановления из лиофилизированного состояния перед каждым циклом выращивания, используя культивирование на плотных и жидких питательных средах при соблюдении оптимальных условий.

Ранее, Грачевой И.В. с соавт.[3] показана устойчивость коллекционных штаммов *V. cholerae* O1 серогруппы классического и Эльтор биовара к замораживанию и хранению в замороженном состоянии при -70 °С в присутствии криопротекторов. Наиболее высокая жизнеспособность холерных вибрионов была отмечена при использовании лактозо-желатиновой среды. Установлено сохранение основных признаков без пересевов в течение трех лет в условиях хранения при -70 °С. В виду чего было интересным

исследовать возможность такого хранения штаммов-продуцентов, используемых при производстве холерной вакцины.

В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы являлась оценка возможности хранения производственных штаммов *V. cholerae* в условиях замораживания при низких температурах и их использования для получения специфических компонентов холерной вакцины.

Материалы и методы. В работе использовали производственных штаммах *V. cholerae* O1 569B классического биовара серовара Инаба, *V. cholerae* M-41 классического биовара серовара Огава. В качестве контрольных использовали референс-штаммы *V. cholerae* O1 классического биовара КМ2129 (569B) серовара Инаба и КМ2130 (M-41) серовара Огава, которые являются эталонными производственными линиями. Все штаммы были получены из государственной коллекции патогенных бактерий (ГКПБ) ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора.

Референс-штаммы хранили в лиофилизированном виде при температуре (6±2) °С. Хранение производственных штаммов в замороженном состоянии осуществляли в условиях низкотемпературного холодильника при -70 °С и в качестве криопротектора использовали лактозо-желатиновую среду (среда ЛЖ, 15 % лактозы моногидрат, HiMedia Индия, 3 % желатина, AppliChem, Германия). В ходе исследования изучали – культурально-морфологические, серологические, иммунохимические и молекулярно-генетические свойства.

Культивирование проводили с использованием бульона Хоттингера, казеинового бульона (pH 7,7±0,1). Концентрацию бактериальных клеток определяли по Фармакопейному стандартному образцу Государственной фармакопеи Российской Федерации Стандартному образцу мутности бактериальных взвесей ФСО 3.1.00086 (ОСО 42-28-86) (5МЕ). Чистоту бактериальной культуры контролировали бактериоскопически в мазках с окраской по Граму, посевом на пластинки с агаром и в бульон Хоттингера (pH 7,7±0,1).

Устойчивость холерных вибрионов к хранению в замороженном виде оценивали в тесте на жизнеспособность. Для чего подготавливали десятикратные разведения культуры, хранящейся при -70 °С, в 0,9 % растворе натрия хлорида и последовательно высевали по 0,1 мл из каждого разведения на агар Хоттингера. Инкубировали (22±2) ч. при 37 °С, а затем проводили подсчет количества колониеобразующих единиц (КОЕ). Показатель жизнеспособности выражали в виде lg значения КОЕ/мл.

Серологические свойства штаммов изучали с использованием «Сыворотки диагностической холерной О1 адсорбированной сухнй для реакции агглютинации (РА)» (О1), «Сыворотки диагностической холерной Инаба адсорбированной сухая для реакции агглютинации (РА)» (Инаба), «Сыворотки диагностической холерной Огава адсорбированной сухой для реакции агглютинации (РА)» (Огава), «Сыворотки диагностической холерной RO адсорбированной сухой для реакции агглютинации (РА)» (RO).

Иммунохимические свойства штаммов изучали методом дот-иммуноанализа с коньюгатом на основе стафилококкового белка А, меченного золотыми наночастицами (ДИА ЗНЧ) [4]. Использовали «Сыворотку диагностическую холерную О1 адсорбированную сухую для реакции агглютинации» и СОП «Сыворотка антихолерогенная кроличья» (СОП АХС).

Молекулярно-генетические свойства изучали методом ПЦР с электрофоретическим учетом результатов (ПЦР РЭФ). Наличие гена *ctx*А определяли с помощью «Тест-системы для выделения ДНК *Vibrio cholerae* (*ctx*A^+) методом полимеразной цепной реакции (ГенХол)» согласно инструкции к тест-системе. Для обнаружения генов *ctx*В и *wbe (rfb)* использовали последовательности праймеров описанные в литературе [5. 6], которые были получены нами в лабораторных условиях. Для их использования были подобраны условия постановки ПЦР РЭФ. Пробы для работы обеззараживали согласно методическим указаниям МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».

Проверку свойств штаммов *V.cholerae,* хранящихся при -70 °С, в сравнении с лиофилизированными субкультурами проводили в условиях малообъемного культивирования по истечении 1, 3 и 7 месяцев хранения.

После хранения в течение12 месяцев проводили выращивание в условиях биоректора с последующим выделением специфических компонентов в соответствии с нормативно-технической документацией (НТД). Сравнительный анализ проводили со стандартным производственным циклом.

Результаты и обсуждение.

Нами было проведено исследование по хранению штаммов *V. cholerae* О1, используемых при производстве холерной вакцины, в условиях низкотемпературного замораживания. Использовали шток культуру, приготовленную из лиофилизированных препаратов штаммов-продуцентов, путем восстановления через культивирование на мясопептонном агаре (рН 7,7±0,1). Культуру смывали используя лактозо-желатиновую среду, выступающую в качестве криопротектора, и разливали по 0,4 мл в криопробирки для хранения в низкотемпературном холодильнике при -70 °С.

Рабочая культура представляла собой криопробирку со шток культурой, которую при малообьемной культивировании засевали во флакон со 100 мл бульона Хоттингера, в 2-х вариантах: в объеме 0,1 и 0,2 мл. Установлено, что концентрация клеток, после (20±4) ч. культивирования во флаконе при 37°С, незначительно отличалась в зависимости от посевной дозы. Затем 0,5 мл культуры пересевали в колбы с 25 мл казеинового бульона и культивировали при 32°С (*V. cholerae* 569В) и 37°С (*V. cholerae* М41) (16±2) ч.

В ходе исследования установлено, что культурально-морфологические свойства штаммов холерного вибриона не изменялись в зависимости от

времени хранения в замороженном виде (через 1,3,7,12 месяцев) и не отличались от таковых у референс-штаммов. В мазках по Граму визуализировали слегка изогнутые грамотрицательные полиморфные палочки, на агаре Хоттингера через (19±1) ч. инкубации однотипные плоские полупрозрачные колонии среднего размера с ровным краем.

Подтверждение серологических свойств проводили в реакции агглютинации с диагностическими холерными сыворотками: О1, Инаба, Огава и RO. Оба штамма агглютинировались О1 сывороткой и сероваростецифическими сыворотками Инаба и Огава, в зависимости от штамма. С сывороткой RO реакция была отрицательной.

Изучены иммунохимические свойства штаммов, хранившихся в усовиях низкотемпературного замораживания. Для анализа отбирали пробы при малообъемном культивировании после (16±2) ч. выращивания в колбах, при биореакторном – исследовали почасовые (с 1 по 10 час) образцы.

В ходе исследования, методом ДИА ЗНЧ по всех пробах установлено наличие О-антигена штаммов-продуцентов и холерного токсина *V. cholerae* 569В. Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Результаты ДИА ЗНЧ после культивирования производственных штаммов *V. cholerae*, хранившихся в условиях низкотемпературного замораживания (реципрокные титры).

Срок наблюдения при хранении при -70°С, мес.	*V. cholerae* М41 с О1 сывороткой холерной	*V. cholerae* 569В	
		с О1 сывороткой холерной	с СОП АХС
1	1706±426	1706±426	1066±130
3	1066±213	1066±213	853±130
7	1066±213	1066±213	853±130
12	1109±85	1194±85	853±130
Референс - штамм	1706±341	1706±341	1365±209
Норма (НТД)	800±100	800±100	400±100

Нами оценена жизнеспособность штаммов холерного вибриона при хранении в лактозо-желатиновой среде при -70°С. После 12 месяцев наблюдения концентрация клеток *V. cholerae* 569В уменьшилась на 1,1 lg КОЕ/мл и на 0,6 lg КОЕ/мл у штамма *V. cholerae* М41 (рисунок 1). Оба штамма показали хорошую стабильность по данному показателю.

Токсигенные свойства штамма *V. cholerae* 569В были подтверждены в реакции пассивного иммунного гемолиза (РПИГ) на способность продуцировать токсин во внешнюю среду. При исследовании всех образцов отмечалось наличие *tox*+ колоний и зона иммунного гемолиза варьировала от 2 до 3,5 мм.

Методом ПЦР с электрофоретическим учетом результатов установлено наличие генов *ctx*A, *ctx*B, *wbe (rfb)* у штаммов хранившихся в лиофилизированном и замороженном (в течение всего времени наблюдения) состоянии. Отмечалось наличие полос на уровне положительного контроля,

соответствующего длине амплифицируемого фрагмента ДНК для каждого гена (*ctx*A – 562 п.н., *ctx*B – 600 п.н., *wbe (rfb)* – 638 п.н.).

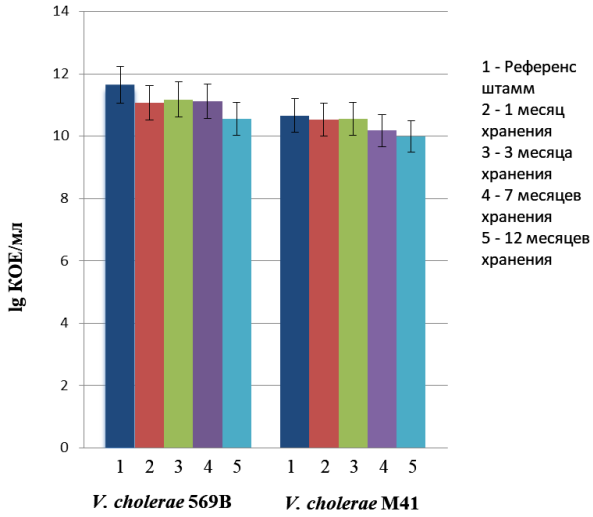


Рисунок 1. Динамика значения жизнеспособности в зависимости от срока хранения штаммов в условиях низкотемпературного замораживания

После 12 месяцев хранения производственных штаммов в условиях низкотемпературного замораживания было проведено культивирование в биореакторе и весь цикл производства согласно НТД. Рабочая культура представляла собой криопробирку со шток культурой из которой по 0,1 мл засевали в 2 флакона с бульоном Хоттингера, после инкубации в течение (6±1) ч. при 37 °С с помощью компрессора бульонную культуру содержимое 2 флаконов пересевали в бутыль с (7±1) л. бульона Хоттингера и выдерживали при 37 °С течение (17±1) ч. В один биореактор засевали 2 бутыли и культивировали до стационарной фазы роста микробной популяции (10,5±0,5) ч.

Обработку культуры и последующее получение специфических компонентов холерной вакцина проводили согласно НТД. Лиофилизированные О-антиген Инаба, О-антиген Огава и холероген-анатоксин – компоненты готового препарата были оценены физико-химическим, серологическим, иммунохимическим и биологическим методами. Установлено соответствие всех показателей требованиям, установленным НТД, что показывает их применимость для изготовления вакцины.

Заключение.

Показана возможность хранения производственных штаммов *V. cholerae* в условиях замораживания при низких температурах и их использования для получения специфических компонентов холерной вакцины. Для большей стандартизации процесса производства и минимизации расхода лиофилизированных препаратов производственных штаммов возможно использование рабочей шток культуры, в количестве необходимом на один

производственный год. Такой подход позволит уменьшить количество манипуляций с ПБА и время на производственный цикл, вместе с тем сохранить стабильность, однородность и чистоту посевной культуры.

Экспериментально установлена посевная доза замороженного штамма (0,1 мл), что позволяет уменьшить количество используемой культуры. В ходе исследования подтверждены культурально-морфологические, серологические, иммунохимические и молекулярно-генетические свойства штаммов, хранившихся при -70 ºС в течение 1, 3, 7 и 12 месяцев, которые соответствовали требованиям НТД и показателям референс – штаммов. Компоненты холерной вакцины, полученные при культивировании производственных штаммов хранившихся 12 месяцев в условиях низкотемпературной заморозки, по всем характеристикам отвечали нормам НТД.

Список источников.

1. Охапкина В.Ю., Шабалин Б.А. Методы поддержания микробных культур. Часть 1. Криоконсервация. Теоретическая и прикладная экология, 2009. № 1. С. 18–26.

2. Малахаева А.Н., Ляшова О.Ю., Плотников О.П., Осин А.В. Хранение штаммов *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ и *Brucella abortus* 19 ВА в жизнеспособном состоянии путем их глубокого замораживания. Проблемы особо опасных инфекций, 2015. № 1, С. 63–66.

3. Грачева И.В., Осин А.В. Низкотемпературная консервация коллекционных штаммов холерных вибрионов. Проблемы особо опасных инфекций, 2014. № 4, С. 39–42.

4. Дуракова О.С., Громова О.В., Киреев М.Н., Воробьева С.А., Клокова О.Д., Ливанова Л.Ф., Белякова Н.И., Волох О.А. Применение дот-иммуноанализа для определения специфической активности антигенов в производстве холерной вакцины Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. 2018. № 14 (4), С. 10-13.

5. Goel A.K., Ponmariappan S., Kamboj D.V., Singh L. Single multiplex polymerase chain reaction for environmental surveillance of toxigenic–pathogenic O1 and non-O1 *Vibrio cholerae*. Folia Microbiol (Praha), 2007. № 52(1), p. 81-85.

6. Kyle D. B., Bailey M. C., Mike S. Son genotypic and phenotypic assays to distinguish *Vibrio cholerae* biotype: methods and protocols in book: *Vibrio cholerae*.

© Воробьева С. А., 2024

Научная статья
УДК 619:615

Компонентная терапия при лечении мелких домашних животных

Чулпан Рафиковна Галиева, Алмаз Ришатович Шарипов
ФГБОУ ВО Башкирский государственный аграрный университет,
г.Уфа, Россия

Аннотация: В статье изложены теоретические вопросы эффективности применения эритроцитарной массы мелким домашним животным.
Ключевые слова: эритроцитарная масса, гематранфузия, лечение, эффективность, компонентная терапия, кошки, собаки

Component therapy for treatment of small pets

Chulpan R. Galieva, Almaz R. Sharipov
Bashkir State Agrarian University, Ufa, Russia

Abstract. The article presents the theoretical issues of the effectiveness of the use of erythrocyte mass in small pets.
Key words: erythrocyte mass, hemotransfusion, treatment, efficacy, component therapy, cats, dogs.

Введение. Переливание крови и её компонентов в ветеринарной практике мелких домашних животным с каждым годом приобретает всю большую важность и распространение. К данной манипуляции прибегают в экстренных случаях, когда от этого зависит жизнь животного и традиционное альтернативное лечение становится не эффективным.

В последние годы ветеринарная гемотрансфузиология активно развивается (не только во всем мире, но и в пределах Российской Федерации), ежегодно появляются новые и пересматриваются старые руководства, стандартизируются требования по проверке крови на инфекционные патогены и хранению собранных продуктов, модифицируются и обновляются рекомендации по отбору крови и срокам ее хранения. Появляющиеся банки крови для животных повышают качество и безопасность продуктов крови, позволяя реципиентам получать проверенные компоненты для переливания.

Компонентная терапия позволяет подобрать подходящий для пациента продукт крови, что, в свою очередь, следует расценивать как важный аспект для снижения интра-, посттрансфузионных реакций.

В связи с чем, целью нашей работы явилась оценка эффективность применения эритроцитарной массы в ветеринарной практике для лечения анемии мелких домашних животных.

Материалы и методы исследований. Изучение вопроса проводилось на базе Центра Ветеринарной Медицины «Альвис» города Уфы ИП Бугаева С.А. в период с 01.05.2022 по 25.02.2023.

За данный период на прием у ветеринарных врачей поступило 10 животных (кошек и собак), которым по различной клинической картине было принято решение проводить гемотрансфузию.

Всех животных поделили на 2 группы:

1. Первая группа: проводилось переливание цельной крови от животных-доноров (n=5).

2. Вторая группа: проводилось переливание эритроцитарной массы от животных-доноров, чья кровь хранилась непосредственно в клинике (n=5).

Все животные обязательно подвергались клиническому осмотру и обследованиям.

Диагностическим маркером для проведения трансфузионной терапии служил клинический анализ крови пациентов. Важным показателем для принятия решения о переливании являлся гематокрит пациентов: у кошек <14 %, у собак <17 %.

Состояние, пульс, частота дыхания, температура слизистых оболочек и ректальная температура контролировались до переливания, каждые 5 минут в первые 30 минут, 40 минут, 1, 2, 3, 4 часов и 12 часов после начала переливания. Полный анализ крови на автоматическом гематологическом анализаторе Mindray и измерение артериального давления с помощью осциллометрической системы высокой четкости ветеринарным тонометром PetTrust проводились через 24 часа после проведения трансфузии.

В первой группе проводилось переливание цельной крови от животных. Перед переливанием проводили тесты на группы крови реципиенту и предполагаемому донору, кровь собирали в пробирку с ЭДТА.

Если кровь донора совпадала с группой крови реципиента, то далее проводили перекрестную пробу на совместимость крови (большую и малую перекрестные пробы, аутоконтроль).

Во второй группе проводилось переливание эритроцитарной массы от животных-доноров, ранее обследованных на инфекции, передающиеся через кровь. Все доноры-собаки в группе были протестированы на трансмиссивные заболевания, такие как Dirofilaria sp., Ehrlichia canis, Babesia canis и Leishmania sp., в то время как кошки были протестированы на ВИК (вирусный иммунодефицит кошек), ВЛК (вирусный лейкоз кошек) (экспресс-тесты Feline Leukemia Virus Antigen\Feline Immunodeficiency Virus Antibody Test Kit VETEXPERT) и инфекцию Mycoplasma haemofelis.

Всем животным непосредственно провели общий анализ крови. Также проводили тестирование на группу крови. Две собаки были отрицательны по группе крови DEA 1.1 (30 %), в то время как остальные были положительными на этот антиген (60 %). Одна собака была с группой крови DEA 1.2 (10 %). Две кошки имели группу крови АВ (20 %), остальные – группу крови А (80 %).

Результаты исследований. В первой группе, где проводилось переливание цельной крови от животных-доноров, были выявлены следующие трансфузионные реакции:

- у двух из пяти животных была гипотермия во время переливания крови;
- у одного из пяти животных через 10 минут после введения цельной крови произошла анафилактическая реакция: лихорадка, повышение температуры, отек и покраснения на морде.
- у двух животных на следующий день после переливания отмечался гемолиз сыворотки крови, который продолжался еще 3 дня, т.е. до полного выведения крови из кровеносного русла.

Во второй группе, где проводилось переливание эритроцитарной массы, ранее приготовленной и опечатанной по всем требованиям хранения, от животных-доноров, были выявлены следующие реакции: у одного из пяти животных через 1 час введения крови была выявлена желтизна слизистых и кожных оболочек, и повышения частоты дыхательных движений. В качестве противовоспалительного препарата был введен однократно Преднизолон в дозе 0.5 мг/кг.

Повышение гематокрита было зафиксировано после всех 10 трансфузий. В первой группе отмечалось повышение гематокрита в среднем на 6,6 % на следующие сутки после переливания.

Во второй группе отмечалось повышение гематокрита в среднем на 11,8 %.

Выводы. Подводя итоги, хотелось бы отметить, что ветеринарная гемотрансфузиология активно развивается, ежегодно модифицируются и обновляются рекомендации по отбору крови и срокам ее хранения.

Рекомендуется проводить типирование крови перед всеми переливаниями как у собак, так и у кошек. В экстренной ситуации, когда время для типирования крови отсутствует, собаке с неизвестной группой можно смело давать кровь с группой DEA 1.1 (-). Для кошек не существует универсальных доноров, поэтому перед переливанием крови кошкам всегда необходимо уточнять группу крови, чтобы предотвратить опасную для жизни реакцию.

Также необходимо проводить перекрестные пробы крови – это тест для определения совместимости реципиента с донором. Не является заменой определению групп крови.

Список источников

1. Абдрахимова, А.С. Гемотранфузия в ветеринарной практике / Абдрахимова А.С., Гатиятуллин И.Р.// Студент и аграрная наука: материалы XVII Всероссийской студенческой научной конференции. - Уфа, 2023. - С. 198-201.
2. Болезни непродуктивных животных / Зуев Н.П., Мерзленко Р.А., Лаврова О.Б., Девальд Е.Н., Роменская Н.В., Зуев С.Н., Зверев Е.В., Урманов И.Л.- Белгородский государственный аграрный университет имени В.Я. Горина: Майский, 2022. – 300 с.

3. Меховникова, Е.А. Роль гемотранфузии в лечении мелких домашних животных / Меховникова Е.А., Галиева Ч.Р. // Студент и аграрная наука: материалы XVII Всероссийской студенческой научной конференции. - Уфа, 2023. -С. 297-300.

© Галиева Ч.Р., Шарипов А.Р., 2024

Научная статья
УДК 579.66

Лиофилизация производственных штаммов фиксированного вируса бешенства

Сергей Вячеславович Генералов, Александр Владимирович Комиссаров, Елена Геннадьевна Абрамова, Сергей Анатольевич Бадарин, Дмитрий Николаевич Бибиков, Наталья Викторовна Синицына, Екатерина Алексеевна Глазкова, Григорий Николаевич Гиненко, Алексей Константинович Никифоров
Федеральное казённое учреждение науки «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора», г. Саратов, Россия

Аннотация. Разработана технология лиофилизации штаммов фиксированного вируса бешенства, применяемых в производстве антирабического иммуноглобулина. Подобранные условия сублимационного высушивания позволили получить лиофильно высушенные субстанции, содержащие вирус бешенства, при этом снижение активности в результате лиофильного высушивания составило не более 5% от первоначального значения. Полученные результаты позволяют обосновать применение разработанной технологии лиофилизации для обеспечения условий хранения главного и рабочего банков штаммов вируса бешенства, используемых в производственном процессе приготовления иммуноглобулина антирабического из сыворотки крови лошади жидкого, раствора для инъекций.

Ключевые слова: фиксированный вирус бешенства, лиофилизация, антирабический иммуноглобулин

Lyophilization of production strains of fixed rabies virus

Sergey V. Generalov, Alexander V. Komissarov, Elena G. Abramova, Sergey A. Badarin, Dmitry N. Bibikov, Natalya V. Sinitsyna, Ekaterina A. Glazkova, Grigory N. Ginenko, Aleksey K. Nikiforov
Federal State Scientific Institution «Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe» of the Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Well-being», Saratov, Russia

Abstract. The technology of lyophilization of fixed rabies virus strains used in the production of anti-rabies immunoglobulin has been developed. The selected freeze-drying conditions made it possible to obtain freeze-dried substances containing the rabies virus, while the decrease in activity as a result of freeze-drying was no more than 5% of the initial value. The results obtained make it possible to justify the use of the developed lyophilization technology to ensure the storage conditions of the main and

working banks of rabies virus strains used in the production process of preparing rabies immunoglobulin from horse blood serum, liquid, solution for injection.

Key words: fixed rabies virus, lyophilization, anti-rabies immunoglobulin

В России для производства антирабического иммуноглобулина, применяемого для постэкспозиционной профилактики бешенства, используют сыворотку крови лошадей, иммунизированных антигеном, содержащим инактивированный вирус бешенства «Москва 3253». Антиген представляет собой вируссодержащую субстанцию, приготовленную на основе 10% суспензии головного мозга кролика. Для определения специфической активности антирабического иммуноглобулина, а также иммунных сывороток и полуфабриката используют штамм CVS в виде 20 % суспензии головного мозга мыши, содержащей 2 % нормальной лошадиной сыворотки. Штамм «Саратов» (альтернативное название – «Москва 3253_{Vero}») является штаммом, перспективным для использования в производстве антирабического иммуноглобулина. Этот штамм получен в результате адаптации штамма «Москва 3253» к перевиваемой культуре клеток Vero. Ранее были получены результаты по его применению для получения лабораторных и пилотных серий антирабического иммуноглобулина из сывороток крови кроликов и лошадей [1,4]. Значительные отличия генома штамма вируса бешенства «Саратов» от исходного [6] позволяют предполагать его использование для контроля специфической активности антирабического иммуноглобулина, что также было успешно продемонстрировано в ряде работ [1,2].

Хранение главного и рабочего банков указанных штаммов вируса бешенства осуществляют при температуре не выше минус 70 ºС. Существующий режим хранения требует усовершенствования, особенно в отношении главного банка производственных штаммов, предполагающего сохранение активности вируса на протяжении длительного времени хранения.

Эффективным способом стабилизации свойств вируса бешенства, в прочем и для других живых микроорганизмов, является сублимационное высушивание [7-9], позволяющее хранить сухие препараты и при положительных температурах. Рассмотрение сведений о качественно-количественном составе сред высушивания живых вирусных вакцин в форме лиофилизата, производимых в России, позволяет говорить о том, что для 17 наименований вакцин существует 12 вариаций сред высушивания [5].

Анализ научной литературы [7-9] позволил утверждать о том, что отсутствуют единые подходы как к применению сред высушивания, так и к временным параметрам лиофилизации вируса бешенства. Подытоживая, следует сказать о том, что исследования направленные на обоснование параметров лиофилизации вируса бешенства, имеют важное научно-практическое значение.

Цель исследований – экспериментальное обоснование параметров сублимационного высушивания субстанций, содержащих вирус бешенства и исследование свойств полученных сухих образцов.

При проведении исследований использовали следующие штаммы фиксированного вируса бешенства: штамм «Москва 3253», штамм CVS, штамм «Саратов», адаптированный к росту на перевиваемой клеточной культуре Vero). Для получения и подготовки к лиофильному высушиванию субстанции, содержащей штамм вируса бешенства «Москва 3253», головной мозг кролика, извлеченный из зараженного животного, растирали фарфоровым пестиком в стерильных условиях. Затем к нему добавляли стерильные водные растворы, содержащие 10 % сахарозы и 1 % желатина, до конечной концентрации суспензии 10 %. Аналогично из головного мозга белой мыши готовили 20% суспензию, содержащую штамм CVS, с тем отличием, что к суспензии помимо растворов сахарозы и желатина добавляли 2 % нормальной лошадиной сыворотки. Подготовку субстанции, содержащей штамм вируса бешенства «Саратов» осуществляли следующим образом. Культивирование вируса осуществляли роллерным способом на предварительно выращенном монослое клеток Vero с использованием среды 199 с добавлением 5 % сыворотки крупного рогатого скота в течение 7 суток. Для заражения клеточной культуры использовали дозу 0,1 $ИД_{50}$ на 1 клетку. Культуральную жидкость собирали и центрифугировали при 500 g в течение 5 мин для удаления остатков клеток. К полученным вируссодержащим субстанциям жидкости добавляли предварительно простерилизованные компоненты СВ: 20 % раствор сахарозы и 2 % раствор желатина до их конечного содержания 10 % и 1 % соответственно.

Выбор смеси сахарозы и желатина в качестве среды высушивания определен широким использованием среды Файбича (сахароза 10%, желатина 1-1,5 %, агар-агар 0,05-0,2 % или сахароза 10 %, желатина 1-1,5 %) для лиофилизации живых микроорганизмов, в том числе в Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора.

Подготовленные субстанции разливали в ампулы вместимостью 6,0 мл по 1,0 мл. Лиофилизацию образцов препаратов осуществляли в сублимационной сушильной установке Epsilon 2-6D (Martin Christ, Германия). В исследовании определялись следующие показатели субстанций вируса бешества: внешний вид, растворимость (время растворения), pH, потеря в массе при высушивании, герметичность, активность вируса бешенства и стерильность.

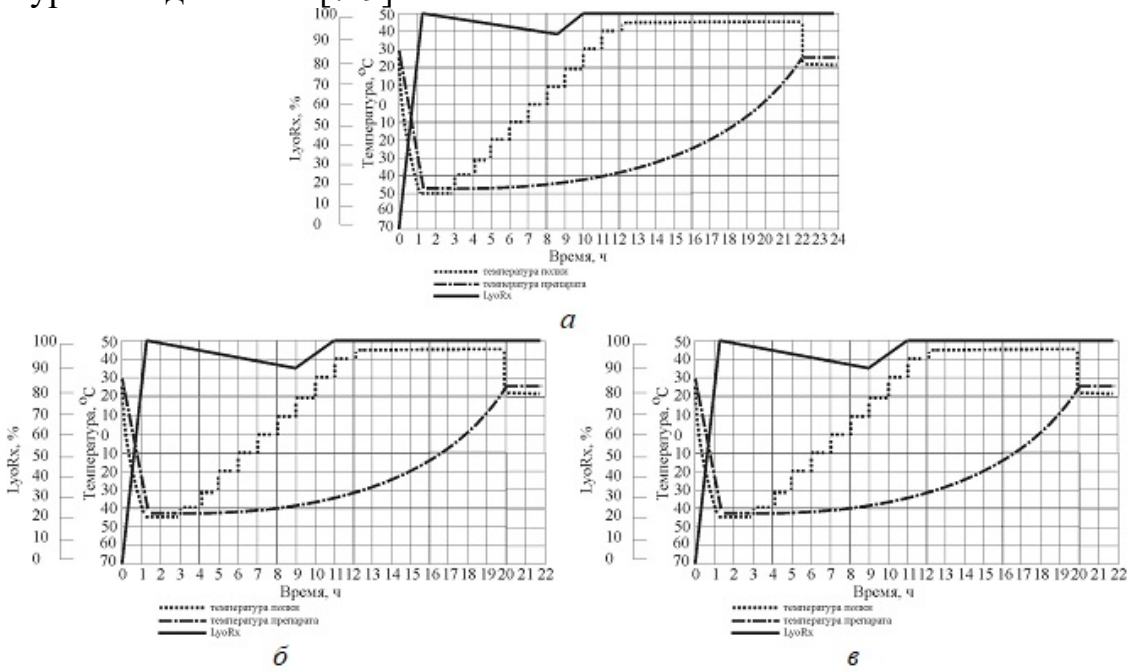
Для проведения процесса лиофилизации нами был предложен алгоритм изменения температурно-временных показателей процесса успешно применяемый при сублимационной сушке диагностических препаратов, производимых в ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора.

Кюветы с ампулами помещали на полки сушильной установки и проводили заморозку материала до температуры его полного замораживания с последующей выдержкой при данной температуре в течение 2 ч. Далее создавали вакуум и начинали подогрев полок, проводя постепенное повышение температуры материала до 25 °С со скоростью подогрева полок в этот период равной 10 $°С \cdot ч^{-1}$. При достижении температуры в материале 25 °С температуру

полок доводили также до 25 °С и выдерживали в течение 2 ч. Такие параметры процесса сушки, как температура конденсатора-вымораживателя и величина вакуума оставались неизменными и составляли минус 70 ºС и 0,01 кПа соответственно. Также мониторингу подвергался показатель LyoRx, характеризующий электрическое сопротивление и отображаемый на дисплее сушильной установки в %. Результаты реализации лиофилизации вируса бешенства представлены на рис.

Рассматривая изменение параметра LyoRx можно констатировать, что его минимальное значение составляет 88 % (для субстанции, содержащей ВБ штамма Москва 3253_{Vero}) и 85 % (для субстанции, содержащих ВБ штаммов Москва 3253 и CVS). Можно сделать вывод, что примененные температурно-временные характеристики лиофилизации гарантируют пребывание образцов вируса бешенства в интервале, не превышающем нижнюю эвтектическую температуру (минус 32 °С). При этом существует возможность более быстрого повышения температуры полок установки, а соответственно, и высушиваемого материала, что позволяет уменьшить продолжительности сублимационной сушки. Более того, экспериментально подтверждена целесообразность проведения процесса досушивания в течение 2 ч при температуре 25 ºС, так как измеренное значение ПМВ сухих образцов ВБ составляло от 1,4 до 1,7 % (для штамма «Саратов» – 1,4 %, для штамма «Москва 3253» – 1,7 % и для штамма CVS – 1,6 %). Близость динамики значений температурно-временных показателей процесса высушивания, а также параметра LyoRx объясняется, по нашему мнению, теми же причинами, что были предположены нами при анализе результатов определения температур полного замерзания, нижних и верхних эвтектических температур субстанций, содержащих вирус бешенства.

Можно констатировать, что время, необходимое для лиофилизации образцов не превышает 24 ч и составляет меньшую продолжительность в сравнении с литературными данными [7-9].



а

б

в

Рисунок 1. Режимы лиофилизации ВБ (*а* – Саратов, *б* – Москва 3253, *в* – CVS)

Необходимым этапом оценки эффективности предложенных методических приемов лиофилизации вируса бешенства, является изучение свойств полученных сухих образцов. Результаты исследований образцов лиофилизированных субстанций, содержащих вирус бешенства представлены в таблице 1.

Таблица 1. – Свойства лиофильно высушенных субстанций, содержащих ВБ

Исследуемый показатель	Штамм «Москва 3253»	Штамм CVS	Штамм «Саратов»
Внешний вид	сухая пористая масса в виде хорошо сформированной таблетки розового цвета	сухая пористая масса в виде хорошо сформированной таблетки молочного цвета	сухая пористая масса в виде хорошо сформированной таблетки светло-серого цвета
Время растворения, с	40±2	45±3	30±1
pH	7,2±0,1	7,5±0,1	7,2±0,1
Герметичность	соответствует	соответствует	соответствует
Потеря в массе при высушивании, %	1,7±0,1	1,6±0,1	1,4±0,1
Стерильность	Стерилен	Стерилен	Стерилен
Инфекционная активность до высушивания	6,4 lg LD50/мл	7,3 lg LD50/мл	7,1 lg ID50/мл
Инфекционная активность после высушивания	6,2 lg LD_{50}/мл	7,1 lg LD_{50}/мл	6,8 lg ID_{50}/мл

Список источников

1. Абрамова Е.Г., Гаврилова Ю.К., Генералов С.В., Лобовикова О.А., Шульгина И.В., Комиссаров А.В., Никифоров А.К. Разработка стандартного образца предприятия активности антирабического иммуноглобулина для применения в реакции нейтрализации вируса на культуре клеток Vero. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2022, 22(1), 38–48.

2. Гаврилова ЮК, Генералов СВ, Абрамова ЕГ, Савицкая ЛВ, Галкина МВ, Кочкин АВ. Экспресс-анализ активности антирабических сывороток и иммуноглобулина в клеточных культурах методом иммунофлуоресценции. Биотехнология. 2018, 34(4), 83–88.

3. Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Матвеева Ж.В., Жулидов И.М., Лобовикова О.А., Савицкая Л.В., Минаева Л.Н., Галкина М.В., Михеева Т.А., Комиссаров А.В., Киреев М.Н., Никифоров А.К. Получение кроличьего антирабического иммуноглобулина с применением культурального антигена. Проблемы особо опасных инфекций. 2012, (2(112)), 78–81.

4. Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Матвеева Ж.В., Жулидов И.М., Лобовикова О.А., Свинцов Р.А., Комиссаров А.В., Киреев М.Н., Никифоров А.К. Культуральный антиген в технологии получения антирабического иммуноглобулина из сыворотки крови лошади. Проблемы особо опасных инфекций. 2012;(4(114)):65-68.

5. Комиссаров А.В., Бибиков Д.Н., Волох О.А., Бадарин С.А., Синицына Н.В., Костылева Н.И., Германчук В.Г., Никифоров А.К. Лиофилизация живых вакцин. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. 2018, 14(3), 56–73.

6. Krasnov, Y.M., Alkhova, Z.V., Generalov, S.V , Tuchkov I.V., Naryshkina E.A., Sharapova N.A., Abramova E.G., Nikiforov A K.. Whole Genome Sequencing and Phyloge-netic Analysis of the Rabies Virus Strain Moscow 3253 Adapted to a Vero Cell Line. Mol. Genet. Microbiol. Virol. 35, 237–242 (2020).

7. Malenovská H. The influence of stabilizers and rates of freezing on preserving of structurally different animal viruses during lyophilization and subsequent storage. Journal of Applied Microbiology. 2014, 117(6), 1810–1819.

8. Varianytsia V.V., Vysekantsev I.P. Freeze-Drying and Subsequent Storage of Fixed Pasteur Strain Rabies Virus. Problems of Cryobiology and Cryomedicine . 2017, 22(4), 162.

9. Varianytsia V.V., Vysekantsev I.P. Infectious Activity of L. Pasteur Rabies Virus Vaccine Strain Frozen-Dried in Various Protective Media And Then Stored at Various Temperatures. Problems of Cryobiology and Cryomedicine. 2018, 28(4), 333–342.

©Генералов С.В., Комиссаров А.В., Абрамова Е.Г., Бадарин С.А., Бибиков Д.Н., Синицына Н.В., Глазкова Е.А., Гиненко Г.Н., Никифоров А.К., 2024

Научная статья
УДК 579.61

Исследование влияния различных энтеросорбентов на бактериофаг при конструировании комплексного препарата для лечения и профилактики холеры

Екатерина Алексеевна Глазкова, Кристина Сергеевна Гумаюнова, Александр Владимирович Комиссаров, Мария Владимировна Овчинникова
Федеральное казенное учреждение науки «Российский научноисследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора», г. Саратов, Россия

Аннотация. Выделение в различных регионах мира штаммов устойчивых к антибиотикам, свидетельствует о необходимости поиска альтернативных средств для лечения холеры. В связи с этим актуальной является задача по конструированию комплексного препарата на основе бактериофага для лечения холеры.
Ключевые слова. Холера, бактериофаг, энтеросорбент, литическая активность

Investigation of the effect of various enterosorbents on bacteriophage in the design of a complex drug for the treatment and prevention of cholera

Ekaterina A. Glazkova, Kristina S. Gumayunova, Alexandr V. Komissarov, Mariya V. Ovchinnikova
Federal State Scientific Institution «Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe» of Federal Service for Surveillance on Consumer's Rights Protection and Human Well- 172 being», Saratov, Russia

Abstract. At the present state of the seventh pandemic, cholera continues to be a priority global health problem. The extraction of antibiotic-resistant strain in various regions of the world indicates the need to find alternative remedies for the treatment of cholera. In this regard, the task of designing a complex bacteriophage-based drug for the treatment of cholera is urgent.
Key words: Cholera, bacteriophage, enterosorbent, lytic activity

С 2013 по 2022 годы выявлена тенденция роста в динамике заболеваемости холерой в мире [1,2]. Авторы прогнозировали сохранение эпидемиологических рисков завоза инфекции на любую административную территорию России в течение 2023 г., связанных с активизацией эпидемического процесса в отдельных странах Азии, Африки и регионе Карибского бассейна, где сформировались эндемичные очаги [2]. Возможность возникновения масштабных вспышек и

эпидемии этой инфекции в различных странах определяет важность и необходимость постоянного мониторинга холеры, а также предотвращение ее распространения. Сообщения, свидетельствующие о выделении в различных регионах мира штаммов *Vibrio cholerae* O1 серогруппы, устойчивых к антибиотикам, свидетельствуют о необходимости поиска альтернативных средств, эффективных для лечения холеры [1,3]. В связи с этим для лечения различных острых кишечных инфекций (ОКИ), актуальным являются исследования в области применения бактериофагов, главными преимуществами которых являются специфичность, в том числе в отношении антибиотикорезистентных штаммов возбудителей, а также низкая токсичность для человека [4].

Наряду с преимуществами фаготерапии ОКИ, существует проблема безопасной доставки терапевтического агента к месту дислокации патогена. В данном случае необходимо учитывать чувствительность фагов к агрессивной среде желудочно-кишечного тракта. Одним из решения данной проблемы, по нашему мнению, является конструирование лечебно-профилактической системы, основу которой будут составлять специфический бактериофаг и энтеросорбент, выполняющий дополнительно функцию безопасной доставки фага. Применение именно энтеросорбентов основывается на одном из механизмов их действия – комплексообразование, с помощью которого происходит нейтрализация, транспорт и выведение из организма различных веществ [5].

В связи с этим целью исследования является изучение влияния различных видов энтеросорбентов на жизнеспособность и литическую активность бактериофага при конструировании комплексного препарата для лечения и профилактики холеры.

Материалы и методы

В качестве лиганда для исследования использовали холерный бактериофаг, представляющий собой стерильный фильтрат фаголизата бульонной культуры холерного вибриона эльтор, содержащий взвесь частиц фагов в определенной концентрации.

Были выбраны комплексообразующие агенты, являющиеся представителями различных групп энтеросорбентов:

- Уголь активированный-УБФ (ОАО «УРАЛБИОФАРМ», Россия, Р№ 002523/01);
- Полисорб® МП (АО «Полисорб», Россия, Р№ 001140/01);
- Пектин яблочный Val´de (ООО «ОК-Групп», Россия);
- Хитозан водорастворимый (ЗАО «Биопрогресс»).

Полисорб® МП и уголь активированный зарегистрированы в Российской Федерации и разрешены к применению в качестве энтеросорбентов. Пектин яблочный и хитозан имеют широкое применение в качестве биологически активных добавок.

Для получения экспериментальных комплексов растворы энтеросорбентов в концентрациях 2,5 %, 5 %, 10 % смешивали с холерным бактериофагом в

соотношении 1:1. Температура и время комплексообразования составляли 21 °С и 37 °С и 1 час и 2 часа соответственно. Зависимость литической активности экспериментальных составов от условий комплексообразования (концентрация энтеросорбента, время и температура) исследовали методом Фишера. Для дифференциации результатов литической активности экспериментальных комплексов от их отдельных компонентов, в качестве контролей использовали бактериофаг без энтеросорбента и растворы энтеросорбентов в обозначенных выше концентрациях.

Результаты и обсуждение

Литическую активность комплексов фаг-энтеросорбент учитывали визуально через 18-20 часов инкубации. Результаты приведены в таблице. За положительный результат считали любую степень лизиса на месте нанесения комплекса по условной четырехкрестовой шкале:

- 4 креста – полный, сливной лизис культуры с прозрачным дном литического пятна;
- 3 креста – прозрачное пятно с колониями вторичного роста или много изолированных литических пятен;
- 2 креста – полупрозрачное пятно или единичные изолированные пятна лизиса;
- 1 крест – слабозаметное пятно лизиса культуры.

Таблица 1 – Оценка литической активности экспериментальных комплексов фаг-энтеросорбент методом Фишера

Энтеросорбент	Концентрация энтеросорбента, %	Температура, °С				Контроль энтеросорбента	Контроль фага
		22		37			
		Время экспозиции, ч					
		1	2	1	2		
Уголь активированный	2,5	+++ +	+++ +	+++ +	+++ +	-	++++
	5	+++ +	+++ +	+++ +	+++ +	-	
	10	+++ +	+++	++	+	-	
Хитозан	2,5	+	+	+	++	-	++++
	5	+	+	++	++	-	
Полисорб® МП	2,5	+++ +	+++	+++ +	+++	-	++++
	5	+++ +	+++ +	+++ +	+++ +	-	
Пектин яблочный Val´de	2,5	+++ +	+++ +	+++ +	+++ +	-	++++
	5	+++ +	+++	+++	+++	-	

Анализ полученных данных показывает, что бактериофаг сохраняет свою литическую активность на исходном уровне вне зависимости от температуры и времени комплексообразования у исследуемых образцов, в которых в качестве энтеросорбента применяли уголь активированный в концентрациях 2,5 % и 5 %, Полисорб® МП 5 % и пектин яблочный 2,5 %. Пектин яблочный 5 % и Полисорб® МП 2,5 % показали незначительное снижение литической активности бактериофага в результате продолжительного времени комплексообразования. Уголь активированный 10 % показал заметное снижение литической активности бактериофага в результате повышения температуры и времени комплексообразования. Хитозан во всех концентрациях показал значительное угнетение литического начала бактериофага в отношении культуры индикаторного штамма.

Вывод

Таким образом, опираясь на результаты исследований, можно сделать вывод, что хитозан во всех концентрациях и уголь активированный в концентрации 10 % не пригодны для использования в качестве комплексообразующего агента при конструировании комплекса с бактериофагом. Перспективными для дальнейших исследований являются уголь активированный в концентрациях 2,5 % и 5 %, Полисорб® МП 5 % и пектин яблочный 2,5 %.

Список источников

1. Тюрина А.В., Гаевская Н.Е., Селянская Н.А., Егиазарян Л.А., Погожова М.П., Головин С.Н., Пасюкова Н.И. Активность препарата бактериофагов в отношении антибиотикорезистентных штаммов холерных вибрионов EL Tor. Антибиотики и химиотерапия, 2018, 63; 7—8.
2. Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Миронова Л.В., Монахова Е.В., Соболева Е.Г., Чемисова О.С., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Меньшикова Е.А., Подойницына О.А., Ежова М.И., Евтеев А.В. Холера: анализ и оценка эпидемиологической обстановки в мире и России. Прогноз на 2023 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2023, выпуск 1; 56-66.
3. Аленкина Т.В., Овчинникова М.В., Киреев М.Н., Никифоров А.К. Перспективные сорбционные матрицы для конструирования антитоксического холерного энтеросорбента. Проблемы особо опасных инфекций, 2013, выпуск 2; 66-69.
4. Перепанова Т.С., Казаченко А.В., Хазан П.Л., Малова Ю.А. Терапевтическое применение бактериофагов: назад в будущее. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия 2021 том 23 №1; 55-64.
5. Конорев М.Р. Клиническая фармакология энтеросорбентов нового поколения. Вестник фармации 2013 №4 (62); 79-85.

© Глазкова Е.А., 2023

Научная статья
УДК 57.083:57.084

Иммуноанализ и фаговые антитела для индикации антибиотиков

Ольга Ивановна Гулий*, Ольга Александровна Караваева, Лев Абрамович Дыкман
Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук», 410049 Саратов, Россия

Аннотация. Неконтролируемое применение антибактериальных препаратов ускорило явление бактериальной резистентности, что является огромной проблемой для здоровья человека и окружающей среды. Для обнаружения антибиотиков и их метаболитов в различных объектах окружающей среды перспективным направлением является использование современных методик иммуноанализа и биосенсорики. Фаговый дисплей антител – первая и наиболее широко используемая технология селекции *in vitro*. Он оказался надежной и универсальной платформой для получения антител. Учитывая высокую специфичность фаговых антител к антибиотикам, в дальнейшем они смогут составить конкуренцию антителам нефаговой природы при использовании в биосенсорах.
Ключевые слова*:* фаговые антитела, антибиотики, дот-иммуноанализ

Immunoassay and phage antibodies for antibiotic indication

Olga I. Guliy*, Olga A. Karavaeva, Lev A. Dykman
Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms – Subdivision of the Federal State Budgetary Research Institution Saratov Federal Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS), Saratov 410049, Russia

Abstract. Uncontrollable use of antibacterial drugs has accelerated the phenomenon of bacterial resistance, which is a huge problem for human health and the environment. To detect antibiotics and their metabolites in various environmental objects, a promising direction is the use of modern methods of immunoassay and biosensors. Phage antibody display is the first and most widely used in vitro selection technology. It has proven to be a reliable and versatile platform for antibody production. Considering the high specificity of phage antibodies to antibiotics, in the future they will be able to compete with antibodies of a non-phage nature when used in biosensors.
Key words: phage antibodies, antibiotics, dot immunoassay

Антибиотики – важный класс препаратов, предназначенных для лечения бактериальных заболеваний человека и животных, кроме того, антибиотики

широко используются в сельском хозяйстве и пищевой промышленности. Одним из важнейших мероприятий, направленных на ограничение распространения антибиотиков в окружающей среде, является мониторинг остатков антибактериальных препаратов. В связи с этим актуальной является проблема контроля содержания антибиотиков в продуктах питания, сточных водах фармацевтических предприятий и других объектах.

Иммуноанализ – надежный, эффективный и точный метод анализа низкомолекулярных веществ (в том числе антибиотиков), которые могут присутствовать в пищевых продуктах. Однако традиционные поликлональные и моноклональные антитела ограничены использованием животных для их получения. С постепенным применением метода фагового дисплея в качестве эффективной технологии селекции *in vitro*, вариабельные одноцепочечные фрагменты иммуноглобулинов (scFv) представляют собой интересную альтернативу традиционным антителам. С использованием эффективно созданных исходных библиотек scFv и специально разработанных схем биопэннинга можно получать scFv, обладающие специфическими способностями распознавания. Рациональная стратегия мутагенеза еще больше повышает аффинность scFv и позволяет ей достичь уровня, которого невозможно достичь при иммунизации. Наконец, соответствующие меры прокариотической экспрессии обеспечивают стабильное и эффективное производство scFv [1].

Большой научный интерес представляет фаговый дисплей, направленный на получение и наработку антител к известным антигенам. Данная технология является выгодной заменой гибридомной технологии, т.к. фаговая система заменяет все этапы работы по иммунизации животных и удалению селезенки простыми процедурами манипулирования с ДНК и бактериями, сокращая время получения стабильных клонов, продуцирующих антитела, с месяцев до недель, тем самым удешевляя процесс [2]. В дальнейшем, полученные таким образом антитела, могут быть использованы в качестве селективных рецепторов биосенсоров.

Фаговые антитела успешно используются для терапии [3, 4], индикации вирусов [5, 6], бактерий и биомаркеров [7, 8]. Развитие технологии фаговой инженерии привело к созданию нового типа библиотек фагового дисплея, которые обладают огромным ресурсом диагностических/обнаруживающих зондов и универсальной конструкцией [7].

Для определения фармакодинамики лекарственных средств в организме хорошим инструментом является фаговый дисплей антител, позволяющий получать антитела к низкомолекулярным антигенам (гаптенам). В частности, с применением этой технологии были получены и апробированы в различных методах иммуноанализа фаговые антитела, специфичные к ампициллину [9] и канамицину [10]. С помощью метода дот-иммуноанализа показана их специфичность к определяемому антибиотику.

Метод конкурентного флуоресцентного поляризационного анализа с использованием фаговых антител был разработан для определения

ветеринарного антибиотика монензина, который широко применяется в кормах для жвачных животных [11].

Был разработан воспроизводимый конкурентный ИФА для определения ципрофлоксацина с использованием магнитных шариков в качестве носителя фаговых антител [12]. Метод непрямого конкурентного ИФА с использованием фаговых антител был предложен для детекции ципрофлоксацина в пищевых продуктах животного происхождения [13]. Этот же метод применяли для обнаружения макролидных антибиотиков в целях мониторинга безопасности пищевых продуктов [14] и определения левомицетина в морепродуктах [15]. scFv против ампициллина было предложено применять в методе ИФА в качестве диагностического реагента при использовании антибиотиков у человека и животных, в качестве модели эффекта экспрессии в *Escherichia coli* молекул, связывающих антибиотики [16].

Для контроля лекарственной аллергии и создания диагностических тестов на *β*-лактамный антибиотик амоксициллин был разработан хемилюминесцентный иммуноанализ с использованием фаговых антител [17].

Учитывая высокую специфичность фаговых антител к антибиотикам, в дальнейшем они смогут составить конкуренцию антителам нефаговой природы при использовании в биосенсорах.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 24-24-00309.

Список источников

1. Li, L., Wu, S., Si, Y., Li, H., Yin, X., Peng, D. // Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 2022; 21:4354–4377.
2. Тикунова, Н.В., Морозова, В.В. // Acta Nat. 2009;1:22–31.
3. Frenzel, A., Schirrmann, T., Hust, M. // mAbs 2016; 8:1177–1194.
4. Majewska, J., Kaźmierczak, Z., Lahutta, K., Lecion, D., et al., // Front. Immunol. 2019; 10:2607.
5. Mustafa, M.I., Mohammed, A. // SLAS Discov. 2024; 29:100140.
6. Petrenko, V.A., Gillespie, J.W., De Plano, L.M., Shokhen, M.A. // Viruses 2022; 14:384.
7. Petrenko, V.A. // Viruses 2018;10:311.
8. Petrenko, V.A. // Viruses. 2024; 16:277.
9. Гулий, О.И., Алсовэйди, А.К.М., Фомин, А.С., Габалов, К.П., Староверов, С.А., Караваева, О.А. // Прикладная биохимия и микробиология. 2022;58:513–519.
10. Гулий, О.И., Евстигнеева, С.С., Староверов, С.А., Фомин, А.С., Караваева, О.А. // Прикладная биохимия и микробиология. 2023; 59:512–519.
11. Makvandi-Nejad, S., Sheedy, C., Veldhuis, L., Richard, G., Hall, J.C. // J. Immunol. Methods 2010;360:103–118.
12. Gomes, F.B.M.B., Riedstra, S., Ferreira, J.P.M. // J. Immunol. Methods 2010; 358:17–22.

13. Wang, F., Li, N, Zhang, Y., Sun, X., Hu, M., Zhao, Y., Fan, J. // Foods 2021; 10:1933.
14. Li, L., Wang, X., Hou, R., Wang, Y., Wang, X., Xie, C., Chen, Y., Wu, S., Peng, D. // Food Control 2022; 133:108571.
15. Swofford, C.A., Nordeen, S.A., Chen, L., Desai, M.M., et al., // Protein Sci. 2022; 31:e4457.
16. Burmester, J., Spinelli, S., Pugliese, L., Krebber, A., Honegger, A., et al., // J. Mol. Biol. 2001; 309:671–685.
17. Quintero-Campos, P., Gozalbo-Rovira, R., Rodríguez-Díaz, J., Maquieira, Á., Morais, S. // Anal. Chem. 2023; 95:12113–12121.

© Гулий О.И., Караваева О.А., Дыкман Л.А. 2024

Научная статья
УДК 57.083:57.084

Молекулярные шапероны как маркеры заболеваний

Ольга Ивановна Гулий*, Сергей Александрович Староверов, Роман Дмитриевич Вырщиков, Лев Абрамович Дыкман
Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук», 410049 Саратов, Россия
Адрес для переписки:* guliy_olga@mail.ru (О.И. Гулий)

Аннотация. В связи с постоянным ростом смертельных исходов, связанных с раком, требуется развитие новых вспомогательных диагностических инструментов, которые помогут при постановке правильного диагноза и своевременного назначения лечения. К сожалению, при диагностике рака не описано ни одного молекулярного маркера, который мог бы предоставить достаточную информацию для постановки диагноза, поэтому необходимо оценивать большие панели маркеров. Одним из маркеров развития онкологического заболевания является повышенный уровень белков теплового шока за счет гиперактивации фактора теплового шока, что способствует инвазии и метастазированию опухоли. Поэтому шапероны могут применяться в качестве молекулярного маркера для диагностики этих заболеваний.
***Ключевые слова**:* молекулярные шапероны, белки теплового шока, маркеры

Molecular chaperones as disease markers

Olga I. Guliy*, Sergey A. Staroverov, Roman D. Vyrshchikov, Lev A. Dykman
Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms – Subdivision of the Federal State Budgetary Research Institution Saratov Federal Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS), Saratov 410049, Russia
*Corresponding author. *E-mail address:* guliy_olga@mail.ru (O.I. Guliy)

Abstract. Due to the constant increase in cancer-related deaths, the development of new auxiliary diagnostic tools is required to help make the correct diagnosis and timely treatment. Unfortunately, no molecular marker has been described for cancer diagnosis that can provide sufficient information for diagnosis, so large panels of markers need to be evaluated. One of the markers of cancer development is an increased level of heat shock proteins due to hyperactivation of the heat shock factor, which promotes tumor invasion and metastasis. Therefore, chaperones can be used as a molecular marker for the diagnosis of these diseases.
Key words: molecular chaperones, heat shock proteins, markers

Белки теплового шока — это семейство высококонсервативных белков, которые экспрессируются в небольших количествах в нормальных условиях, но активно индуцируются в ответ на клеточные стрессы, включая тепловой шок, гипоксию, генотоксические агенты, недостаток питательных веществ и сверхэкспрессию онкопротеинов [1-4]. Многие белки из данного семейства выполняют свои функции в качестве молекулярных шаперонов, стабилизируя белки для обеспечения их правильного фолдинга, ингибируя вызванную стрессом агрегацию белков или регулируя клеточную сигнализацию и транскрипционные сети. Термин «молекулярный шаперон» используется для описания функционально родственного набора белков. По молекулярной массе молекулярные шапероны делятся на несколько классов или семейств [1, 5, 6]. Повышенная экспрессия белков теплового шока в стрессовых условиях регулируется фактором теплового шока 1. В ответ на стрессовые условия фактор теплового шока 1 фосфорилируется и образует гомотримеры, затем связывается с элементами теплового шока и активирует транскрипцию генов теплового шока.

Белки стабильны в своей физиологической среде, но могут быть подвержены неправильному свертыванию и агрегации [7]. Для поддержания функции белка и клеточного гомеостаза необходимы молекулярные шапероны, особенно, в условиях стресса. Молекулярные шапероны представляют собой большое семейство белков, которые обеспечивают правильную сборку определенных полипептидных цепей. Помимо своей основной роли в фолдинге белков, шапероны участвуют в транспорте и деградации белков, диссоциации агрегатов и рефолдинге белков, денатурированных стрессом, и сборке и разборке макромолекулярных комплексов. Молекулярные шапероны задействованы в качестве первой линии защиты от таких заболеваний, как сердечнососудистые, алкогольный гепатит, катаракта, муковисцидоз, фенилкетонурия. Поэтому шапероны могут применяться в качестве молекулярного маркера для диагностики этих заболеваний. Эксперименты показали, что сверхэкспрессия шаперонов у мышей эффективно подавляла нейродегенерацию [8, 9, 10].

Шапероны регулируют конформацию белков при незначительном повреждении [11]. Более поздние исследования показали присутствие молекулярных шаперонов в фолдинге вновь синтезированных белков, они участвуют в их транспорте через мембраны, а также встраивании в различные органеллы [12]. Шапероны ингибируют изменение конформации белков при повышении температуры в клетке до 42°C.

Все больше данных указывает на то, что белки теплового шока сверхэкспрессированы во многих типах злокачественных опухолей, а повышенное их содержание усиливается гиперактивацией фактора теплового шока, что само по себе способствует инвазии опухоли и метастазированию [13]. Например, показано, что содержание белков теплового шока повышено при многих типах рака, а при раке молочной железы и предстательной железы избыточная их экспрессия связана с плохим прогнозом [14]. Таким образом, повышенное содержание белков теплового шока является потенциальным

признаком для ранней диагностики опухоли и прогноза у пациентов с распространенным раком [15-17].

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного Фонда проект № 24-29-00463.

Список источников

1. Azad, A.A., Zoubeidi, A., Gleave, M.E., et al. // Nat. Rev. Urol. 2015; 12: 26–36.

2. Ischia, J., So, A.I. // Nat. Rev. Urol. 2013; 10:386–395.

3. Zhang, L., Fok, J.H., Davies, F.E. // Oncotarget. 2014; 5:1132–1148.

4. Calderwood, S.K., Khaleque, M.A., Sawyer, D.B. et al. // Trends Biochem. Sci. 2006; 31:164–172.

5. Akerfelt, M., Morimoto, R.I., Sistonen, L. Heat shock factors: integrators of cell stress, development and lifespan // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2010; 11:545–555.

6. Schlesinger, M.J. Heat shock proteins // J. Biol. Chem. 1990; 265:12111–12114.

7. Haslbeck, M., Franzmann, T., Weinfurtner, D., Buchner, J. // Nat. Struct. Mol. Biol. 2005; 12:842–846.

8. Hristozova, N., Tompa, P., Kovacs, D. // PLoS ONE 2016; 11:e0161970.

9. Muchowski, P.J. // Neuron 2002; 35:9–12.

10. Barral, J.M., Broadley, S.A., Schaffar, G., Hartl, F.U. // Semin. Cell Dev. Biol. 2004; 15:17–29.

11. Tkáčová, J., Angelovičová, M. // Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies, 2012; 45:349–353.

12. Mathew, A., Morimoto, R.I. Role of the heat-shock response in the life and death of proteins // Ann. N. Y. Acad. Sci. 1998; 851:99–111.

13. Yun, C.W., Kim, H.J., Lim, J.H., Lee, S.H. // Cells 2020; 9:60.

14. Saini, J., Sharma, P.K. // Curr. Drug Targets 2017; 19:1478–1490.

15. Cappello, F., de Macario, E.C., Marasà, L., Zummo, G., Macario, A.J.L. // Cancer Biol. Ther. 2008; 7:801–809.

16. Seigneuric, R., Mjahed, H., Gobbo, J., Joly, A.-L., Berthenet, K., Shirley, S., Garrido, C. // Front. Oncol. 2011; 1:37.

17. Ramirez-Valles, E.G., Rodríguez-Pulido, A., Barraza-Salas, M., Martínez-Velis, I., Meneses-Morales, I., Ayala-García, V.M., Alba-Fierro, C.A. // Technol. Cancer Res. Treat. 2020; 19:1533033820957033.

© Гулий О.И., Староверов С.А., Вырщиков Р.Д., Дыкман Л.А. 2024

Научная статья
УДК 57.083:57.084

Перспективы использования фаговых антител, специфичных к белкам теплового шока, для онкодиагностики

Ольга Ивановна Гулий*, Сергей Александрович Староверов, Роман Дмитриевич Вырщиков, Лев Абрамович Дыкман
Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук», 410049 Саратов, Россия
Адрес для переписки:* guliy_olga@mail.ru (О.И. Гулий)

Аннотация. Онкологические заболевания являются одними из важнейших причин смерти населения планеты, поэтому постоянно развиваются направления, способствующие их ранней диагностике. Разные виды опухолей выделяют характерные для них вещества (онкомаркеры), которые определяются в крови при определенных концентрациях. Особое внимание при диагностике рака уделяется индикации соответствующих онкологических биомаркеров. Одним из онкомаркеров являются белки теплового шока. В работе показана возможность применения технологии фагового дисплея для наработки антител, специфичных к белкам теплового шока, подобраны оптимальные условия для проведения отбора специфичных антител и выявления белков теплового шока в дот-иммуноанализе.
***Ключевые слова**:* белки теплового шока, биомаркеры, онкодиагностика

Perspective of heat shock proteins phage antibodies for cancer diagnosis

Olga I. Guliy*, Sergey A. Staroverov, Roman D. Vyrshchikov, Lev A. Dykman
Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms – Subdivision of the Federal State Budgetary Research Institution Saratov Federal Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS), Saratov 410049, Russia
*Corresponding author. *E-mail address:* guliy_olga@mail.ru (O.I. Guliy)

Abstract. Oncological diseases are one of the most important causes of death of the world's population, therefore areas that promote early diagnosis of oncological diseases are constantly being developed. Different types of tumors secrete substances characteristic of them (tumor markers), which are detected in the blood at certain concentrations. At diagnosing cancer, special attention is paid to the indication of relevant cancer biomarkers. One of the tumor markers is heat shock proteins. The work demonstrates the possibility of using phage display technology to produce antibodies specific to heat shock proteins. Using phage display technology, antibodies to heat

shock proteins were obtained, optimal conditions were selected for selecting specific antibodies and identifying heat shock proteins in dot-immunoassay.
Key words: heat shock proteins, biomarkers, cancer diagnostics

Методы, используемые для диагностики рака, можно разделить на неспецифические исследования, диагностику по онкомаркерам и визуализирующие исследования (эндоскопические, гистологические и цитологические методы). Одно из важных направлений при диагностике рака связано с неинвазивными исследованиями на основе онкомаркеров. Разные виды опухолей выделяют характерные для них вещества (онкомаркеры), которые определяются в крови при определенных концентрациях. Несмотря на то, что положительный результат при определении онкомаркеров не всегда свидетельствует о наличии злокачественного образования, на основании положительного результата назначается детальное обследование. Особое внимание заслуживает применение в диагностике белков теплового шока, выполняющих функцию молекулярных шаперонов [1].

Аномальные уровни экспрессии и/или субклеточная локализация белков теплового шока были обнаружены при различных видах рака. С открытием иммуномодулирующей противоопухолевой активности белков теплового шока все большее внимание исследователей привлекает возможность использования шаперонов в клинической онкологии [2]. Функции белков теплового шока связаны с возникновением, прогрессированием и метастазированием рака, а также с резистентностью к терапии рака. Изучается потенциальное использование белков теплового шока для усиления эффектов химио-, радио- и иммунотерапии [3-4].

Одной из важных составляющих при разработке диагностических систем для индикации онкологических маркеров является подбор соответствующего биорецептора. Среди ускоренных методов определения биомаркеров лидирующее положение занимают методы иммуноанализа с применением антител. При разработке диагностических препаратов важно получить высокоспецифичные антитела. В работе использован метод получения антител с помощью технологии фагового дисплея [5-6]. Технология фагового дисплея заключается в получении рекомбинантных антител, экспонированных на поверхности нитевидных бактериофагов, несущих гены доменов антител. Данная технология имеет ряд преимуществ перед традиционно используемыми методами получения моно- и поликлональных антител: отсутствие использования животных, длительной иммунизации, дорогих сред и культур клеток животных, возможность продукции антител к белкам теплового шока [7-9].

В результате проведенных исследований с использованием технологии фагового дисплея получены антитела к белкам теплового шока, подобраны оптимальные условия для проведения отбора специфичных антител и выявления белков теплового шока в дот-иммуноанализе.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного Фонда проект № 24-29-00463.

Список источников

1. Kampinga, H.H., Hageman, J., Vos, M.J., Kubota, H., Tanguay, R.M., Bruford, E.A., Cheetham, M.E., Chen, B., Hightower, L.E. // Cell Stress Chaperon 2009; 14:105–111.

2. Shevtsov, M.A., Khachatryan, W.A., Margulis, B.A. // J Mod Oncol. 2012; 14:63–68.

3. Das, J.K., Xiong, X., Ren, X., Yang, J.-M., Song, J. // J. Oncol. 2019; 2019:3267207.

4. Hu, C., Yang, J., Qi, Z., Wu, H., Wang, B., Zou, F., Mei, H., Liu, J., Wang, W., Liu, Q. // MedComm. 2022; 3:e161.

5. Smith, G.P. // Science 1985; 228:1315–1317.

6. McCafferty, J., Griffiths, A.D., Winter, G., Chiswell, D.J. // Nature 1990; 348:552–554.

7. Zhao, F., Shi, R., Liu, R., Tian, Y., Yang, Z. // Food Chem. 2021; 339:128084.

8. Ye, J., Guo, J., Li, T., Tian, J., Yu, M., Wang, X., Majeed, U., Song, W., Xiao, J., Luo, Y., Yue, T. // Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 2022; 21:1843–1867.

9. Guliy, O.I., Evstigneeva, S.S., Dykman, L.A. // Biosens. Bioelectron. 2023; 222:114909.

© Гулий О.И., Староверов С.А., Вырщиков Р.Д., Дыкман Л.А. 2024

Научная статья
УДК 663.18

Защитные среды высушивания для лиофилизации маточных культур бактериофагов

Кристина Сергеевна Гумаюнова, Юлия Владимировна Синягина, Ольга Сергеевна Зинина, Мария Владимировна Овчинникова, Екатерина Алексеевна Глазкова, Александр Владимирович Комиссаров, Марина Владимировна Антонычева
Российский Научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора,
г. Саратов

Аннотация. В статье представлен сравнительный анализ влияния составов защитных сред на качественные характеристики лиофилизатов маточных фагов.
Ключевые слова: лиофилизация, бактериофаги, защитные среды

Protective drying media for lyophilization of uterine cultures of bacteriophages

Kristina S. Gumayunova, Yulia V. Sinyagina, Olga S. Zinina, Maria V. Ovchinnikova, Ekaterina A. Glazkova, Alexander V. Komissarov, Marina V. Antonycheva
Russian Scientific Research Anti-Plague Institute «Microbe» of Rospotrebnadzor, Saratov

Abstract. The article presents a comparative analysis of the effect of protective media compositions on the qualitative characteristics of lyophilizates of uterine phages.

Key words: lyophilization, bacteriophages, protective media

Маточные культуры бактериофагов – это жидкие специфически стерильные фильтраты фаголизатов бульонных культур соответствующих микроорганизмов, содержащие взвесь частиц соответствующих фагов. Каждый фагофильтрат имеет ограниченный срок хранения, по истечении которого констатируется уменьшение содержания активных частиц (1).

Успешно сохранять необходимые свойства продукта в течение длительного времени позволяет лиофилизация, как метод стабилизации термолабильных объектов химического и биологического происхождения. Для снижения негативного воздействия пониженных температур на протяжении процесса необходимо использовать лио- и криопротекторы, обладающие способностью предупреждать развитие повреждений биологических объектов в процессе лиофилизации (2,3).

Среди всего многообразия криопротекторов за основу была выбрана пептон-желатиновая среда, применяемая в производстве коммерческих лиофилизатов холерных диагностических бактериофагов: пептон – 10 % (стабилизирующая белково-аминокислотная масса), желатин – 1,5 % (коллоид). Такой состав среды был принят за стандартный образец. Было сформировано 5 экспериментальных сред на пептон-желатиновой основе, дополненные либо трегалозой 1 %, либо сахарозой 5 %, либо тиомочевиной 1,5 %, либо гликоколом (глицином) 2,5 % соответственно; в последнем варианте желатин был заменен хитозаном 1,5 %.

Специфически стерильный фильтрат монофага XII был соединен с разными вариантами защитных сред в соотношении 1:1, разлит в ампулы по 2 мл и подвергнут лиофилизации.

Нормируемые показатели для маточных фагов отсутствуют, при определении основных параметров лиофилизированных образцов ориентировались на требования, предъявляемые к коммерческим диагностическим холерным бактериофагам.

После лиофилизации монофага XII снижение количества фаговых частиц было отмечено в каждом из рассматриваемых образцов относительно жидкого бактериофага.

Все опытные образцы представляли собой аморфную массу светло-коричневого цвета. Значение величины потери массы при высушивании и pH сухих образцов определялись в пределах значений, соответствующих требованиям, предъявляемым к диагностическим холерным лиофилизированным бактериофагам. Время растворения каждого образца - менее одной минуты. Регидратированные препараты – прозрачная жидкость светло-желтого цвета, кроме образца № 6: мутная жидкость желтого цвета, что явилось основанием для исключения указанного образца из дальнейшего опыта.

Для оценки влияния протективных композиций на способность лиофилизированных бактериофагов взаимодействовать с компетентными штаммами был использован метод Фишера, предполагающий нанесение на газон компетентного штамма бактериофага каплей из каждого разведения. Результаты, представленные в таблице 1, учитывали по условной четырехкрестовой шкале:

++++ - сливной полный лизис культуры с прозрачным дном литического пятна;

+++ - прозрачное пятно с колониями вторичного роста или много изолированных литических пятен;

++ - полупрозрачное пятно или единичные изолированные пятна лизиса;

+ - слабозаметное литическое пятно.

Таблица 1 – Оценка степени взаимодействия монофага
с компетентным штаммом

№	Вариант состава среды	Разведение бактериофага			
		цельный	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
1	2	3	4	5	6
1	Пептон 10 % Желатин 1,5 % (стандарт)	++++	++++	++++	++
1	2	3	4	5	6
2	Пептон 10 % Желатин 1,5 % Трегалоза 1 %	++++	++++	+++	+
3	Пептон 10 % Желатин 1,5 % Сахароза 5 %	++++	+++	++	-
4	Пептон 10 % Желатин 1,5 % Тиомочевина 1,5 %	++++	++++	+++	+
5	Пептон 10 % Желатин 1,5 % Гликокол (глицин) 2,5 %	++++	+++	++	+
6	Пептон 10 % Хитозан 1,5 %	++++	++	-	-

Основываясь на полученных результатах в дальнейший эксперимент были взяты образцы №№ 1, 2, 3, 4, 5.

Предполагаемые сроки хранения лиофилизированных монофагов были рассчитаны в соответствии с методом «ускоренного старения» согласно ОФС. 1.1.0009.15 . Метод «ускоренного старения» заключается в выдерживании испытуемого препарата при температуре, превышающей температуру его хранения в процессе обращения (4). На основании методики ОФС. 1.1.0009.15 график выемки образцов был составлен таким образом, чтобы двухнедельный интервал реального времени хранения в условия повышенной температуры соответствовал одному году хранения в условиях холодильника.

Во всех опытных образцах было зафиксировано снижение БОЕ как непосредственно после лиофилизации, так и при экспериментальном хранении, соответствующем двум годам. Затем наблюдалась стабилизация значения БОЕ на протяжении длительного времени, соответствующего 7 годам хранения, в относительно равных параметрах ($3x10^6$ – $7x10^7$). Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Изменение титра монофага XII в течение срока экспериментального хранения (БОЕ/мл)

Срок хранения при повышенной темпера-туре	Временной промежуток, соответству-ющий сроку хранения при повышенной температуре	Варианты состава защитных сред				
		Пептон 10 % Желатин 1,5 % (стандарт)	Пептон 10 % Желатин 1,5 % Трегалоза 1 %	Пептон 10 % Желатин 1,5 % Сахароза 5 %	Пептон 10 % Желатин 1,5 % Тиомочевина 1,5 %	Пептон 10 % Желатин 1,5 % Глицин 2,5 %
1	2	3	4	5	6	7
1	2	3	4	5	6	7
	0 лет	$4,5x10^7$	$5x10^7$	$3x10^6$	$1x10^7$	$7x10^7$
30 дней	2 года	$5x10^6$	$3x10^6$	$3x10^5$	$3x10^6$	$1x10^6$
45 дней	3 года	$1x10^7$	$1x10^7$	$1,5x10^6$	$1,5x10^6$	$4x10^6$
60 дней	4 года	$8x10^6$	$3x10^6$	$5x10^6$	$1x10^6$	$1x10^7$
75 дней	5 лет	$6x10^6$	$6,6x10^6$	$3x10^6$	$2x10^6$	$7x10^6$
90 дней	6 лет	$3x10^6$	$5x10^6$	$1x10^6$	$2x10^6$	$6x10^6$
105 дней	7 лет	$7x10^6$	$4x10^6$	$2x10^6$	$2x10^6$	$3x10^6$
120 дней	8 лет	$2x10^7$	$1x10^7$	$1,5x10^6$	$1x10^6$	$2x10^5$

В соответствии с полученными данными, 7 лет – это тот экспериментальный срок хранения, на протяжении которого пять взятых в опыт вариантов защитных

сред обеспечили жизнеспособность фаговых частиц на уровне, позволяющем успешное дальнейшее воспроизводство бактериофага.

Для более достоверной и объективной оценки экспериментальных данных, в ходе опыта показывающих преимущественную схожесть эффективности защитных сред использовали инструменты математической статистики.

Непараметрический статистический U-критерий Манна-Уитни, использующийся для сравнения выраженности показателей в двух несвязных выборках по уровню какого-либо количественно измеренного признака, позволяет выявлять различия между малыми выборками.

Этот метод определяет, достаточно ли мала зона перекрещивающихся значений между двумя рядами. Чем меньше область перекрещивающихся значений, тем более вероятно, что различия достоверны.

Решение о достоверности различий, наблюдаемых между уровнем признака в рассматриваемых выборках, принимают на основании сравнения полученных эмпирического (*U*) и критического (*Uкр*) значений критерия Манна-Уитни.

Если *Uэмп* находится в зоне незначимости, то принимается гипотеза *H*0 об отсутствии различий. Если *Uэмп* находится в зоне значимости, то гипотеза об отсутствии различий H0 отклоняется и принимается гипотеза *H*1 о наличии различий. Если *Uэмп* находится в зоне неопределенности, то существует вероятность принятия ложного решения.

Обозначим гипотезы:

H0 при использовании двух различных вариантов сред стабилизации разница в их эффективности статистически не значима. Т.е. не имеет принципиального значение наличие дополнительных компонентов в составе среды. Защитная эффективность контроля и опыта одинаковая.

H1 при использовании двух различных вариантов сред стабилизации разница в их эффективности статистически значима. Таким образом, наличие дополнительных компонентов в составе обеспечивает увеличение сохранности бактериофага при лиофилизации и длительном хранении.

Расчет статистического U-критерия Манна-Уитни, который осуществлялся с помощью стандартного программного обеспечения, представлен в таблице.

Таблица 3 – Данные расчета статистического U-критерия Манна-Уитни

Сравниваемые со стандартным составом среды	*U эмп*	*Uкр*	Попадание в зону
Пептон 10 % Желатин 1,5 % Трегалоза 1 %	25,5	9-15	незначимости
Пептон 10 % Желатин 1,5 % Сахароза 5 %	9,5	9-15	неопределенности
Пептон 10 % Желатин 1,5 % Тиомочевина 1,5 %	6	9-15	значимости
Пептон 10 % Желатин 1,5 % Гликокол (глицин) 2,5 %	15,5	9-15	незначимости

Установлено:

- при сравнении стандартной среды и среды с добавлением трегалозы 1 % и стандартной среды и среды с добавлением глицина 2,5 % эмпирический U-критерий попадает в зону незначимости, т.е. наличие дополнительных компонентов в составе протективной среды не имеет принципиального значения;
- при сравнении стандартной среды и среды с добавлением сахарозы 5 % эмпирический U-критерий попадает в зону неопределенности. В этом случае существует вероятность принятия ложного решения, что требует дополнительных исследований;
- при сравнении стандарной среды со средой с добавлением тиомочевины 1,5 % эмпирический U-критерий попадает в зону значимости, т.е. наличие дополнительных компонентов в составе обеспечивает увеличение сохранности бактериофага при лиофилизации и длительном хранении.

Выводы:

1. Было изучено влияние различных композиций протективных сред на качество целевого продукта. Пять из шести рассматриваемых вариантов сред, позволили сохранить аналитические характеристики изучаемого объекта

(внешний вид, растворимость, pH, потеря в массе при высушивании, количество фаговых частиц) на уровне, соответствующим требованиям, предъявляемым к коммерческим диагностическим холерным бактериофагам.

2. При сравнении эффективности протективных сред инструментами математической статистики выявлена сопоставимая защитная эффективность пептон-желатиновой среды и среды с добавлением тиомочевины 1,5 %.

3. Совокупность экспериментальных и статистических данных позволяет рекомендовать пептон-желатиновую среду и среды с добавлением либо тиомочевины 1,5 %, либо трегалозы 1 %, либо сахарозы 5 % для лиофилизации шток-культур монофагов в производственных целях.

Список источников

1. Харитонова И. Изучение качественных характеристик концентратов лактобактерий в процессе криозамораживания и сублимационной сушки / И. Харитонова, А.Ю. Просеков, М.И. Шрамко // Вестник Северо-Кавазского федерального университета. – 2015. - № 2(47). – с.87-90.

2. Комиссаров А.В. Лиофилизация живых вакцин / Комиссаров А.В., Бибиков Д.Н., Волох О.А., Бадарин С.А., Синицына Н.В., Костылева Н.И., Германчук В.Г., Никифоров А.К. // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. - 2018. - Т. 14. № 3.- С. 56-73.

3. А.П. Семакова Стабилизация путем лиофилизации иммуногенных антигенов Bacillus anthracis в составе прототипа рекомбинантной вакцины против сибирской язвы / Семакова А.П., Кудрявцева О.М., Попова П.Ю., Комиссаров А.В., Микшис Н.И. / Биотехнология. 2017. Т. 33. № 3. С. 57-65.

4. Общая фармакопейная статья 1.1.0009.15. Стабильность и сроки годности лекарственных средств. Государственная фармакопея Российской Федерации. Изд. XIII.

5. Большев Л. Н., Смирнов Н. В., Таблицы математической статистики. – М: Наука. Главная редакция физико-математической литературы, 1983. – 416 с.

© Гумаюнова К. С., Зинина О. С., Овчинникова М. В., 2024

Научная статья
УДК 619:615.33:636.91

Особенности производства антирабической вакцины

Полина Максимовна Густова, Кристина Сергеевна Баслакова, Юлия Викторовна Степанова, Ирина Михайловна Семенова, Константин Александрович Иванищев
Рязанский государственный агротехнологический университет имени П. А. Костычева,
г. Рязань

Аннотация. Статья содержит краткую актуальную информацию по производству вакцин от вируса бешенства на территории Российской Федерации.
Ключевые слова: вирус, вирус бешенства, вакцина, производство

Features of Anti-Rabies Vaccine Production

Polina M. Gustova, Kristina S. Baslakova, Julia V. Stepanova, Irina M. Semyonova, Konstantin A. Ivanischev
Ryazan State Agrotechnological University named after P. A. Kostychev, Ryazan

Abstract. The article provides a brief overview of the current information on the production of rabies vaccine in the territory of the Russian Federation.
Keywords: virus, rabies virus, vaccine, production

Несмотря на общую положительную динамику в борьбе с вирусными инфекциями целый ряд заболеваний до сих пор остается тяжело поддающимся лечению, сложно профилактируемым или вовсе неизлечимым с высоким процентом летальности. К последней категории относят вирус бешенства.

Вирус в таксономической системе относится к порядку Mononegavirales, семейству Rhabdoviridae, куда помимо него входит еще большое количество вирусом, но наиболее патогенным и опасным является именно возбудитель бешенства животных и человека – virus rabies или rabies lyssavirus. Условно вирус делят на две формы: уличный, его же называют патогенным – он непосредственно вызывает инфекционное заболевание; и фиксированную форму, полученную в 1880 г. Л. Пастером, Э. Ру и Ш. Шамберланом, которую в дальнейшем использовали для получения самой первой вакцины.

Данное заболевание распространено повсеместно и охватывает практически все географические широты. Инфекция повсеместно поражает всех теплокровных животных, имеющих слюнные железы. Основным способом передачи является укус животного, больного бешенством, в чьей слюне непосредственно находится возбудитель. Наибольший процент заражения

приходится на страны Америки (до 42,5 %), Африки и Южной Азии (до 22 %), на территории Российской Федерации ежегодно обращаются около 300 тысяч человек, предполагающих у себя инфицирование вирусом бешенства. Наиболее неблагоприятными регионами считаются Республика Татарстан, Тверская область, Ярославская область, Тульская область.

Вирус является нейтропным, локализуется в нервной системе, вызывая дегенерацию нейроцитов головного и спинного мозга, что приводит к летальному исходу в 99 % случаев при проявлении первых клинических признаков заболевания (гидрофобия и светофобия, слабость, бессоница, беспокойство и др.). На данный момент не существует способа полного излечения на стадии проявления клинических признаков, единственный действенный способ уберечь животных от заражения – предварительная иммунизация вакцинами.

Для иммунизации животных используются инактивированные антирабические вакцины. Для получения вакцин используется большое количество способов, наиболее частым является метод с использованием культур клеток с последующей инактивацией и лиофилизацией.

Антирабическая сухая культуральная вакцина из штамма Щелково – 51 (Рабиков) (рис. 1) является наиболее эффективной и достаточно часто применяется в ветеринарии на данный момент. В основе ее изготовления – метод перевиваемых культур клеток, главная особенность которой состоит в ее предполагаемых онкогенных свойствах. Для культивирования используют штамм ТС – 80 – это вакцинный штамм, для культивации которого применяется роллерный метод и клетки почки сайги в среде, не содержащей сыворотки, активность которой составляет 7,5 – 8,0 $lg_{\text{МЛД}}$50мл. Посадочная концентрация при этом варьируется от 120 до 130 тыс.кл/мл. Монослой создается в роллерных бутылях в виде круга, для питания культуры используется среда Игла (смесь неорганических солей, аминокислот и витаминов, глюкозы и красителя (феноловый красный), прошедшая стерилизацию фильтрованием, без антибиотиков). Среднее время формирования монослоя составляет от 40 до 48 часов при температуре около 37 градусов, показатель кислотно – щелочного баланса pH варьирует от 7,3 до 7,4. Заражение клеток происходит при помощи упомянутого выше штамма ТС – 80 (выделенный из слюнной железы летучей мыши в Мексике путем адаптации штамма V - 319 к перевиваемой культуре клеток ВНК - 21). Тару, содержащую в себе культуру клеток вместе с вирусом замораживают последовательно несколько раз при температуре от -40 до -60 градусов с экспозицией выдержки в низкой температуре не менее суток, после чего размораживают при комнатной температуре. Инактивация вакцины проводится при помощи препарата, который имеет название А24, и содержит в себе 1,8,3,6–диэндометилен–1,3,6 и тетраазациклодеканом, около 24 часов, с учетом содержания в вирусном сырье не менее 0,15 % данного препарата. Для окончательной инактивации используют ГОА – гидроокись алюминия в концентрации до 2,5 % в самом препарате, после чего вакцину изготавливают в

жидком виде, но чаще подвергают лиофилизации – заморозке и дальнейшем помещении в вакуум для возгонки растворителя.

Данная вакцина применяется как для иммунизации собак, так и для иммунизации кошек.



Рисунок 1. Вакцина «Рабикан»

Для иммунизации кошек используется вакцина «Рабифел» (рис. 2), которая изготавливается из штамма ERA – СВ - 20М. Данный штамм получен из двух других штаммов:

1.ERA – штамм, полученный Рупрехтом и Ву в Центре контроля болезней методом обратной генетики;

2.SAD – штамм, выделенный из мозга собаки, полученный после 130 пассажей на белых лабораторных мышах.

Основной особенностью в производстве данного штамма являлось получение относительно стабильной формы с устойчиво высокой экспрессией гликопротеина в диапазоне от 500 до 2500 нг/мл, что по итогу проверялось в реакции иммуноферментного анализа. Данный вариант прошел дополнительную серию пассажей на культуре клеток типа ВНК-21 (культура клеток почки сирийского хомяка), после чего получил название ERA-СВ-20М.

Культивация проводится как на роллерном типе культуры клеток, так и на стационарном монослое. Для культивации используется упомянутый выше тип клеток ВНК - 21 (почка сирийского хомяка), также БСР (он же BSR), являющийся клоном культуры ВНК - 21, культура клеток Vero (на основе почки зеленой мартышки) и др. Для инактивации вируса используется β-пропиолактон в разведении 1: 4000.

Еще одной отличительной особенностью в производстве данной вакцины является добавление швейцарского гелевого адъюванта нового поколения «Abisco R - 100», который не содержит в своем составе соли алюминия или их соединения, что уменьшает риск развития саркомы у кошек.



Рисунок 2. Вакцина «Рабифел»

Таким образом, мы можем сказать, что в изготовлении каждой современной популярной на рынке ветеринарных препаратов вакцины есть ряд своих особенностей, обусловленных материальной базой лаборатории, вариантом используемого штамма и видом животного, для которого изготавливается препарат.

Список источников

1. Селимов М.А. Бешенство - М.: Медицина, 1978. - 336 с.
2. Kaur M, Garg R, Singh S, Bhatnagar R. Rabies vaccines: where dowe stand, where are we heading? Expert Rev Vaccines. 2015; 14(3): 369–81.
3. Всемирная организация здравоохранения: официальный сайт. – Москва. - URL: https://www.who.int/
4. Вишняков И.Ф., Никишин И.В., Недосеков В.В., Горшкова Т.Ф., Жестерев В.И., Шевченко А.А., Зуев В.В., Груздев К.Н. Инактивированная культуральная вакцина против бешенства животных // Ветеринария. - 1998.- № 6. - С.76-80.

©Густова П. М., 2023

Научная статья
УДК 620.3

Синтез наночастиц селена, стабилизированных мальтодекстрином с этиленгликолем

Полина Дмитриевна Демьяновская, Ярослав Борисович Древко, Софья Владимировна Горшунова, Борис Иванович Древко
Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова,
г. Саратов

Аннотация. Представлены результаты синтеза наночастиц селена, стабилизированных мальтодекстрином. Селен – является важнейшим микроэлементом в организме человека, поскольку играет роль антиоксиданта, противоракового агента, за счет своих специфических свойств стимулирует работу иммунной системы, обеспечивает нормальный рост клеток и обладает противовирусной активностью. Наночастицы являются перспективным поставщиком биологически активных веществ в организм животных и человека, а селен в свою очередь незаменим для жизнедеятельности млекопитающих.

Ключевые слова: наночастицы селена, мальтодекстрин, этиленгликоль, дзета-потенциал, дихлордиацетофенонилселенид

Synthesis of selenium nanoparticles stabilized with maltodextrin and ethylene glycol

Polina D. Demyanovskaya, Yaroslav B. Drevko, Sofya V. Gorshunova, Boris I. Drevko
Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov,
Saratov

Abstract. The results of the synthesis of selenium nanoparticles stabilized with maltodextrin are presented. Selenium is the most important trace element in the human body, since it plays the role of an antioxidant, an anti–cancer agent, due to its specific properties it stimulates the immune system, ensures normal cell growth and has antiviral activity. Nanoparticles are a promising supplier of biologically active substances to animals and humans, and selenium, in turn, is indispensable for the vital activity of mammals.

Keywords: selenium nanoparticles, maltodextrin, ethylene glycol, zeta potential, dichlorodiacetophenonyl selenide

Наночастицы селена обладают высокой фотопроводимостью, каталитическим действием в реакциях гидратации и окисления. Для синтеза

могут использоваться многие физические методы, такие как прямой физический процесс разложения из паровой фазы, гидротермальный процесс и ультразвуковое излучение. Наночастицы селена нашли применение во многих биомедицинских приложениях в качестве систем доставки лекарств и в качестве противораковых агентов [1-6].

Разработка технологии направленного синтеза наночастиц селена заданного размера осуществляется за счет использования синтезируемого дихлордиацетофенонилселенида, который отличается низкой термостабильностью и способностью поставлять элементарный селен в «мягких» условиях.

На получение наночастиц влияет выбор оптимальных условий для синтеза, и определение необходимой для стабилизации концентрации мальтодекстрина. Нами проводился синтез дихлордиацетофенонилселенида, как поставщика селена для наночастиц. Для получения раствора наночастиц, содержащего минимальное количество побочных поверхностно-активные вещества в качестве растворителя был использован этиленгликоль, т.к. сам этиленгликоль обладает свойствами ПАВ.

Для синтеза наночастиц селена в качестве селенсодержащего субстрата был выбран дихлордиацетофенонилселенида, в качестве адсорбента наночастиц селена – мальтодекстрин, а в качестве растворителей этиленгликоль и аммиак.

В стеклянной стерильной колбе смешивают 0,1 г дихлордиацетофенонилселенида, 0,5 г мальтодекстрина, 30 мл этиленгликоля и 50 мл аммиака. На водяной бане содержимое колбы доводим до 100 °С, охлаждаем и проводим анализ, а именно тонкослойную хроматографию - хроматографический метод, основанный на использовании тонкого слоя адсорбента в качестве неподвижной фазы. Полученный раствор исследовали методом ТСХ на наличие дихлордиацетофенонилселенида в результате было выявлено отсутствие последнего в растворе, а также методом динамического рассеивания света (ДРС) установили размер (Рисунок 1-3) и дзета-потенциал полученных наночастиц селена: 383,4 нм и -57,6 мВ.

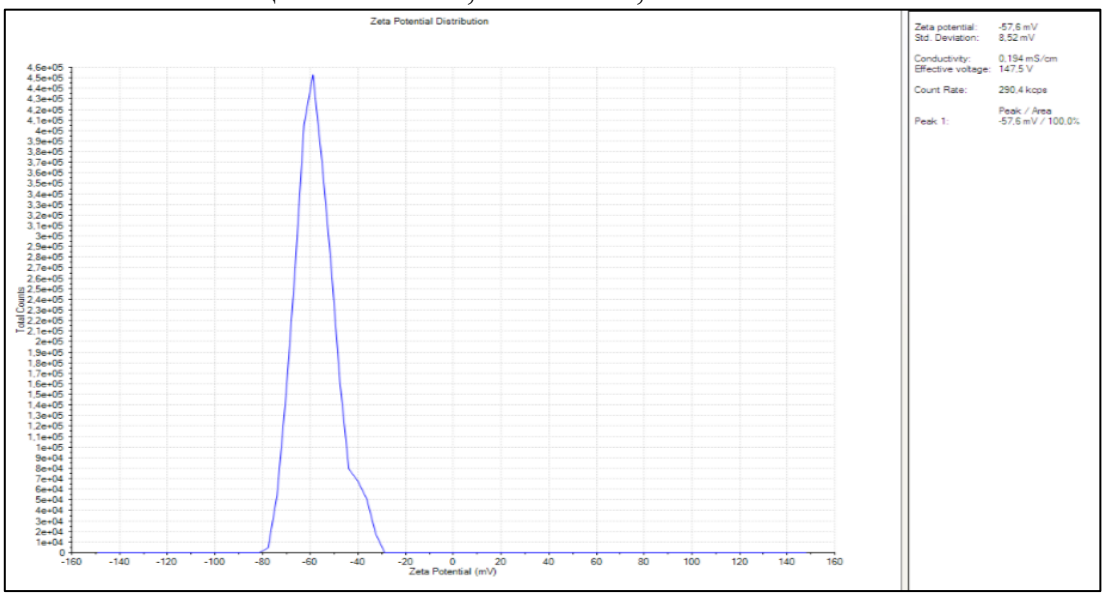


Рисунок 1. дзет-потенциал наночастиц селена

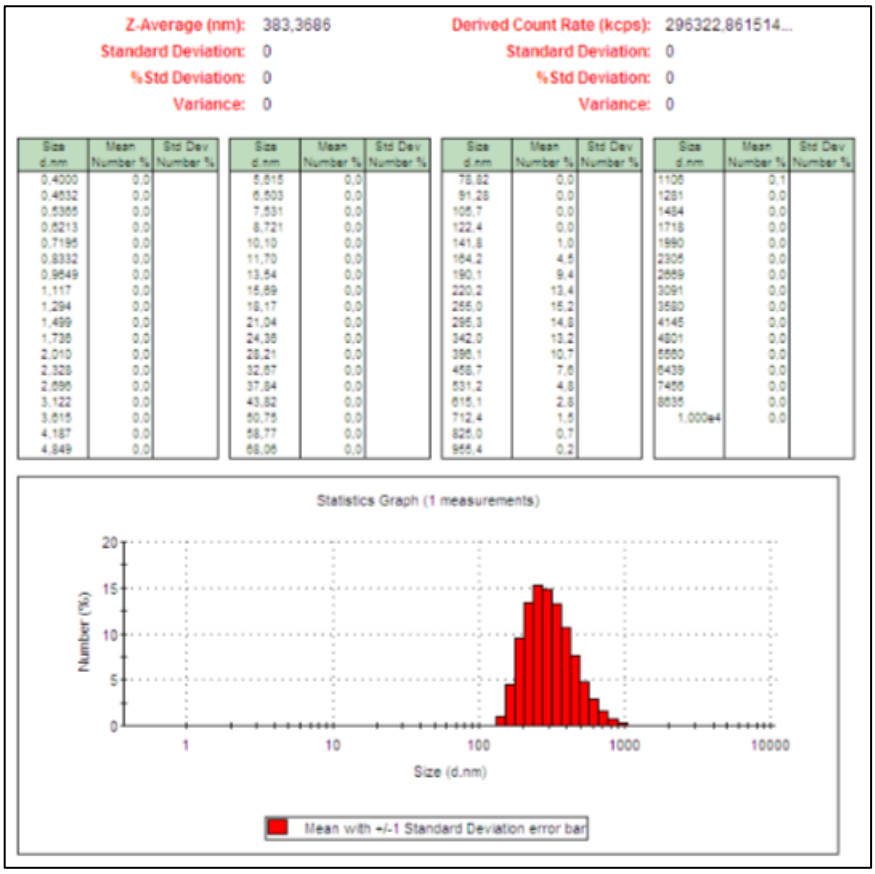


Рисунок 2. размер наночастиц селена

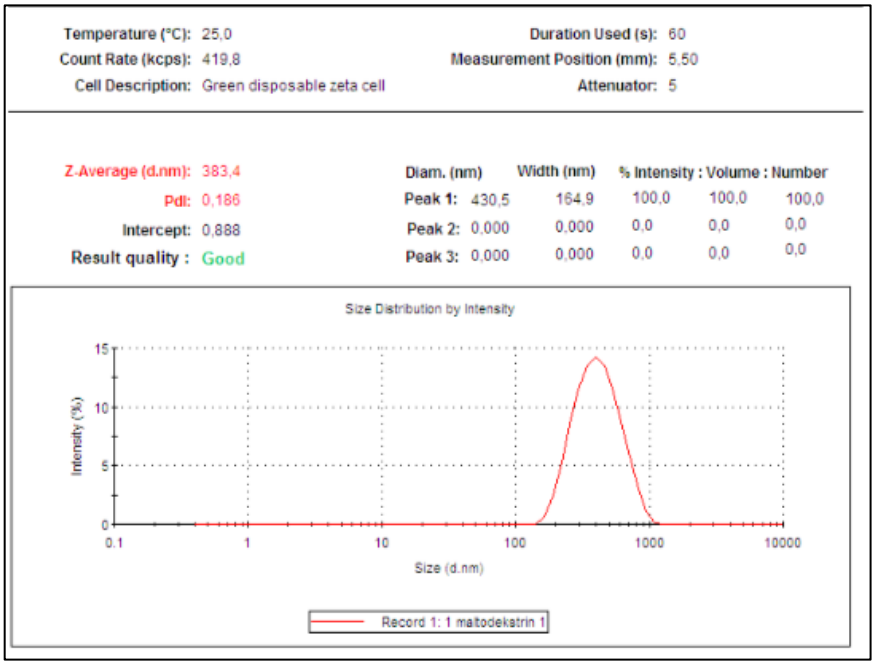


Рисунок 3. размер наночастиц селена

В рамках данного исследования нами был проведен синтез наночастиц селена, стабилизированных мальтодекстрином с этиленгликолем и определен

дзета-потенциал, который составил 383,4мВ, что свидетельствует о достаточно высокой стабильности наночастиц селена, так как коллоиды с высоким дзета-потенциалом являются электрически стабилизированными, а коллоиды с низким дзета-потенциалом склонны коагулировать или флокулировать. Таким образом, дальнейшие исследования и использование наночастиц селена могут позволить получать стабильные наночастицы селена с оптимальным и необходимым размером, которые могут найти применение в самых разных сферах: медицине, фармакологии, сельском хозяйстве. К тому же простота методики и относительно недорогая закупка данного вещества позволят расширить области применения селена как химического элемента.

Список источников

1. Margaret P Rayman. The importance of selenium to human health // The Lancet Journal, 2000.-Vol. 356, ISSUE 9225, P233-241. doi.org/10.1016/S0140-6736(00)02490-9.
2. Elnaggar, Y. S. R. et al. Novel Siwa propolis and colistin-integrated chitosan nanoparticles: Elaboration; in vitro and in vivo appraisal. Nanomedicine 15, 1269–1284 (2020).
3. Zhang, J. et al. Properties of selenium nanoparticles stabilized by Lycium barbarum polysaccharide-protein conjugates obtained with subcritical water. Int. J. Biol. Macromol. 205, 672–681 (2022).
4. Iqbal, M. S., Abbas, K. & Qadir, M. I. Synthesis, characterization and evaluation of biological properties of selenium nanoparticles from Solanum lycopersicum. Arab. J. Chem. 15, 103901 (2022).
5. Cui, D. et al. Green synthesis of selenium nanoparticles with extract of hawthorn fruit induced hepg2 cells apoptosis. Pharm Biol. 56, 528–534 (2018).
6. Li, H., Liu, D., Li, S. & Xue, C. Synthesis and cytotoxicity of selenium nanoparticles stabilized by α-D-glucan from Castanea mollissima Blume. Int. J. Biol. Macromol. 129, 818–826 (2019).

© Демьяновская П.Д., Древко Я.Б., Горшунова С.В., Древко Б.И., 2024

Научная статья
УДК 620.3

Полина Дмитриевна Демьяновская, Ярослав Борисович Древко, Софья Владимировна Горшунова, Борис Иванович Древко

Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова,
г. Саратов

Создание геля на основе метилурацила с использованием альгината натрия

Аннотация. Данное исследование посвящено разработке стабильных матриц на основе альгината кальция, для доставки биологически активных веществ, в частности метилурацила.

Ключевые слова: *гель, метилурацил, альгинат натрия, альгинат кальция*

Polina Dmitrievna Demyanovskaya, Yaroslav Borisovich, Sofya Vladimirovna Gorshunova, Boris Ivanovich Drevko

Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after
N.I. Vavilov,
Saratov

Creation of a gel based on methyluracil using sodium alginate

Annotation. This study is devoted to the development of stable calcium alginate-based matrices for the delivery of biologically active substances, in particular methyluracil.

Keywords: gel, methyluracil, sodium alginate, calcium alginate

В современной ветеринарии и медицине наблюдается нехватка эффективных ранозаживляющих средств, для решения данной проблемы возможно использование двух подходов: первое применение новых действующих веществ, второе усовершенствование методов доставки существующих веществ [1-4].

В рамках данного исследования проведена работа по созданию нового геля на основе альгината кальция, который получали в ходе реакции готового раствора действующих веществ с альгинатом натрия в с хлоридом кальция.

Данное исследование направлено на создание оптимальной рецептуры геля, который будет обладать рядом свойств: устойчивость, универсальность, антисептическое и ранозаживляющее действие.

Методика создания геля: на первом этапе смешиваем изопропиловый спирт с поверхностно-активным веществом ТВИН, который препятствует образованию комков в вязких текучих продуктах, затем добавляем альгинат

натрия (загуститель, стабилизатор) и воду. Доводим до температуры 50 °С и добавляем хлорид кальция для придания вязкости геля. И оставляем остывать.

В рамках данного исследования был определен дзета-потенциал частиц геля в концентрациях 0,1 мг/мл (Рисунок 1) и 1 мг/мл (Рисунок 2) и установлено, что при концентрации 0,1 мг/мл дзета-потенциал составил -11,9 мВ, а при концентрации 1 мг/мл равен -12,5.

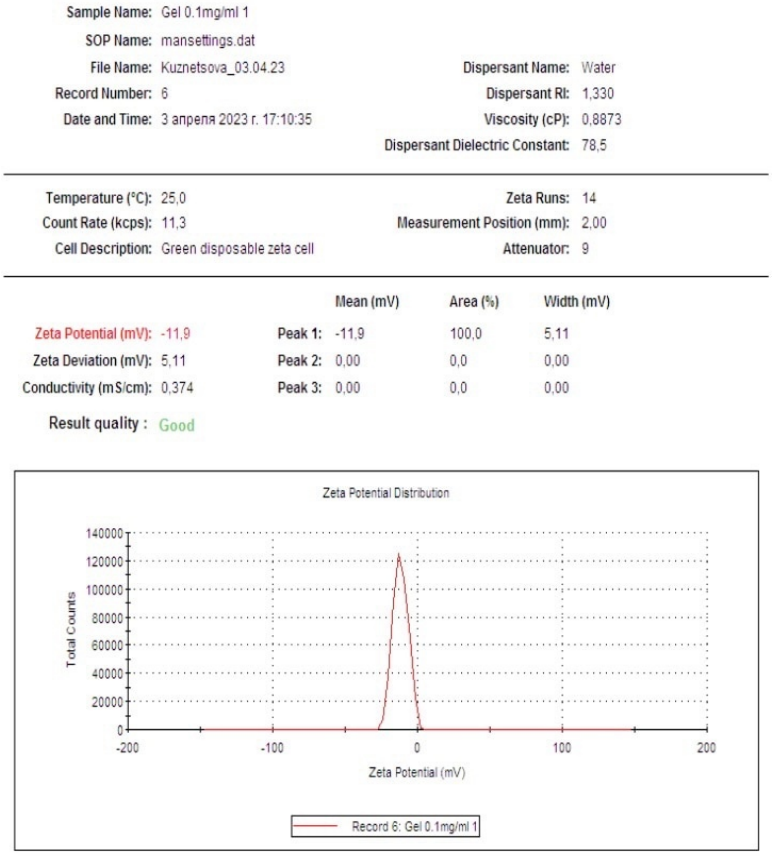


Рисунок 1. результаты анализа дзет-потенциала раствора геля в воде в концентрации 0,1 мг/мл

Sample Name: Gel 1mg/ml 1
SOP Name: mansettings.dat
File Name: Kuznetsova_03.04.23
Record Number: 9
Date and Time: 3 апреля 2023 г. 17:40:20
Dispersant Name: Water
Dispersant RI: 1,330
Viscosity (cP): 0,8871
Dispersant Dielectric Constant: 78,6

Temperature (°C): 25,0
Count Rate (kcps): 28,3
Cell Description: Green disposable zeta cell
Zeta Runs: 14
Measurement Position (mm): 2,00
Attenuator: 9

		Mean (mV)	Area (%)	Width (mV)
Zeta Potential (mV): -12,5	Peak 1:	-12,5	100,0	5,94
Zeta Deviation (mV): 5,94	Peak 2:	0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 1,01	Peak 3:	0,00	0,0	0,00

Result quality : Good

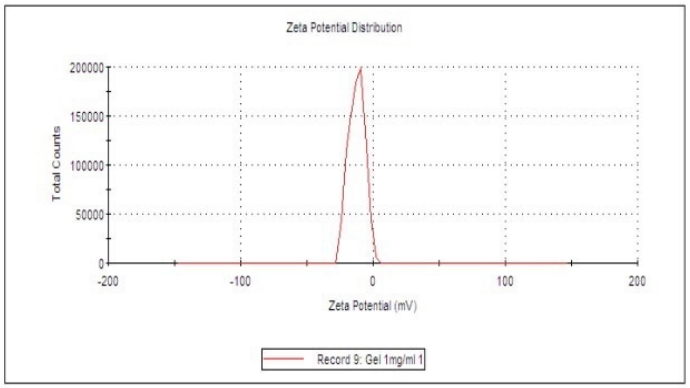


Рисунок 2. результаты анализа дзет-потенциала раствора геля в воде в концентрации 1 мг/мл

В рамках данной работы был определен дзета-потенциал, который составил для обоих концентраций -11,9 и -12,5 мВ, что свидетельствует о достаточно высокой стабильности частиц геля.

Список источников

1. Al-Saleh Iman, Billedo Grisellhi, El-Doush Inaam, El-Din Mohamed Gamal, Yosef Gamal. Selenium and vitamins status in Saudi children. // Clinica Chimica Acta, 2006.- Vol. 368.- N 1-2, P. 99-109.

2. Mugesh, G.; Singh, Harkesh B. Biological activities of synthetic organoselenium compounds: recent developments. // Proceedings of the National Academy of Sciences, India, Section A: Physical Sciences. 2000.- vol. 70 N 3, P. 207-220.

3. Yu-feng; Zhang Ying-mei; Wang Bing-lian; Long Jing; Huang De-jun; Liu Jiang-hai. Effect of selenium exposure on the immunological function in mice. // Huanjing Yu Zhiye Yixue,2006.- Vol. 23.-N 1, P.38-40.

4. Goenaga-Infante Heidi; Sargent Mike. Understanding the role of Se in health using mass spectrometry. // Spectroscopy Europe, 2005.- Vol. 17.- N 2, P. 6-14.

© Демьяновская П.Д., Древко Я.Б., Горшунова С.В., 2024

Научная статья
УДК 620.3

Полина Дмитриевна Демьяновская, Валерия Владимировна Кузнецова, Софья Владимировна Горшунова, Борис Иванович Древко, Ярослав Борисович Древко

Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова,
г. Саратов

Определение антимикробной активности наночастиц селена

Аннотация: представлены результаты определения антимикробной активности наночастиц селена в отношении *Ps. clororaphis*

Ключевые слова: наночастицы селена**,** алоэ, микроорганизмы, антимикробная активность

Determination of antimicrobial activity selenium nanoparticles

Demyanovskaya Polina Dmitrievna, Kuznetsova Valeria Vladimirovna, Gorshunova Sofya Vladimirovna, Drevko Boris Ivanovich, Drevko Yaroslav Borisovich

Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov,
Saratov

Abstract: the results of determination of antimicrobial activity of selenium nanoparticles in relation to *Ps. clororaphis*

Keywords: selenium nanoparticles, aloe, microorganisms, antimicrobial activity

В настоящее время люди пытаются найти все более новые методы применения наночастиц различных химических элементов, в особенности селена в различных отраслях промышленности. Данный микроэлемент особенно важен для нашего организма, поскольку играет роль антиоксиданта, противоракового агента, обладает противовирусной активностью и благотворно влияет на иммунитет. Цель нашего эксперимента исследовать способность наночастиц селена к антимикробной активности.

Так как на базе нашего университета занимаются выращиванием алоэ, обладающего различными полезными свойствами, то нами было принято решение проверить его антимикробную активность и сравнить ее с наночастицами селена, а также изучить их взаимодействие как друг с другом, так и с микроорганизмами.

В стерильную колбу добавляют порошкообразный питательный агар и дистиллированную воду. На водяной бане доводят до стадии кипения и остужают, постепенно помешивая. После этого прокаленной петлей собираем микроорганизмы с твердой питательной среды и добавляем в колбу с жидким агаром, повторяя данное действие и своевременно прокаливая петлю, а также прожигая колбу с питательной средой. Затем аккуратно разливают в чашки Петри и оставляем до стадии застудневания.

При помощи прокаленного сверла для пробок в агаре аккуратно вырезают несколько лунок, в которые наливают одну-две капли расплавленного и остуженного до 45° С агара для образования дна. Все чашки Петри подписывают в соответствии с разведениями в проводимом эксперименте. Затем в получившиеся углубления помещают различные разведения препарата. Чашки ставят в термостат на 20–24 час при температуре 37 °С. Степень чувствительности испытуемого микроба к препарату определяют по ширине зоны задержки роста с помощью специального измерительного прибора (линейка), выражаемой в миллиметрах или по концентрации вещества в том последнем разведении, которое еще в состоянии задерживать рост исследуемых микробов.

Приготовление разведений наночастиц селена: в стерилизованные пенициллинницы с помощью специального фильтра и пипет -дозатора добавляем физ. раствор и наночастицы селена.

Приготовление разведений алоэ: в стерилизованные пенициллинницы с помощью специального фильтра и пипет -дозатора добавляем физ. раствор и алоэ в виде сухого измельченного порошка.

Перечисленные выше разведения представлены в следующей таблице:

Таблица 1 – растворы для микробиологических исследований

Образец	Состав	Концентрация
1	0.1 г алоэ + 10 мл ф.р.	10 мг/мл
2	0.1 г нан. сел. + 10 мл ф.р	10 мг/мл
3	1 мл (1) + 9 мл ф.р	1 мг/мл
4	1 мл (2) + 9 мл ф.р.	1 мг/мл
5	1 мл (3) + 9 мл ф.р.	0.1 мг/мл
6	1 мл (4) + 9 мл ф.р.	0.1 мг/мл
7	1 мл (5) + 9 мл ф.р.	0.01 мг/мл
8	1 мл (6) + 9 мл ф.р.	0.01 мг/мл
9	0.1 г алоэ + 0.1 г нан.сел.+ 10 мл ф.р.	10 мг/мл
10	1 мл (9) + 9 мл ф.р.	1 мг/мл
11	1 мл (10) + 9 мл ф.р.	0.1 мг/мл
12	1 мл (11) + 9 мл ф.р.	0.01 мг/мл

*нан.сел – наночастицы селена

*ф.р. – физ. раствор

После проведения опыта нами получены следующие результаты, которые вы можете наблюдать ниже. Каждая лунка была тщательно изучена. Также произведен анализ и оценка каждой из чашек Петри. При этом соблюдены все меры санитарной безопасности и технических норм по эксплуатации микробиологического бокса. Каждый участник эксперимента был экипирован в халат, перчатки, чепчик и бахилы, во избежание попадания на участки тела испытуемого материала и микроорганизмов. По окончании исследования была проведена дезинфекция рук, а также стерилизация микробиологического бокса и лаборатории в целом.

На основе полученных данных можно сделать вывод о том, что в лунках 2. 6, 4, 7 и 5 наблюдается наибольшая антимикробная активность, три из которых содержат наночастицы селена в различных концентрациях. Из этого следует, что алоэ обладает наименьшим антимикробным действием по сравнению с наночастицами селена.

В лунках 9 и 10 наблюдается высокий рост колоний микроорганизмов рода Ps. clororaphis. Из этого можно сделать вывод о том, что взаимодействие алоэ и наночастиц селена снижает антимикробную активность.

Вывод: дальнейшие исследования и использование наночастиц селена в качестве антибактериального агента являются хорошей альтернативой для замены дорогостоящих зарубежных препаратов фармакологии. К тому же простота методики и относительно недорогая закупка данного вещества позволят расширить области применения селена как химического элемента.

На данный момент в России зарегистрировано около 40 фармацевтических препаратов, содержащих в своем составе селен.

Список источников

1. Al-Saleh Iman, Billedo Grisellhi, El-Doush Inaam, El-Din Mohamed Gamal, Yosef Gamal. Selenium and vitamins status in Saudi children. // Clinica Chimica Acta, 2006.- Vol. 368.- N 1-2, P. 99-109.

2. Mugesh, G.; Singh, Harkesh B. Biological activities of synthetic organoselenium compounds: recent developments. // Proceedings of the National Academy of Sciences, India, Section A: Physical Sciences. 2000.- vol. 70 N 3, P. 207-220.

3. Skorinova K. D., Kuzmenko V. V., Vasilenko I. A., /The Prospect of Creating Medicines Based on Selenium Nanoparticles -2020

4. Ogata, K., et al., Molecular epidemiological study of community-acquired methicillin-resistant staphylococcus aureus (CA-MRSA) - an examination of commercially distributed meat as a possible vehicle for CA-MRSA. Journal of UOEH, 2014. 36(3): p. 179-90.

5. Куличенко Е.О., Поздняков Д.И., Темирбулатова А.М./ Исследование противовоспалительной активности сока алоэ

вера // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2023. №2. Публикация 3-8

6. Бин Тянь, Юэ-цзинь Хуа, Сяо-цюн Ма, Гуань-линь Ван/ Взаимосвязь между антибактериальной активностью алоэ и его антахиноновых соединений

7. Приходченко Т.Р. Акентьева Н.П. Немирова Е.С Гизатуллин А.Р. Шкондина Н.И/ Изучение противоопухолевой активности растительных экстрактов (Kalanchoe daigremontiana, Aloe arborescens) на клетках множественной миеломы

8. Аракелян, И. Г., А. М. Магомедкеримова, И. Ф. Прасолова. / Изучение антимикробных свойств различных растений / Текст : непосредственный // Молодой ученый. — 2022. — № 27 (422). — С. 201-204. — URL: https://moluch.ru/archive/422/93893/

9. Сизикова Е.А., Сорокина Д.А. / Изучение химических свойств алоэ

10. Fernando Martínez-Esquivias 1, Juan Manuel Guzmán-Flores, Alejandro Pérez-Larios, Napoleón González Silva/ A Review of the Antimicrobial Activity of Selenium Nanoparticles

11. Ирина Александровна Шурыгина, Наталья Николаевна Дремина, Ирина Сергеевна Трухан, Михаил Геннадьевич Шурыгин / СЕЛЕН В НАНОФОРМЕ: ТОКСИЧНОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ

12. Лесничая М.В., Малышева С.Ф., Белогорлова Н.А., Граскова И.А., Газизова А.В., Перфильева А.И., Ножкина О.А., Сухов Б.Г./ Синтез и антимикробная активность арабиногалактан-стабилизированных наночастиц селена из бис(2-фенилэтил)диселенофосфината натрия

13. Ю. В. Рябова, М. П. Сутункова, А. И. Чемезов, И. А. Минигалиева, Т. В. Бушуева, И. Г. Шеломенцев, С. В. Клинова/ Оценка влияния на биоэнергетические процессы клеток наночастиц селена как фактора химического риска производственной и окружающей среды для здоровья

© Демьяновская П.Д., Кузнецова В.В., Древко Я.Б., Горшунова С.В., Древко Б.И., 2024

Научная статья
УДК 638.12

Способ оценки состояние пасеки по поведению пчел

Ульяна Алексеевна Дыдыкина, Елена Анатольевна Зыкина
Пензенский государственный аграрный университет
г. Пенза

Аннотация. В статье рассмотрены способы оценки состояния пасеки по поведению пчел.
Ключевые слова: пчеловодство, пчелосемья, медоносная пчела, поведение пчел, пасека

A way to assess the state of the apiary by the behavior of bees

Ulyana A. Dydykina, Elena A. Zykina
Penza State Agrarian University
Penza

Annotation. The article discusses ways to assess the state of the apiary by the behavior of bees.
Keywords: beekeeping, bee colonies, honey bee, bee behavior, apiary

Пчеловодство - одно из древнейших занятий человека, являющихся отраслью сельского хозяйства и дающих человечеству продукты: мед, пыльцу, пергу, воск, прополис и т.д. Все продукты пчеловодства обладают неоспоримой пользой для здоровья человека и имеют в своем составе незаменимые для организма компоненты, поддерживающие иммунитет [1].

Конечно же, без медоносной пчелы такие продукты были бы недоступны для человека.

Медоносная пчела - вид насекомых из отряда перепончатокрылых по праву, занимающих вершину эволюции. Пчелиная семья считается бессмертной, так как с помощью инстинктов способна поддерживать свое существование автономно, без вмешательства человека на бессознательном уровне. В том смысле, что каждая группа особей (матка, рабочие пчелы, трутни) выполняет свои собственные обязанности, способствующие жизни всей семьи – сверхорганизма. Именно это обуславливает общественный строй жизни медоносной пчелы как вида на Земле [4].

Развитие отрасли пчеловодства на современном этапе является актуальным и требует разработки новых методов и инструментов управления, перехода к цифровизации и модернизации ведения пасечных работ вне зависимости от типа хозяйства [6].

В последнее время стало модным использовать на пасеках системы регулирования микроклимата по типу «Умный дома» только стали называть их «Умный улей». Суть данных систем заключается в монтаже в улей разработки, состоящей из датчика движения, весов, датчиков по определению температуры и влажности для того, чтобы регулировать состояние микроклимата [7].

Считается, что применение в данных разработках датчиков температуры и влажности нецелесообразно по причине их неоправданной пользы, так как пчелы сами способны контролировать микроклимат в своем жилье и в случае его изменения самостоятельно вносить коррективы.

Еще со времен, когда пчеловодство представляло собой сбор меда диких пчел, люди стали интересоваться их поведением, это стало основой зарождения этологии медоносных пчел [2].

Исходя из того, что медоносные пчелы имеют свои поведенческие реакции их можно использовать как индикатор благополучия при разведении без использования данных, полученных с датчиков.

В связи с этим считается актуальным разработка систем мониторинга поведения пчел на основе искусственного интеллекта, что позволит визуально, используя информацию с видеокамер и динамиков судить о состоянии и продуктивности пчелосемьи.

Например, при повышении температуры пчелы могут вентилировать гнездо (совершать движения крылышками, что способствуют перемещению воздуха), приносить и испарять в улье воду. За счет испарения воды и усиления вентиляции снижается температура внутри гнезда. В жару, если такие усилия пчел не дают необходимого результата, большая часть их покидает соты. Они выходят наружу улья, где сосредотачиваются в зоне летка, чаще на прилетной доске или под днищем улья. Так пчелы снижают температуру своего тела и усиливают вентилирование внутри гнезда. Из-за того, что растения в жаркую погоду не выделяют нектара, пчелы сокращают, а затем и вовсе прекращают полеты. Жара и отсутствие медосбора усиливают агрессивность у пчел [9].

Кроме того, по поведению нехарактерному для пчел можно диагностировать развивающиеся болезни, вредителей пчел, нарушений в технологии их содержания, плохое качество применяемых кормов, а также неблагоприятное воздействие экология, агроэкология и в первую очередь отравление пчел пестицидами. В таком случае пчелы ведут себя беспокойно, шумно, агрессивно, то есть не свойственно их природе.

Если пчелосемья болеет или отравлена, то погибают ее особи. Для этого характерно присутствие на прилетной доске мертвого расплода или взрослых пчел.

Во время обильного взятка пчелы увеличивают количество полетов и их частоту, а во время снижения выделения растениями нектара сокращают.

Во время подготовки к роению пчелы минимально работоспособны, находятся в улье в ожидании сигнала о роении, практически не совершают полетов в поисках нектара. Также в это время можно услышать «пение молодых маток», что также предшествует роению.

Пчелы настолько умные и организованные животные, что имеют свой язык для обеспечения коммуникативной системы между особями. Благодаря немецкому ученому Карлу фону Фришу стало известно, что пчелы - сборщицы нектара и пыльцы с помощью своеобразного «танца» передают информацию о месте нахождения обильно цветущих медоносов. Это позволяет особям одной пчелосемьи собирать нектар и пыльцу организованно и своевременно, чтобы обеспечить жизнь целой семьи [5].

Во время отсутствия обильного взятка, на пасеках может развиваться воровство, что в первую очередь затрагивает слабые по силе пчелосемьи. Их могут попросту уничтожить, разоряя их пищевые запасы. Но существует и другой исход событий, когда пчелосемье хватает сил защититься от нападa пчел из соседних ульев [8].

Все эти поведенческие реакции позволяют визуально диагностировать изменения в пчелосемье, диагностировать какие - либо заболевания, аномалии в развитии, что теоретически подтверждает эффективность использования систем для мониторинга поведения пчел [10].

В заключении можно отметить, что природа очень чувствительна на любые изменения. Поэтому все живые организмы и в том числе медоносные пчелы развили определенные поведенческие реакции, чтобы защитить себя от внешних воздействий. Благодаря этому они обладают защитными механизмами, которые помогают им выживать в изменяющихся условиях.

Следовательно, наблюдение за поведением пчел дает более положительные результаты, нежели применение датчиков микроклимата.

Внедрение на пасеки систем мониторинга поведения пчел на основе искусственного интеллекта позволят в значительной мере понизить трудозатраты пчеловодов, сократить его время пребывания на пасеке и повысить рентабельность пасеки.

Список источников

1. Галиев, А. И. Продукты пчеловодства и их польза / А. И. Галиев // В мире научных открытий: Материалы VI Международной студенческой научной конференции, Ульяновск, 24–25 мая 2022 года. – Ульяновск: Ульяновский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина, 2022. – С. 551-554.

2. Демидион, Е. А. История развития пчеловодства / Е. А. Демидион // Инновационные идеи молодых исследователей для агропромышленного комплекса: Сборник материалов Международной научно-практической конференции молодых ученых, Пенза, 24–26 марта 2021 года. Том II. – Пенза: Пензенский государственный аграрный университет, 2021. – С. 122-124.

3. Козин, Р. Б. Биология медоносной пчелы: учебное пособие / Р. Б. Козин, В. И. Лебедев, Н. В. Иренкова. — Санкт-Петербург: Лань, 2022. — 320 с.

4. Карцев, В. М. Общественные насекомые: новая концепция жизни / В. М. Карцев // Отечественные записки. – 2013. – № 5(56). – С. 119-134.

5. Хвалова, Е. А. Проблемы изучения коммуникативных систем животных в современной науке / Е. А. Хвалова, А. К. Тетюхина, Л. С. Харьговская // Реклама,

PR и медиа: современное состояние и перспективы развития: Сборник статей международной научно-практической конференции, Санкт-Петербург, 24–25 марта 2022 года. – Санкт-Петербург: Центр научно-производственных технологий "Астерион", 2022. – С. 231-235.

6. Мирошин, Е. В. Современные технологии точного пчеловодства в условиях цифровизации / Е. В. Мирошин, И. Ю. Резниченко // Актуальные вопросы переработки и формирование качества продукции АПК: Материалы II Международной научной конференции, Красноярск, 15 декабря 2022 года / Отв. за выпуск А.В. Коломейцев, Е.А. Речкина. – Красноярск: Красноярский государственный аграрный университет, 2023. С. 89-90.

7. Встраиваемая система удаленного мониторинга состояния пасеки / В. Г. Рыбин, Д. О. Пестерев, Е. Е. Копец, А. В. Тутуева // Технологии и технические средства механизированного производства продукции растениеводства и животноводства. – 2018. – № 97. – С. 12-19.

8. Рязанова, Г. И. Поведение насекомых: учебное пособие / Г. И. Рязанова; Редактор Е.А. Певак. – Москва: Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 2014. – 232 с.

9. Еськов, Е. К. Адаптация медоносной пчелы к среде обитания / Е. К. Еськов // Современные проблемы пчеловодства: I международная научно-практическая конференция по пчеловодству в Чеченской Республике, Грозный, 15–18 мая 2017 года. – Грозный: Чеченский государственный университет, 2017. – С. 82-87.

10. Еськов, Е. К. Адаптация медоносной пчелы к среде обитания / Е. К. Еськов // Современные проблемы пчеловодства: I международная научно-практическая конференция по пчеловодству в Чеченской Республике, Грозный, 15–18 мая 2017 года. – Грозный: Чеченский государственный университет, 2017. – С. 82-87.

©Дыдыкина У. А., Зыкина Е. А., 2024

Научная статья
УДК 636.4

Биотехнологические способы осеменения свиней

Елена Анатольевна Зыкина
Пензенский государственный аграрный университет
г. Пенза

Аннотация. В статье рассмотрены биотехнологические способы искусственного осеменения свиней, выявлены их основные преимущества и недостатки.

Ключевые слова: искусственное осеменение, свиньи, семя, катетер, внутриматочное осеменение

Biotechnological methods of pig insemination

Elena A. Zykina
Penza State Agrarian University
Penza

Annotation. The article discusses the main methods of artificial insemination of pigs, identifies their main advantages and disadvantages.

Keywords: artificial insemination, pigs, semen, catheter, intrauterine insemination

В настоящее время в условиях интенсивного развития животноводства биотехнология искусственного осеменения, как прогрессивный способ размножения, приобретает всё большее значение [1].

В настоящее время искусственное осеменение свиней широко практикуется во многих странах мира, а в промышленном свиноводстве оно фактически является основным методом репродукции свиней [2].

С биологической точки зрения естественная случка и искусственное осеменение не отличаются друг от друга. Однако искусственное осеменение имеет множество преимуществ перед естественной случкой.

Эта технология позволяет более интенсивно использовать для получения потомства высокоценных хряков-производителей. От одного хряка-производителя можно получать за год до 2000 доз спермы, осеменять до 800–1000 свиноматок и получать от них до 10 тыс. поросят. Данная технология позволяет также существенно минимизировать распространение инфекционных заболеваний, передаваемых половым путем или через сперму [2].

Существует два способа осеменения свиней фракционный и нефракционный.

Фракционный способ осеменения проводят при помощи универсального зонда УЗК-5. При данном способе в половые органы свиноматок сначала вводится неразбавленная или слегка разбавленная сперма в объеме 40–50 мл

(первая фракция), а затем разбавитель (вторая фракция), после этого в матку накачивают воздух (третья фракция). который проталкивает сперму в матке ближе к яйцеводам. Через 25–30 с катетер медленно извлекают. Сперму и разбавитель вводят подогретыми до 35 ºС [3].

Фракционный способ осеменения широко применялся в СССР в 60-х гг. прошлого столетия. В настоящее время он практически не применяется и имеет лишь историческое значение.

При нефракционном способе осеменения используется только разбавленная сперма, которая вводится в канал шейки матки или непосредственно в тело/рога матки при помощи специальных инструментов.

Нефракционный способ осеменения в свою очередь разделяется на два метода: интрацервикальный и трансцервикальный.

Интрацервикальный метод введения спермы (вагинальный) – традиционный метод осеменения свиней в России. При данном методе для введения спермы используется очень простой и удобный прибор ПОС-5, который состоит из полиэтиленового градуированного флакона с пробкой и катетера. На переднем конце катетера имеется оливкообразное расширение, на заднем конце соединительная муфта. Флакон прибора ПОС-5 заполняют разбавленной спермой и закрывают пробкой. Перед осеменением к флакону привинчивают стерильный катетер. Катетер вводят во влагалище свиньи до упора в шейку матки, узкую часть, соединяющую влагалище и матку. Флакон при этом остается опущенным вниз. После введения катетера флакон переворачивают вверх дном, поднимают выше спины свиноматки и держат в таком положении 5–7 мин. Сперма поступает самотеком и засасывается в матку, чему способствуют ее антиперистальтические сокращения. В отдельных случаях флакон слегка сдавливают. Если же сперма начинает вытекать наружу, давление на флакон прекращают до очередного расслабления матки. Завершив осеменение, катетер осторожно вынимают и кратковременно массируют вульву. Прибор ПОС-5 после использования промывают дезинфицирующим раствором, прополаскивают водопроводной, а затем дистиллированной водой [3,4].

В настоящее время для осеменения нефракционным методом рекомендуемая доза для осеменения 100 – 150 мл спермы [4].

Также существует еще один нефракционный метод осеменения свиней - осеменение без помощи рук. При этом методе осеменения можно использовать одноразовые инструменты зарубежного производства: цветные флаконы на 80–100 мл и цервикальные катетеры разных модификаций. Чтобы избежать попадания в отверстие мочевого канала, катетер вводят во влагалище под углом 450 и направляют вперед до упора, пока его кончик не войдет в канал шейки матки. При этом катетеры со штопоровидным кончиком прокручивают против часовой стрелки. Ротация катетера обеспечивает сцепления его штопоровидного кончика со складками цервикального канала. После введения и фиксации кончика катетера в канале шейки к нему присоединяют флакон со спермой. Чтобы сперма поступала в матку самотеком, флакон со спермой поднимают выше

уровня животного вверх дном и удерживают в таком положении при помощи специального устройства [3,4,5].

Интрацервикальный метод осеменения имеет ряд недостатков, в частности используется большой объём семени для осеменения, потеря спермы из-за вытекания, много времени тратится на одну свиноматку, осеменение длится 3-10 минут, в связи с тем, что семя вводится очень медленно, чтобы не было ее вытекания [4,5].

Наиболее эффективным сейчас в мире признан внутриматочный (трансцервикальный) метод искусственного осеменения свиноматок. Внутриматочный метод осеменения позволяет более рационально использовать сперму и увеличивать процент оплодотворения свиноматок [5,6].

Внутриматочный метод осеменения свиноматок появился в Европе достаточно давно, порядка 10 лет назад. В странах Запада и северной части Европы этот метод успешно практикуется, особенно это касается мировых лидеров по производству свиней (Дания, Германия) [7]. В России все современные комплексы также стали переходить на данный метод осеменения свиней. Переход на трансцервикальный (внутриматочный) метод связан с тем, что такое осеменение максимально приближено к естественному процессу осеменения и отвечает всем требованиям гигиены. Его суть заключается во введении разбавленной спермы хряка непосредственно в матку свиньи через зонд по каналу катетера, что значительно сокращает путь сперматозоидов до яйцеклеток. При этом зонд может быть введен только через шейку матки, которая находится в состоянии половой охоты [7,8].

При внутриматочном методе помимо обычного катетера в полость тела матки вводится катетер-вставка, а семя через него попадает непосредственно в тело матки, доставляя спермии уже до места назначения. Техника внутриматочного осеменения позволяет использовать значительно меньшее количество спермы, так как доставляется в полость матки с помощью длинной канюли. Для благоприятного осеменения этим методом достаточно 30 мл, а количество сперматозоидов 1 млрд, что дает возможность экономить семенной материал. Время проведения манипуляции составляет примерно 10 секунд, в результате чего оператор может осеменить на 40 % больше свиноматок [9,10].

Таким образом, использование в хозяйстве внутриматочного осеменения свиней является экономически обоснованным решением, так как данный метод позволяет увеличить количество доз в одном эякуляте, повысить процент оплодотворяемости свиноматок и сократить время осеменения. При этом процесс искусственного осеменения прост, максимально эффективен и обеспечивает соблюдение всех требований ветеринарной санитарии. Применение внутриматочного метода искусственного осеменения свиноматок способствует повышению рентабельности предприятия.

Список источников

Частная зоотехния / Ю. А. Колосов, В. В. Абонеев, Ю. А. Юлдашбаев [и др.]. — 2-е изд., стер. — Санкт-Петербург: Лань, 2023. — 460 с.

Дюльгер, Г. П. Физиология и биотехника размножения животных. Курс лекций

/ Г. П. Дюльгер. — 3-е изд., стер. — Санкт-Петербург: Лань, 2023. — 256 с.

Организация и технология проведения искусственного осеменения свиноматок / О. В. Чепуштанова, Л. С. Полуяктова, Л. В. Ширяева, О. А. Тырышкина // Вестник биотехнологии. – 2016. – № 1(7). – С. 7.

Воспроизводительные качества свиноматок при внутриматочном способе осеменения / А. И. Будевич, Е. И. Линкевич, Т. В. Зубова [и др.] // Зоотехническая наука Беларуси. – 2014. – Т. 49, № 1. – С. 25-32.

Некрасова, Л. В. Применение постцервикального способа осеменения в условиях промышленного комплекса / Л. В. Некрасова, А. А. Белый, С. В. Свистунов // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2023. – Т. 12, № 1. – С. 338-341.

Зыкина, Е. А. Технология откорма свиней в ООО «Черкизово-свиноводство» / Е. А. Зыкина // Инновационные технологии в зоотехнии и ветеринарии: Сборник статей V Всероссийской научно-практической конференции, Пенза, 08–09 июня 2023 года / Под научной редакцией А.И. Дарьина. – Пенза: Пензенский государственный аграрный университет, 2023. – С. 27-30.

Нарижный, А. Г. Влияние способов осеменения свиноматок на результативность их осеменения / А. Г. Нарижный, И. М. Онищук // Ветеринария. – 2010. – № 10. – С. 35-38.

Успешное и глубокое внутриматочное осеменение свиноматок // Перспективное свиноводство: теория и практика. – 2011. – № 2. – С. 7.

Спиричкин, В. И. Анализ технологий производства свинины / В. И. Спиричкин // Проблемы интенсивного развития животноводства и их решение, Брянск, 03–04 апреля 2023 года / Брянский государственный аграрный университет. – Брянск: Брянский государственный аграрный университет, 2023. – С. 264-268.

Величко, В. А. Повышение оплодотворяемости свиноматок с использованием постцервикального осеменения / В. А. Величко, Л. Ф. Величко, О. Н. Еременко // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2021. – № 166. – С. 43-52.

© Зыкина Е. А., 2024

Научная статья
УДК 579.842.23:616-097.3

Антитела к дезинтегрированным мембранам *Yersinia pseudotuberculosis* в дот-иммуноанализе с золотыми наночастицами

Сергей Владимирович Иващенко, Николай Александрович Саньков
Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии
и инженерии имени Н.И. Вавилова,
г. Саратов

Аннотация. Дезинтегрированные мембраны (ДМ) *Yersinia pseudotuberculosis* были использованы для получения гипериммунной сыворотки крови кролика. Полученная сыворотка была испытана в дот-иммуноанализе (ДИА) с различными сероварианта*ми Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*, а также со штаммами бактерий из других родов, родственных иерсиниям. Индикаторной системой в ДИА служил конъюгат белка А с золотыми наночастицами (ЗНЧ). Экспериментальная сыворотка к ДМ *Y. pseudotuberculosis* показала высокие титры антител в ДИА с клетками псевдотуберкулёзного микроба и обладала выраженной видовой специфичностью. Таким образом, сыворотка, полученная иммунизацией кроликов ДМ *Y. pseudotuberculosis*, может быть использована в дальнейшем для создания псевдотуберкулёзной дот-иммунотест-системы с ЗНЧ.

Ключевые слова: *Yersinia pseudotuberculosis*, дот-иммуноанализ, золотые наночастицы, дезинтегрированным мембраны, антитела

The possibility of using antibodies, resistance to cell wall antigens pseudotuberculous microbe, in dot-immunoassay

Sergei V. Ivaschenko, Nikolay A. Sankov
Saratov State University of genetics, biotechnology and engineering
named after N.I. Vavilova, Saratov

Abstract. Disintegrated membranes (DM) of *Yersinia pseudotuberculosis* were used to produce hyperimmune rabbit blood serum. The resulting serum was tested in dot-immunoassay (DIA) with various serovariants *Y. pseudotuberculosis* and *Y. enterocolitica*, as well as with strains of bacteria from other genera related to Yersinia. The indicator system in DIA was a conjugate of protein A with gold nanoparticles (GNP). The experimental serum for DM *Y. pseudotuberculosis* showed high antibody titers in DIA with cells of the pseudotuberculous microbe and had pronounced species specificity. Thus, the serum obtained by immunization of rabbits with DM *Y. pseudotuberculosis* can be used in the future to create a pseudotuberculous dot-immunotest system with GNP.

Key words: *Yersinia pseudotuberculosis*, dot-immunoassay, gold nanoparticles, disintegrated membranes, antibodies

Дот-иммуноанализ (ДИА) является несложным в постановке, малозатратным и надёжным методом лабораторной диагностики инфекционных заболеваний животных. Он может проводится с использованием золотых наночастиц (ЗНЧ) в качестве индикаторной системы. В настоящее время данный метод применяется для диагностики лептоспироза, листериоза, коровьей оспы, сальмонеллёза, СПИДа, стафилококкоза, токсоплазмоза, туберкулёза, шигеллёза, эхинококкоза, эшерихиоза и других инфекций [1, 2, 3, 4, 5, 6].

Гипериммунные сыворотки крови лабораторных животных, получаемые к дезинтегрированным мембранам (ДМ) *Yersinia pseudotuberculosis*, обладают значительной антительной активностью и видовой специфичностью [7]. Однако в ДИА для диагностики псевдотуберкулёза они использованы не были. Поэтому целью данного исследования является получение гипериммунной сыворотки крови кролика к ДМ *Y. pseudotuberculosis* с последующей оценкой возможности использования данной гипериммунной сыворотки в ДИА с конъюгатом ЗНЧ для индикации псевдотуберкулёзного микроба.

На первом этапе исследований мы получали ДМ *Y. pseudotuberculosis.* Для этого отмытые от питательной среды клетки псевдотуберкулёзного микроба разрушали на ультразвуковом дезинтеграторе при 22 кГц. Отделение клеточных стенок бактерий от цитоплазмы и других внутриклеточных компонентов проводили центрифугированием при 20 тыс. об. / минуту. Клеточные стенки разрушали 1 %-м раствором додецилсульфата натрия (SDS). Последующий диализ в проточной воде позволял избавляться от SDS.

На втором этапе исследований ДМ *Y. pseudotuberculosis* были использованы для получения гипериммунной сыворотки крови кролика. Для этого животное подкожно пятикратно иммунизировали 1 мл смеси антигена и адъюванта 1:1 в несколько точек спины. Интервалы между иммунизациями составляли 14 дней. Антиген вводили в количестве 2 мг/животное. Адъювантом являлся 1 %-й раствор полиазолидинаммония, модифицированного гидрат-ионами йода (ПААГ) [7].

Третий этап исследований заключался создании дот-иммунотест-системы на основе полученной сыворотки с использованием в качестве индикаторной системы конъюгата белка А с ЗНЧ.

Конъюгат был нам любезно предоставлен ведущим научным сотрудником лаборатории иммунохимии ИБФРМ РАН (г. Саратов), д. б. н. Дыкманом Л.А. Для создания конъюгата в лаборатории иммунохимии получали ЗНЧ с диаметром 15,2 нм в результате взаимодействия золотохлористоводородной кислоты и цитрата натрия [8]. Полученные ЗНЧ связывали с белком А путём простой физической адсорбции [1].

Постановку ДИА с предоставленным нам конъюгатом мы проводили непрямым методом на нитроцелллюлозной мембране с порами 0,2 мкм. Схема постановки ДИА представлена на рисунке 1.



Рисунок 1. Схема постановки ДИА

На четвёртом этапе нами была проверена возможность обнаружения в ДИА клеток бактерий при помощи созданной экспериментальной дот-иммунотест-системы. Опыт проводили с применением различных сероваринтов *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*, а также со штаммами бактерий из других родов, родственных иерсиниям. В качестве контроля нами здесь была использована псевдотуберкулёзная сыворотка из коммерческого диагностического набора для РНГА производства ФГУП СПбНИИВС ФМБА России (Таблица 1).

Полученные гипериммунные сыворотки крови кроликов уверенно определяли в ДИА клетки *Y. pseudotuberculosis*. Коммерческие сыворотки показывали при этом гораздо худшие результаты (Таблица 1).

Созданная дот-иммунотест-система обладала видовой псевдотуберкулёзной специфичностью. Что подтверждалось отрицательными реакциями с бактериями других видов. Таким образом, экспериментальная сыворотка может быть использована в ДИА с ЗНЧ для индикации клеток *Y. pseudotuberculosis* (Таблица 1).

Таблица 1 – Определение специфичности дот-иммунотест-системы с клетками бактерий

Бактериальные клетки в разведении 10^9 клеток/мл			Сыворотка, полученная к ДМ *Y. pseudo-tuberculosis*	Коммерческая псевдо-туберкулёзная сыворотка
			Титры антител с бактериальными клетками	
Y. pseudo-tuberculosis	серовариванты	O:1	1:1600	1:100
		O:3	1:3200	1:50
		O:4	1:1600	н.д.
		O:5	1: 1600	н.д.
Y. entero-colitica		O:3	–	–
		O:9	–	н.д.
Escherichia coli			–	–
Salmonella typhimurium			–	–
Proteus vulgaris			–	–
Enterobacter aerogenes			–	–
Klebsiella pneumonia			–	–

"–" – отрицательный результат; "н.д." – нет данных.

По проделанной работе можно сделать следующие выводы:
1. Сыворотка к ДМ *Y. pseudotuberculosis* может быть использована в ДИА с ЗНЧ для обнаружения псевдотуберкулёзного микроба.
2. Коммерческая псевдотуберкулёзная сыворотка проявляет меньшую активность в ДИА, при сравнении её с экспериментальной сывороткой, полученной к ДМ *Y. pseudotuberculosis*.

Список источников

1. Золотые наночастицы: синтез, свойства, биомедицинское применение / Л.А. Дыкман, В.А. Богатырёв, С.Ю. Щёголев [и др.]. – М.: Наука, 2008. – 319 с.
2. A novel enhanced dot blot immunoassay using colorimetric biosensor for detection of *Toxoplasma gondii* infection / H. Safarpour, M. Pourhassan-Moghaddam, A. Spotin [et al.] // Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. – 2021. – Vol. 79. – article 101708.
3. Development of optical biosensor using protein A-conjugated chitosan-gold nanoparticles for diagnosis of cystic echinococcosis / H. Safarpour, H. Majdi, A. Masjedi [et al.] // Biosensors (Basel). – 2021. – Vol. 11, N 5. – 134.
4. Evaluation of rapid dot-immunoassay for detection orthopoxviruses using laboratory-grown viruses and animal's clinical specimens / N. Ushkalenko, A. Ersh,

A. Sergeev [et al.] // Viruses. – 2022. – Vol. 14, N 11. – article 2580.
5. Gold-copper nanoshell dot-blot immunoassay for naked-eye sensitive detection of tuberculosis specific CFP-10 antigen / L.M.T. Phan, R. Rafique, S.H. Baek [et al.] // Biosens. Bioelectron. – 2018. – Vol. 121. – P. 111-117.
6. Silver enhanced nano-gold dot blot immunoassay for leptospirosis / V. Raja, M. Prasad, P. Bothammal [et al.] // J. Microbiol. Methods. – 2019. – Vol. 156. – P. 20-22.
7. The effect of polyazolidinammonium on the dynamics of the synthesis of pseudotuberculosis antibodies / S.V. Ivaschenko, V.S. Kuznetsova, S.V. Savina, V.M. Skorlyakov // IOP Conf. Ser.: Eharth Environ. Sci. – 2020. – Vol. 421. – article 022055.
8. Frens, G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions / G. Frens // Nature Phys. Sci. – 1973. – Vol. 241. – P. 20-22.

© Иващенко С.В., Саньков Н.А., 2024

Научная статья
УДК 637.04-07

Использование вкусоароматических добавок в технологии производства сыров «Белпер Кнолле»

Ксения Александровна Канина[1], Николай Анатольевич Жижин[2], Илья Андреевич Ададуров[1]
1 – ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, г. Москва, Россия
2 – ФГАНУ Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, г. Москва, Россия

Аннотация. В статье представлен обзор наиболее востребованных вкусоароматических добавок для сыроделия. Показаны способы внесения различных добавок при выработке сыров, а также применения их в аффинаже, в том числе для твердых сыров типа Белпер Кнолле.
Ключевые слова: сыр типа Белпер Кнолле, производство сыра, вкусоароматические добавки

The use of flavoring additives in the production technology of Belper Knolle cheeses

Ksenia Aleksandrovna Kanina[1], Nikolai Anatolyevich Zhizhin[2], Ilya Andreevich Adadurov[1]
1 – Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Russian State Agrarian University - Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev", Moscow, Russia
2 – Federal State Budgetary Institution of the All-Russian Scientific Research Institute of Dairy Industry, Moscow, Russia

Annotation. The article provides an overview of the most popular flavoring additives for cheese making. Methods for introducing various additives during the production of cheeses, as well as their use in refining, including for hard cheeses such as Belper Knolle, are shown.
Key words: Belper Knolle cheese, cheese production, nutrients, antioxidants, lactose intolerance, cholesterol

Сыр типа Белпер Кнолле известен своим уникальным вкусом и внешним видом. Это небольшой круглый сыр, приготовленный из коровьего молока и обычно покрытый смесью соли, перца и различных специй [1,2].

Цель производства сыра типа Белпер Кнолле это расширение ассортимента сыров с раскрытием специфических вкусовых нот, которые присущи данному виду сыра, сочетающих в себе баланс пикантных, пряных и сливочных ноток.

В технологии производства сыра типа Белпер Кнолле традиционно используются специи для раскрытия вкусовых нот сыра, а также приобретение

специфического аромата. Специи в сыроделии используются не только при добавлении в сырный сгусток, но и для обсыпки поверхности сыра – аффинажа.



Рисунок 1. а) внешний вид сыра типа Белпер Кнолле, б) внешний вид в разрезе сыра типа Белпер Кнолле

Специи и травы подвергают термической обработке для уменьшения попадания микробиологических клеток в сырный сгусток. Из информационных источников известно, что сухие травы в основном добавляются из расчета 35 г на 1 кг свежего сыра или 5-8 грамм на 10 литров молока для мягких и полутвердых сыров [5,6].

В сыроделии применяются различные специи и травы. Например, паприка в своем составе содержит большое количество витамина С, который стимулирует работу иммунной системы и предотвращает от простудных заболеваний [3,4]. В сыроделии паприка вносится в сырное зерно или применяется для обсыпки непосредственно уже готового продукта.

Копченая парика подходит для добавления в сырное калье так и для нанесения на образовавшуюся корку сыра во время аффинажа (выдержки).

Куркума специя, придающая сыру желтый цвет за счет содержания натурального красителя - куркумина. Специя имеет иммуномодулирующие свойства, такие как активизацию Т - и В-лимфоцитов, нейтрофилов, β - клеток, макрофагов и других клеток иммунной системы; предупреждение проникновения и распространения вируса путем изменения его белковой структуры; подавление активности воспалительных цитокинов — белков, переносящих информацию о воспалении от зараженных клеток к здоровым и др. [7,8]. В сыроделии куркуму в основном вносят в сырное зерно перед прессованием или на готовую головку сыра.

Черный перец обладает антисептическими и антибактериальными свойствами [3]. Кроме того содержит антиоксиданты в своем составе, при этом обладает желчегонными свойствами [3,4]. Черный перец вносится непосредственно в сырное зерно перед прессованием, а также наносится на поверхность готовых сырных головок, кроме того используется для аффинажа различных видов сыров.

Мята содержит в своем составе органическое вещество, важный вторичный метаболит – ментол, который придает освежающий вкус продукту. В сыроделии мята используется в выработки сыра типа Халумми. Мята оказывает антибактериальные действия на сыр. Известно, что антибактериальные свойства

мяты, увеличивают срок годности данного вида сыра. Мята вносится в сырное зерно перед прессованием, так и нанесением на готовую головку сыра.

Пажитник (шамбала) - растение семейства бобовых. Обладает специфическим сладковатым запахом и вкусом, с горчинкой. Придает сыру сливочно-ореховый аромат. Используется внесением в сырное зерно перед прессованием, так и поверхностным нанесением на готовую головку сыра.

Базилик и орегано - используются для производства вытяжных сыров типа моцарелла, а также брынза и рикотта. Добавляются, как правило, сушеные листья на этапе выкладки сырного зерна в форму, а также уже после операции формования непосредственно на сырную головку.

Тмин имеет в своем составе различные макро- и микро- элементы, витамины группы В, аскорбиновую кислоту [3]. В сыроделии сочетается с творожными продуктами и мягкими сырами. Кроме того его добавляются в полутвердые сыры типа Чеддера.

Кофе используется для аффинажа определенного вида сыра типа Драй Джек.

Чеснок – содержит в своем составе много функциональных и ароматических веществ и придает сырам, как правило, пряный вкус. Добавляется в сухом виде в сырную массу.

Прованские травы используются для полутвердых сыров типа – качотты. В ароматных пряных травах содержится множество активных веществ: эфирных масел, минералов, витаминов и микроэлементов, органических кислот и ферментов.

Таким образом, применение вкусоароматических веществ в сыроделии расширяет ассортимент сыров, а также способствует раскрытию более полного аромата и вкуса сыра.

Библиографический список

1. Dublin, March 14, 2022 /PRNewswire/ Global Food Flavors Markets Report 2022-2028: Opportunities in the Use of Flavors in Functional Food Products & Emerging Economies, March 14, 2022. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.4c3a3bcd-627beb22-4d835e30-74722d776562/https/www.yahoo.com/lifestyle/global-food-flavors-markets-report131500161.html (дата обращения 11.05.2022)

2. © Николаевский В.В. Ароматерапия. Справочник. М.: Изд-во «Медицина», 2000. 349 с.

3. Химия и технологии в парфюмерно-косметической индустрии. Перев. с англ. под общ. ред. канд. биол. наук Т.В. Пучковой. СПб.: Изд-во «Профессия», 2016. 660 с., ил., табл.

4. Шатохина С. А. Научные и практические подходы к использованию дикорастущего сырья для изготовления мороженого // Проблемы и перспективы развития России: Молодежный взгляд в будущее: Сборник научных статей Всероссийской научной конференции. В 4-х томах, Курск, 17– 18 окт. 2018 г. Курск: Юго-Западный государственный университет, 2018. С. 318. – ISBN 978-5-907049-99-4. 120

5. ©Гречаный И.А. Большой иллюстрированный справочник лекарственных растений. 600 рецептов и секретов потомственного травника. Белгород, 2015. 544 с.

6. Солодовниченко Н.М., Журавлёв Н.С., Ковалёв В.Н. Лекарственное растительное сырье и фитопрепараты: Пособие с фармакогнозии с основами биохим ии лекарственных растений. Х.: Изд-во НФаУ. Золотые страницы, 2001.408с

7. Школьникова, М. Н. Микрокапсулирование полифенолов как способ повышения их биодоступности в составе пищевых систем: обзор современных технологий / М. Н. Школьникова, Е. В. Воронова // Индустрия питания. – 2021. – № 2. – С. 90-9

8. Канина К.А. Сравнительная оценка аминокислотного состава творога выработанного из козьего и коровьего молока // Канина К.А., Жижин Н.А. В сборнике: АГРАРНАЯ НАУКА - 2022. материалы Всероссийской конференции молодых исследователей. 2022. С. 183-186.

© Канина К.А., Жижин Н.А., Ададуров И.А., 2024

Научная статья
УДК 620.3

Валерия Владимировна Кузнецова, Софья Владимировна Горшунова, Борис Иванович Древко, Ярослав Борисович Древко

Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова,
г. Саратов

Синтез наночастиц селена, стабилизированных мальтодекстрином

***Аннотация*:** Представлены результаты синтеза наночастиц селена, стабилизированных мальтодекстрином. Селен - один из важнейших микроэлементов в организме человека, усиливает иммунную защиту организма, способствует увеличению продолжительности жизни, поддерживает гомеостаз, является мощным антиоксидантом, а также противораковым агентом. Наночастицы селена нашли применение во многих биомедицинских приложениях в качестве систем доставки лекарств и в качестве противораковых агентов.

Ключевые слова: наночастицы селена, мальтодекстрин, дзета-потенциал

Kuznetsova Valeria Vladimirovna, Gorshunova Sofya Vladimirovna, Drevko Boris Ivanovich, Drevko Yaroslav Borisovich

Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov,
Saratov

Synthesis of maltodextrin-stabilized selenium nanoparticles

Abstract: The results of the synthesis of selenium nanoparticles stabilized with maltodextrin are presented. Selenium is one of the most important trace elements in the human body, strengthens the body's immune defense, increases life expectancy, supports homeostasis, is a powerful antioxidant, as well as an anti-cancer agent. Selenium nanoparticles have found application in many biomedical applications as drug delivery systems and as anti-cancer agents.

Keywords: selenium nanoparticles, maltodextrin, zeta potential

Наночастицы являются перспективным поставщиком биологически активных веществ в организм животных и человека, а селен незаменим для жизнедеятельности млекопитающих. Наночастицы селена обладают высокой фотопроводимостью, каталитическим действием в реакциях гидратации и окисления. Для синтеза могут использоваться многие физические методы, такие как прямой физический процесс разложения из паровой фазы, гидротермальный процесс и ультразвуковое излучение.

Разработка технологии направленного синтеза наночастиц селена заданного размера осуществляется за счет использования синтезируемого дихлордиацетофенонилселенида, отличающегося низкой термостабильностью и способностью поставлять элементарный селен в «мягких» условиях.

В качестве субстрата нами был взят дихлордиацетофенонилселенид, в качестве адсорбента пищевая добавка мальтодекстрин (Е 459) и в качестве растворителя – аммиак. В стеклянную стерильную плоскодонную колбу добавляем 0,1 г дихлордиацетофенонилселенида, мальтодекстрин, 30 мл дистиллированной воды и 50 мл аммиака. На водяной бане доводим температуру до 100 °С, охлаждаем и проводим анализ получившегося раствора. Выполнение исследований проходило по всем санитарным нормам работы в химической лаборатории, а также в соответствии с нормативно – техническими документами по эксплуатации лабораторного оборудования. Правила техники безопасности также были соблюдены участниками эксперимента.

Полученный раствор проверялся методом ТСХ на наличие дихлордиацетофенонилселенида, в результате чего было выявлено отсутствие последнего в растворе, а также методом динамического рассеивания света устанавливали размер и дзета- потенциал наночастиц селена которые равнялись соответственно : 271, 7 нм и -49,2

Далее предоставляем результаты исследований :

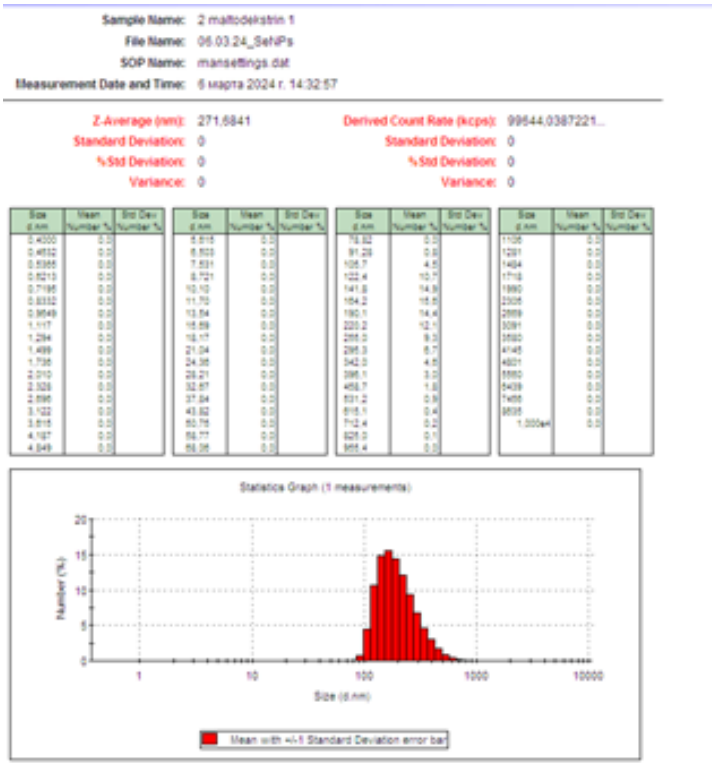


Рисунок 1. размер наночастиц селена при помощи динамического рассеяния света

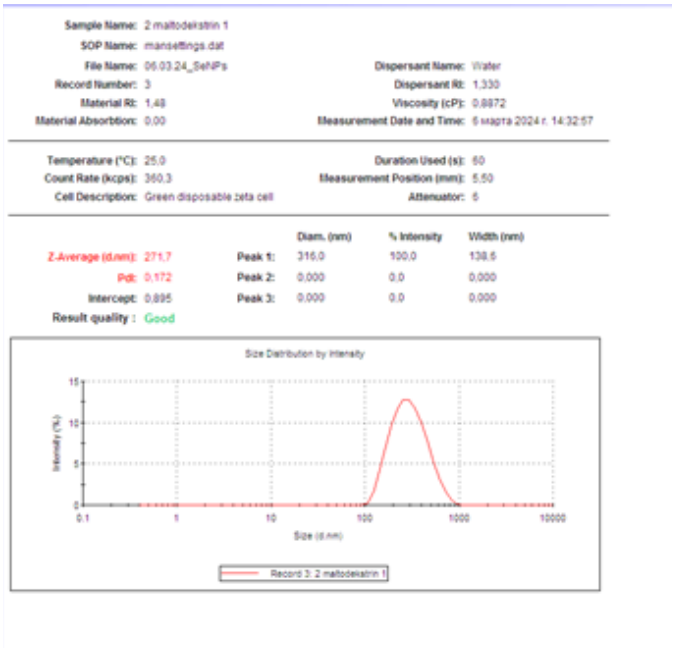


Рисунок 2. размер наночастиц селена при помощи динамического рассеяния света

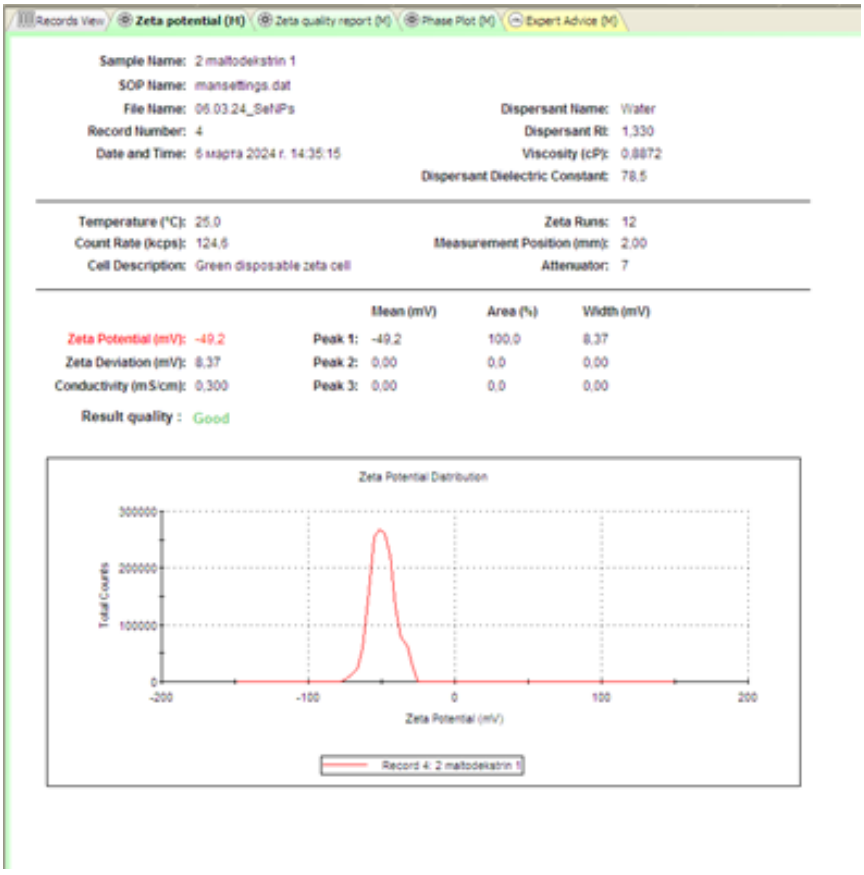


Рисунок 3. размер наночастиц селена при помощи динамического рассеяния света

По результатам исследования можно сделать вывод о том, что нами были получены наночастицы в стабильном коллоидном растворе, о чем свидетельствует достаточно высокий дзета-потенциал. В дальнейших

исследованиях данная методика может быть применима для получения стабильных наночастиц селена определенного размера, которые могут использоваться в различных областях, например фармакологии.

Список литературы

1. Stadtman Thressa C. Selenoproteins - Tracing the role of a trace element in protein function. // PLoS Biology, 2005.- Vil. 3.-N 12, P. 2077-2079.

2. Yu-feng; Zhang Ying-mei; Wang Bing-lian; Long Jing; Huang De-jun; Liu Jiang-hai. Effect of selenium exposure on the immunological function in mice. // Huanjing Yu Zhiye Yixue,2006.- Vol. 23.-N 1, P.38-40.

3. Al-Saleh Iman, Billedo Grisellhi, El-Doush Inaam, El-Din Mohamed Gamal, Yosef Gamal. Selenium and vitamins status in Saudi children. // Clinica Chimica Acta, 2006.- Vol. 368.- N 1-2, P. 99-109.

4. Goenaga-Infante Heidi; Sargent Mike. Understanding the role of Se in health using mass spectrometry. // Spectroscopy Europe, 2005.- Vol. 17.- N 2, P. 6-14.

5. Mugesh, G.; Singh, Harkesh B. Biological activities of synthetic organoselenium compounds: recent developments. // Proceedings of the National Academy of Sciences, India, Section A: Physical Sciences. 2000.- vol. 70 N 3, P. 207-220.

6. Гигиенические критерии состояния окружающей среды. 58. Селен.- Женева: Всемирная организация здравоохранения.- 1989.- 270С.

7. Karunasinghe Nishi; Ferguson Lynnette R.; Tuckey John; Masters Jonathan. Hemolysate thioredoxin reductase and glutathione peroxidase activities correlate with serum selenium in a group of New Zealand men at high prostate cancer risk. // Journal of Nutrition, 2006.- Vol. 136.-N 8, P.2232-2235.

8. Abdulah Rizky; Miyazaki Kaori; Nakazawa Minato; Koyama Hiroshi. Chemical forms of selenium for cancer prevention. // Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2005.- Vol. 19.- N 2-3, P.141-150.

9. Diwadkar-Navsariwala Veda, Prins Gail S., Swanson Steven M., Birch Lynn A.; Ray Vera H., Hedayat Samad; Lantvit Daniel L., Diamond Alan M. Selenoprotein deficiency accelerates prostate carcinogenesis in a transgenic model. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006.- Vol. 103.- N 21, P. 8179-8184.

10. Darago Adam, Rzetecki Tomasz, Dziki Adam, Sapota Andrzej. Biological levels of cadmium, zinc, copper, and selenium in patients with colon cancer. // Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, 2005. Vol. 38. N-4, P. 371-376.

11. Chun Jae Yeon, Nadiminty Nagalakshmi, Lee Soo Ok, Onate Sergio A., Lou Wei, Gao Allen C. Mechanisms of selenium down-regulation of androgen receptor signaling in prostate cancer. // Molecular Cancer Therapeutics, 2006.- Vol. 5. N-4, P. 913-918.

12. Schrauzer G. N. Interactive effects of selenium and chromium on mammary tumor development and growth in MMTV-infected female mice and their relevance to human cancer. // Biological Trace Element Research, 2006.- Vol. 109. N-3, P. 281-292.

© Кузнецова В.В., Древко Я.Б., Горшунова С.В., Древко Б.И., 2024

Научная статья
УДК 636.2.034:616.34-002

Синдром диспепсии у телят в ранний постнатальный период. Способы профилактики и лечение

Виталий Владиславович Кулаков
Рязанский государственный агротехнологический университет имени П.А. Костычева,
г. Рязань

Аннотация: в статье представлена сравнительная оценка методов профилактики диспепсического синдрома у телят в ранний постнатальный период с использованием препаратов, оказывающих стимулирующее влияние на состояние кишечной микрофлоры и иммунологическую адаптацию к факторам внешней среды – преимущественно биологического происхождения (микроорганизмы и токсины). К сравнению представлен препарат-пробиотик, рекомендованный производителем как профилактическое средство и комплексный препарат содержащий в качестве основных компонентов сорбент, дрожжи и клетчатку, рекомендуемый производителем к применению как терапевтическое средство при синдроме диареи.

Ключевые слова: телята, расстройство пищеварения, пробиотик, иммунитет, пребиотик, диспепсия

Dyspepsia syndrome in calves in the early postnatal period. Methods of prevention and treatment

Vitaly Vladislavovich Kulakov,
Ryazan State Agrotechnological University named after P.A. Kostycheva,
Ryazan

Abstract: the article presents a comparative assessment of methods for the prevention of dyspeptic syndrome in calves in the early postnatal period using drugs that have a stimulating effect on the state of the intestinal microflora and immunological adaptation to environmental factors - mainly of biological origin (microorganisms and toxins). For comparison, a probiotic preparation is presented, recommended by the manufacturer as a prophylactic agent, and a complex preparation containing sorbent, yeast and fiber as the main components, recommended by the manufacturer for use as a therapeutic agent for diarrhea syndrome.

Key words: calves, indigestion, probiotic, immunity, prebiotic, dyspepsia

Диспепсия телят – это расстройство процесса усвоения корма телятами в ранний постнатальный период (до 10-12 дневного возраста), причиной возникновения которого может являться нарушение режима выпойки, качества выпаиваемого молозива (молока), а также ряд инфекционных и токсикогенных факторов – факторов внешней среды. В первые дни жизни молодняк подвержен различным заболеваниям, которые могут серьезно повлиять на сохранность и будущее развитие организма животного [4, с. 314].

В условиях высокой интенсификации современного животноводства немаловажным фактором, способствующим развитию такого патологического состояния, являются инфекции бактериальной и вирусной этиологии, а также все виды производственного стресса. Также факторами, способствующими развитию диспепсии, могут быть стресс, инфекции, паразиты и другие заболевания.

Одним из наиболее распространенных симптомов является диарея (рисунок 1), проявляющаяся жидким или водянистым стулом, а также частыми позывами к дефекации. Больные животные отказываются от корма, имеют повышенную температуру тела и общую слабость вплоть до апатии.

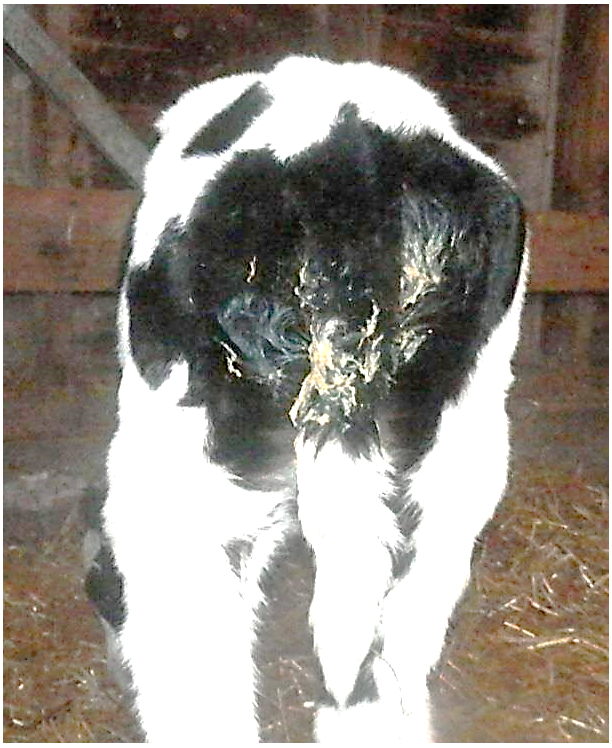


Рисунок 1. Испачканная жидким калом задняя часть у теленка при развитии синдрома диспепсии

С целью недопущения возникновения диспепсии среди поголовья молодняка в ранний постнатальный период в хозяйствах используют систему мероприятий, направленных на предупреждение и недопущения воздействия патологических факторов. В первую очередь обеспечивают оптимальные условия содержания и

кормления матерей, позволяющие получать крепкий жизнеспособный молодняк, а также получать от них молозиво высокого качества [1, с. 195; 3, с. 283]. Во вторую очередь обеспечивают своевременную выпойку новорожденных телят, с предварительной оценкой качества и благополучия молозива, как и указано выше, при необходимости заменяя его продуктом от матерей-доноров (новотельных коров-доноров молозива). Такая работа позволит в кратчайшие сроки обеспечить раннюю колостральную иммунологическую защиту не окрепшему организму теленка, а также способствует формированию необходимого кишечного микробиома. Третье, что является не менее важным в сравнении с вышесказанным – обеспечивают достойное санитарное состояние места содержания молодняка и организацию кормления исходя из физиологических потребностей в возрастном аспекте [2, с. 283; 4, с. 316].

Иногда, даже строгое выполнение всех требований получения и выращивания молодняка в вопросе возникновения патологий не является 100 % эффективным. Это происходит в тех случаях, когда имеются недочеты в вопросе организации работы по недопущению заражения новорожденных телят инфекционным началом в первые часы или сутки после рождения [5, с. 326].

Целью работы являлась сравнительная оценка эффективности профилактики возникновения диспепсического синдрома с использование препаратов различного механизма действия. Эффективность препаратов в комплексной терапии диспепсии.

Объектом исследований служили телята раннего постнатального периода в возрасте от 2 до 10 дней в количестве 30 голов.

Всех используемых в эксперименте животных разделили на три группы.

Первая группа животных получала препарат «Ветом 3» с профилактической целью со 2 дня жизни по 3 г энтерально, ежедневно перед утренним кормлением.

Вторая группа телят с профилактической целью получала препарат «Редиар» в объеме 25 г энтерально со 2 дня жизни ежедневно так же перед утренним кормлением.

Третья группа телят являлась контрольной.

В случае возникновения у телят, в опытных и контрольной группе, клинических признаков диспепсии, животных подвергали терапии по схеме, эффективность которой подтверждена опытом использования на протяжении последних 1,5 лет работы ветеринарной службой хозяйства.

Используемые препараты перед выпаиванием предварительно растворяли в теплой воде при температуре 38-40 °С согласно прилагаемой инструкции.

За телятами во всех группах осуществлялся ежедневный контроль. Особое внимание обращали на активность животного, качество аппетита, консистенцию и цвет каловых масс, наличие в них крови, слизи и комочков казеина, а также, состояние слизистой оболочки ротовой и носовой полостей. Ежедневно в утренние и вечерние часы проводили термометрию.

Оценивали продолжительность лечения и тяжестью течения болезни при возникновении диспепсий во всех группа. Фиксировали частоту проявления диспепсии.

Таблица 1 – Показатели эффективности проводимой профилактики и лечения диспепсии, (n=10)

Группа	Показатель					
	подтвержден диагноз «Диспепсия», гол. (% от голов в эксперименте)	возраст телят при возникновении симптомов диспепсии, дн.	тяжесть течения заболевания	средняя продолжительность заболевания, дн. / всего пало, гол	затраты на профилактику, руб./сутки	затраты на лечение, руб.
Контроль	6 (60 %)	3-4	средняя, тяжелая	7/1	-	2030
1 группа	3 (30 %)	3-4	средняя	5/0	3,8	1450
2 группа	2 (20 %)	6-7	легкая	4/0	105	1160

При оценке полученных данных отмечено, что эффективность препарата «Редиар» в сравнении с «Ветом 3» выше на 30 % с учетом количества животных, имевших признаки диспепсии в опытных группах. Также на эффективность в терапевтическом плане указывает более легкое течение болезни у телят, продолжавших получать «Редиар» при осуществлении лечения по общехозяйственной схеме. Продолжительность лечения телят составила 4 дня, что на 43 % меньше, чем в контрольной группе и на 20 % меньше чем в 1 группе животных.

Не маловажным является и тот факт, что сумма затрат на комплексное лечение животных при диспепсии, при использовании препарата «Редиар» составляет в среднем 1265 рублей (с учетом стоимости «Редиар» при сохранении выпойки при проведении терапии) на голову, что на 38 % меньше чем в контрольной группе и на 13 % в сравнении с первой группой.

Список источников

1. Дубов, Д. В. Изучение влияния способов подготовки зерновой части рациона крупного рогатого скота на переваримость и ряд морфо-биохимических показателей крови / Д. В. Дубов, В. В. Кулаков, Е. В. Киселева // Инновационное научно-образовательное обеспечение агропромышленного комплекса : материалы 69-ой Международной научно-практической конференции, Рязань, 25 апреля 2018 года. Том Часть 1. – Рязань: Рязанский государственный агротехнологический университет им. П.А. Костычева, 2018. – С. 193-199. – EDN XZJOMX.

2. Применение гуматов при профилактике диспепсии у молодняка крупного рогатого скота / А. В. Ситчихина, К. А. Герцева, Э. О. Сайтханов [и др.]

// Научно-образовательная среда как основа развития агропромышленного комплекса арктических территорий : Научно-практическая конференция с международным участием «Научно-образовательная среда как основа развития агропромышленного комплекса арктических территорий», посвященная 70-летию доктора ветеринарных наук, профессора, Заслуженного деятеля науки Республики Саха (Якутия) Павловой Александры Иннокентьевны, Якутск, 10 ноября 2020 года. – Якутск: Дани-Алмас, 2021. – С. 281-285. – EDN NPHTQC.

3. Применение гуматов при профилактике диспепсии у молодняка крупного рогатого скота / А. В. Ситчихина, К. А. Герцева, Э. О. Сайтханов [и др.] // Научно-образовательная среда как основа развития агропромышленного комплекса арктических территорий : Научно-практическая конференция с международным участием «Научно-образовательная среда как основа развития агропромышленного комплекса арктических территорий», посвященная 70-летию доктора ветеринарных наук, профессора, Заслуженного деятеля науки Республики Саха (Якутия) Павловой Александры Иннокентьевны, Якутск, 10 ноября 2020 года. – Якутск: Дани-Алмас, 2021. – С. 281-285. – EDN NPHTQC.

4. Шевцова, А. А. Диагностичестика и лечение диспепсии у телят / А. А. Шевцова, К. И. Романов // Актуальные проблемы и приоритетные направления современной ветеринарной медицины, животноводства и экологии в исследованиях молодых ученых : Материалы Всероссийской научно-практической конференции, Рязань, 21 ноября 2021 года / МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «РЯЗАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ П.А. КОСТЫЧЕВА» ФАКУЛЬТЕТ ВЕТЕ-РИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОТЕХНОЛОГИИ. – Рязань: РГАТУ, 2021. – С. 314-320. – EDN SWPIVG.

5. Шемякин, В. Б. Характеристика ветеринарно-санитарных мероприятий, проводимых в ООО "Победа" Александро-невского района / В. Б. Шемякин, В. Ю. Гречникова, И. А. Кондакова // Актуальные проблемы и приоритетные направления современной ветеринарной медицины, животноводства и экологии в исследованиях молодых ученых : Материалы Всероссийской научно-практической конференции, Рязань, 21 ноября 2021 года / МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «РЯЗАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ П.А. КОСТЫЧЕВА» ФАКУЛЬТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОТЕХНОЛОГИИ. – Рязань: РГАТУ, 2021. – С. 325-330. – EDN DVLPIX.

© Кулаков В. В., 2024

Научная статья
УДК 579.22

Влияние pH среды на эффективность связывания ионов металлов с ХтГК плодовых тел грибов вешенка

Лариса Геннадиевна Ловцова, Александр Владимирович Майоров, Валерия Олеговна Соловьева, Диана Фаритовна Мухамедова
Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова, г. Саратов

Аннотация. В статье приводятся данные о сорбционной способности хитозан-глюкановых комплексов из биомассы плодовых тел грибов вешенка. Показано, что наиболее эффективным испытуемым сорбентом является ХтГК, выделенный из плодовых тел штамма АГРО Р-802, поэтому его можно рекомендовать в качестве энтеросорбента тяжелых металлов.
Ключевые слова: грибы вешенка, плодовое тело**,** хитозан, глюкан, энтеросорбент, тяжолые металлы

The effect of the pH of the medium on the binding efficiency metal ions from hCG of Oyster mushroom fruit bodies

Larisa Gennadievna Lovtsova, Alexander Vladimirovich Mayorov, Valeria Olegovna Solovyova, Diana Faritovna Mukhamedova
Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, Saratov

Annotation. The article provides data on the sorption capacity of chitosan-glucan complexes from the biomass of fruit bodies of oyster mushrooms. It has been shown that the most effective sorbent tested is CHTHC isolated from the fruit bodies of the AGRO P-802 strain, therefore it can be recommended as an enterosorbent of heavy metals.
Keywords: oyster mushrooms, fruit body, chitosan, glucan, enterosorbent, heavy metals

Известно, что основная часть биотехнологической продукции приходится на долю промышленной микробиологии, где с помощью мицелиальных грибов получают почти 80 % биологически активных соединений (БАС), в том числе антибиотики, витамины, органические кислоты, ферменты.

В последнее время в биотехнологии наблюдается четкая тенденция увеличения объема и расширения ассортимента продуктов, получаемых с использованием мицелиальных грибов. В связи с этим особое значение приобретают вопросы утилизации отходов этих производств. Остающаяся грибная биомасса при хранении в отвалах становится опасной для здоровья

людей, так как делается источником загрязнения окружающей местности канцерогенами, иммунносупрессорами и особенно аллергенами.

В то же время известно, что в клеточной стенке грибов содержится значительное количество хитина и других полисахаридов, что делает отходы от грибных производств привлекательным сырьем для получения ценных биологически активных соединений.

Следует указать, что основной биополимер грибов - хитин и особенно его производное хитозан широко используется в медицине, косметической, пищевой и лёгкой промышленностях, ветеринарии и сельском хозяйстве вследствие того, что он активно проявляет антивирусное, антибактериальное, антигрибковое действие, а так же проявляет имунномодулирующее свойство, элисторную активность в растениях, показывает способность связывать металлы и образовывать полиэлектролитные комплексы с другими веществами.

Таким образом, современные исследования природных сообществ и составляющих их микроорганизмов позволяют не только существенно пополнить наши представления об их разнообразии, экологии и эволюции, но и дают возможность значительно ускорить поиск и расширить круг потенциальных продуцентов ферментов метаболизма хитина, перспективных для дальнейшего практического использования в различных биотехнологиях, или агентов биоконтроля.

В настоящее время выделение хитина и хитозана из грибов пока не может конкурировать с общепринятой схемой их получения из панциря ракообразных, однако с появлением новых биотехнологий этот метод, несомненно, будет использоваться в будущем.

Цель исследования. Изучение сорбционной способности хитозан-глюкановых комплексов из биомассы плодовых тел грибов вешенка.

Материалы и методы. Исследования проводились на базе кафедры «Микробиологии и биотехнологии» и лицензированной лаборатории Центра коллективного пользования лабораторным оборудованием ФГБОУ ВО Вавиловский университет и базе кафедры общей и неорганической химии ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского».

Перед проведением анализов, биомассу мицелия и плодовых тел грибов высушивали в сушильном шкафу при температуре 55 °С до постоянной массы и измельчали. Для определения основных показателей объектов применялись стандартные физико-химические методы анализа, а также методы, описанные в отраслевой и научно-технической литературе.

Выделение хитозан-глюкановых комплексов (ХтГК) из плодовых тел грибов проводили по патенту США United States Patent 4282351.

Результаты и обсуждение. Основные исследуемые физико-химические свойства полученных образцов ХтГК представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Сравнительная характеристика физико-химических свойств исследуемых образцов ХтГК

	Образец	**Характеристическая вязкость [η], $см^3$ /г**	**Молекулярная масса, кДа**	**Степень деацетилирования, %**
1	Хитозан Paralithodes camtschaticus*	4,2	72,4	87,8±5,1
2	ХтГК Pleurotus osteratus НК-35	1,5	35,1	76,0±1,4
3	ХтГК Pleurotus osteratus Р-80	1,6	34,2	75,7±2,6
4	ХтГК Pleurotus osteratus АГРО Р-802	1,9	37,8	80,5±3,6
5	Допустимые значения для пищевого хитозана (ТУ 9289-067-00472124)	Не нормируется	Не нормируется	Не менее 75

Как видно из экспериментальных данных физико-химические характеристики образцов ХтГК, полученных из плодовых тел грибов, изменяются в небольших пределах. С максимальной характеристической вязкостью (1,8 $см^3$ /г), молекулярной массой (37,8 кДа) и степенью деацетилирования (79,5 %) получен образец ХтГК из биомассы плодовых тел штамма АГРО Р-802. Близкие значения характеристической вязкости 1,5–1,6 $см^3$ /г и молекулярной массы 35,1 - 34,2 кДа имеют два образца ХтГК, выделенные из плодовых тел штаммов НК-35 и Р-80. Степень деацетилирования в этих образцах составила 76,0–75,7 %, соответственно.

По физико-химическим свойствам полученные ХтГК идентифицированы, как соответствующие требованиям к пищевому хитозану (ТУ 9289-067-00472124).

Далее нами было изучено влияние pH среды и природы кислоты на эффективность связывания ХтГК из плодовых тел представленных штаммов с ионами металлов. Из ряда органических кислот была выбрана уксусная кислота, неорганических – соляная кислота. Исследовали сорбцию ионов Co^{2+} и Fe^{3+} из водных растворов их солей ($CoCl_2$, $FeCl_3$).

Полученные данные по влиянию pH среды на адсорбцию ионов металлов из водных растворов представлены на рисунках. 1–2. Степень извлечения ионов металла характеризовали числом их мг-экв. на 1 г хитозана

Было установлено, что в нейтральных средах (pH=6,7) количество связанных ионов кобальта с использованием растворов ХтГК примерно в 4,0 раза больше, чем в кислой среде (pH=2,0). Следовательно, дальнейшее изучение сорбции ионов железа ХтГК было проведено при pH=6,7 (рисунок 3)

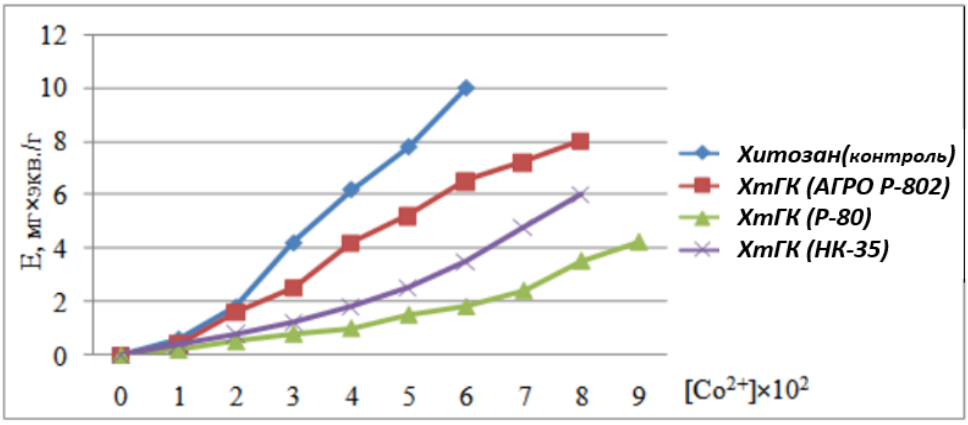


Рисунок 1. Степень извлечения ионов кобальта растворами ХтГК при pH=6,7

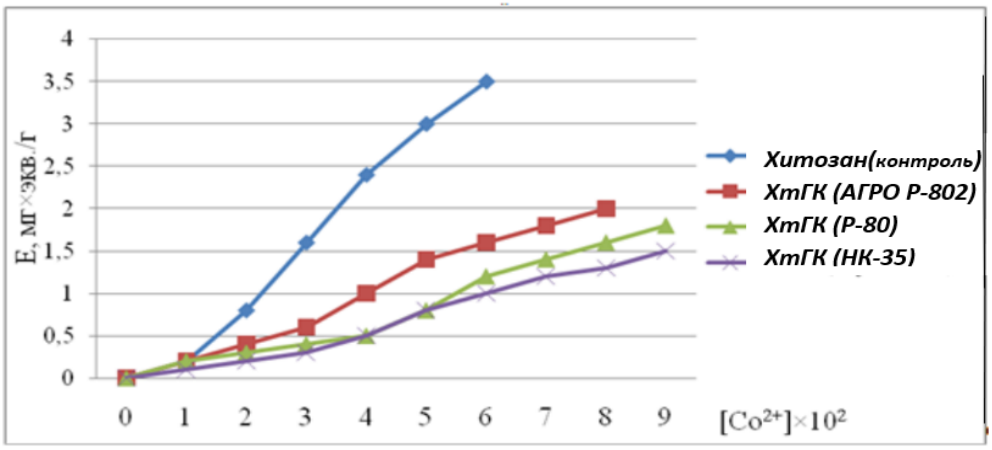


Рисунок 2. Степень извлечения ионов кобальта растворами ХтГК при pH=2,0

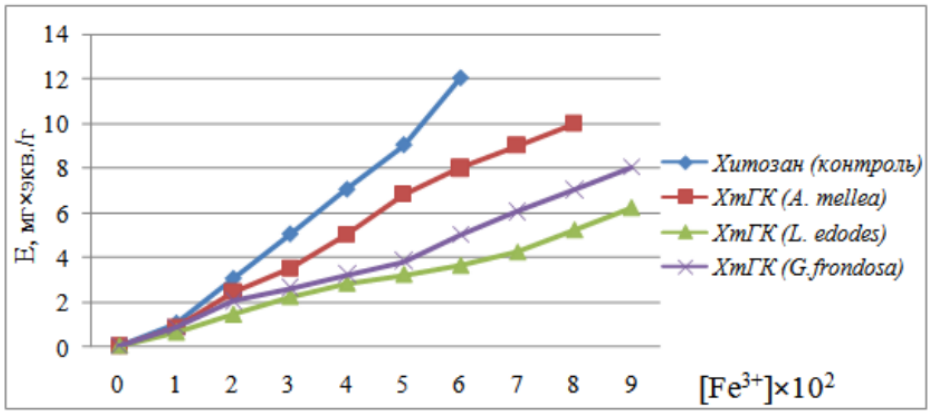


Рисунок 3. Степень извлечения ионов железа растворами ХтГК при pH=6,7

Анализ полученных данных показал, что количество связанных ионов металлов значительно зависит от pH среды. Наиболее близкой сорбционной способностью в сравнении с контрольным образцом обладал ХтГК, выделенный из плодовых тел штамма АГРО Р-802. Степень извлечения ионов кобальта и железа ХтГК из штамма Р-80 при pH=6,7 была в 1,3 и 2,0 раза выше, чем степень извлечения этих ионов ХтГК, полученными из штамма НК-35. Можно предположить, что в нейтральных и близких к нейтральным средам (pH=6–7) происходит образование хелатных комплексов металла с хитозаном, происходит это с участием как аминогруппы, так и кислорода, а также других групп, влияние которых хорошо изучено. Резкое снижение сорбционной способности хитозана по отношению к ионам кобальта в сильнокислых средах (pH=2) объясняется тем, что в этих условиях хитозан находится в протонированной форме. В результате исключается участие в образовании хелатного комплекса аминогрупп, а также положительный заряд по цепи макромолекулы хитозана препятствует взаимодействию положительно заряженных ионов металла с атомами кислорода.

Так же, нами была установлена сильная зависимость сорбционной способности ХтГК от природы кислот, которые использовались для приготовления исходных растворов ХтГК (рисунки 4-5).

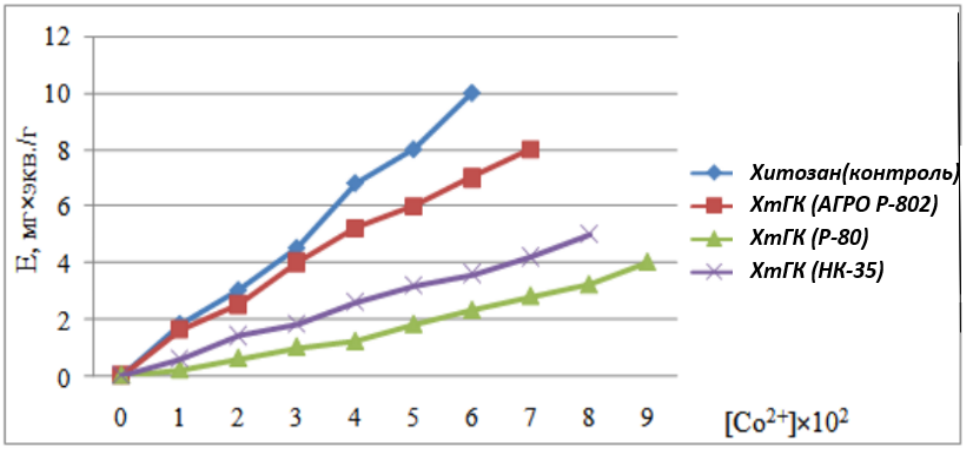


Рисунок 4. Степень извлечения ионов кобальта 0,4 % растворами ХтГК в 0,33 М CH3COOH

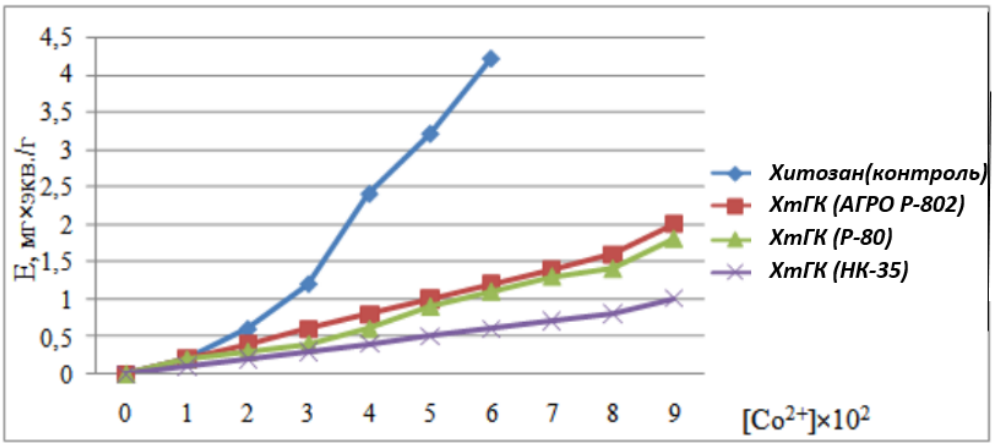


Рисунок 5. Степень извлечения ионов кобальта 0,4 % растворами ХтГК в 0,33 М HCl

Предельная величина сорбции Co^{2+} (4,2–10,0 мг×экв./г) на хитозане, полученном из ракообразных, превышает сорбционную способность ХтГК из штамма Р-80 (1,8–4,0 мг×экв./г) и штамма НК-35 (1,0–5,0 мг×экв./г) и сопоставима с сорбционной емкостью ХтГК из штамма АГРО Р-802 (2,0–8,0 мг×экв./г).

Несмотря на значительное сходство химических свойств Co^{2+} и Fe^{3+}, эффективность их сорбции на ХтГК заметно отличается. Анализ изотерм адсорбции показывает, что сорбционная способность ХтГК из плодовых тел испытуемых грибов по отношению к ионам Fe3+ значительно превосходит сорбцию ионов Co2+ (рисунки 6-7).

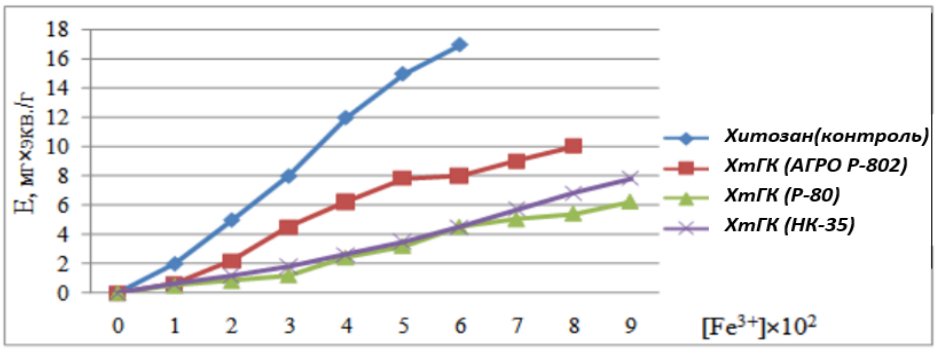


Рисунок 6. Степень извлечения ионов железа 0,4 % растворами ХтГК в 0,33 М CH3COOH

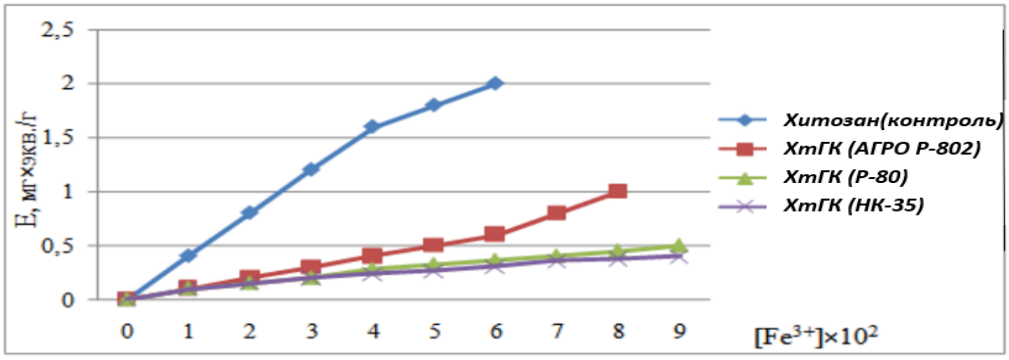


Рисунок 7. Степень извлечения ионов железа 0,4 % растворами ХтГК в 0,33 М HCl

В результате проведенных исследований можно сделать вывод что испытуемые ХтГК имеют сорбционные характеристики по отношению к ионам Co2+ и Fe3+. При этом наиболее эффективным испытуемым сорбентом является ХтГК, выделенный из плодовых тел АГРО Р-802, поэтому его можно рекомендовать в качестве энтеросорбента тяжелых металлов. ХтГК, растворенные в уксусной кислоте, примерно в 2–4 раза эффективнее извлекают ионы металлов, чем ХтГК, растворенные в соляной кислоте. Это можно объяснить различием в конформационном состоянии макромолекул ХтГК в уксусной и соляной кислотах.

Список источников

1. Lower SE (1984) Полимеры из морского хитина и хитозана. Manuf Chem 55: 73-5.
2. Скаугруд О., Сарджент Г. (1990) Хитин и хитозан: биополимеры ракообразных с потенциальным применением. Международная конференция по побочным продуктам, Анкоридж, Аляска, стр. 61-72.
3. Панчакшари В., Шрикант К.П., Кришнаанд В., Суреш Бабу Ч. (2016) Извлечение хитина и хитозана из биологических отходов креветок Macrobrichum rosenbergii и тигровой креветки Penaeus monodon. Полное руководство по микробиологии Sci 5 (7): 751-758.
4. Ринаудо М. (2006) Хитин и хитозан: свойства и применение. Прогресс науки о полимерах 31 (7): 603-632.
5. Ринаудо М. (2008) Основные свойства и текущее применение некоторых полисахаридов в качестве биоматериалов Polym Int 57: 397-430.
6. Ринаудо М. (2012) Физические свойства хитозана и производных в золь- и гель-состояниях. В системах на основе хитозана для биофармацевтических препаратов: доставка, нацеливание и полимерная терапия; Сарменто Б., дас Невес Дж., ред.; Джон Уайли и сыновья: Чичестер, Великобритания, стр. 23-44.
7. Ринаудо М. (2014) Материалы на основе хитина и хитозана. В пластиках на биопластике: материалы и применения; Кабасчи С., ред.; Джон Уайли и сыновья: Чичестер, Великобритания, стр. 63-80.
8. Нитар Н., Тецуя Фуруике, Хироши Т. (2011) Производство, свойства и применение полисахаридов клеточной стенки грибов: хитозана и глюкана. Adv Polym Sci 244: 187-208.
9. Звездова Д. (2010) Синтез и характеристика хитозана из морских источников Черного моря. Научные работы Университета Русе, Болгария 49: 65-69.
10. Блэквелл Дж. (1973) Хитин. В биополимерах, Walton AG, Блэквелл Дж., (Ред.), Нью-Йорк, США. стр. 474-489.

© Ловцова Л.Г., Майоров А. В., 2024

Научная статья
УДК 579.22

Изучение влияния состава субстрата на продуктивность гриба вешенка штамм АГРО Р-8022

Лариса Геннадиевна Ловцова, Александр Владимирович Майоров, Валерия Олеговна Соловьева, Диана Фаритовна Мухамедова
Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова, г. Саратов

Аннотация. В статье приводятся данные об определении оптимальных соотношений компонентов субстратного блока в производственных условиях для получения максимального урожая плодовых тел гриба вешенка штамм АГРО Р-802. Установлено, по показателю скороспелости, в составе с соотношением 30% соломы и 70% лузги наблюдался самый быстрый показатель появления примордиев на 14 день. В первые показано, что наиболее близкое к нормам питательности соотношение углерода к азоту в комбинированных субстратах в пропорциях: солома-лузга 30-70% и 40-60% с показателем 55/12 и 56/24 соответственно.

Ключевые слова: грибы вешенка, плодовое тело**,** солома, лузга, субстрат

Studying the effect of substrate composition on productivity oyster mushroom strain AGRO P-802

Larisa Gennadievna Lovtsova, Alexander Vladimirovich Mayorov, Valeria Olegovna Solovyova, Diana Faritovna Mukhamedova
Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, Saratov

Annotation. The article provides data on determining the optimal ratios of the components of the substrate block in production conditions to obtain the maximum yield of the fruit bodies of the oyster mushroom strain AGRO R-802. It was found, according to the indicator of precocity, in a composition with a ratio of 30% straw and 70% husk, the fastest indicator of the appearance of primordia was observed on day 14. The first shows that the ratio of carbon to nitrogen in the combined substrates is closest to the nutritional standards in the proportions: straw-husk 30-70% and 40-60% with an index of 55/12 and 56/24, respectively.

Keywords: oyster mushrooms, fruit body, straw, husk, substrate

Вешенка обыкновенная (Pleurotus ostreatus) относится к дереворазрушающим грибам и культивируется во многих странах мира. К настоящему времени данный гриб получил широкое распространение на территории России, в том числе в регионах Поволжья.

Преимуществами вешенки являются традиционный грибной вкус для жителей России, повышенная пищевая ценность и лечебно-профилактические свойства. Вешенка обладает морфологическим строением, присущим высшим грибам, традиционным для централтного региона и наиболее употребляемому в России культивированному виду грибов.

Вешенка обыкновенная является источником широкого спектра углеводов, высокое содержание которых объясняется дереворазрушающим характером гриба. Также гриб представляет интерес как источник витаминов, жирных кислот и минеральных веществ.

Для культивирования вешенки обыкновенной могут использоваться различные субстраты, от которых зависят органолептические показатели и химический состав гриба. В частности, по литературным данным содержание белка в вешенке может варьировать от 1,53 до 2,83 %, в грибах содержатся все незаменимые аминокислоты, а их состав также может варьировать.

В настоящее время в грибоводстве используется и отходы растениеводства. Состав растительных отходов, в основном, полисахариды целлюлоза, гемицеллюлоза и лигнин. Сложная структура лигноцеллюлозного комплекса весьма устойчива к ферментативному разрушению. Наиболее заметную роль в разрушении растительных остатков играют ксилотрофные или дереворазрушающие базидиальные грибы, к которым и относятся грибы рода вешенка. Культивирование вешенки является наиболее перспективным методом деградации лигноцеллюлозных отходов.

Технология выращивания гриба вешенка описана достаточно широко. Однако все инструкции имеют многочисленные разногласия и чаще всего специфичны только для небольших производств. В качестве основного компонента субстратного блока могут применяться опилки древесные, солома, костра, лузга подсолнечника, щепа и т. д. Кроме того, в качестве питательной добавки рекомендуется еще около двух десятков компонентов [1, 2, 5].

Цель исследования. Определение оптимальных соотношений компонентов субстратного блока в производственных условиях для получения максимального урожая плодовых тел гриба вешенка штамма АГРО Р-802.

Материалы и методы. Для изучения влияния состава субстрата на продуктивность гриба вешенка был выбран новый штамм гриба вешенка АГРО Р-802 из коллекции штаммов Агроцентра. АГРО Р-802 – урожайный новый штамм, который формирует многочисленные грибные тела с интенсивной серо-коричневой окраской шляпки, (в отличие от штамма Р-80) с более толстой и плотной ножкой, не уступает по конкурентоспособности и продуктивности, имеет несильно повышенную скороспелость, относительно крупные шляпки и более выносливк к повышенным концентрациям CO_2.

Исследования по выращиванию грибов вешенка проводились в структурном подразделении Вавиловского университета УНПК «Агроцентр» в агрохимической лаборатории и лаборатории кафедры «Микробиология и биотехнология» факультета ветеринарной медицины пищевых и биотехнологий.

Нами было предложено использование пастеризации для обработки субстрата. Пастеризация-это процесс обработки субстрата паром при температуре от 60°С до 80°С в течение 1,5 - 2 ч.

Опыты проводились в 4 повторностях по 10 мешков массой 10 - 12 кг.

Схема эксперимента

Контроль 1	**Контроль 2**	**Образец 1**	**Образец 2**	**Образец 3**	**Образец 4**
Лузга подсолнечника	Солома пшеничная	Солома+ лузга 20 %/80 %	Солома+ лузга 30 %/70 %	Солома+ лузга 40 %/60 %	Солома+ лузга 50 %/50 %

Результаты и обсуждение. В проведенных опытах по выявлению субстратов нами было установлено, что комбинированные по своему составу субстраты неодинаково влияют на появление зачатков плодовых тел.

Также выявлено, что различные процентные соотношения субстрата на основе соломы и лузги подсолнечника по разному влияют на зачатки плодовых тел (примордиев) (рисунок 1).



Рисунок 1. Скорость появления примордиев в зависимости от состава субстрата

Так как из всех исследуемых субстратов только в составе с соотношением 30 % соломы и 70 % лузги наблюдается самый быстрый показатель появления примордиев на 14 день при сравнении с субстратом содержащим 50 % соломы на 16 день и 40 % соломы соответственно на 15 день, можно предположить, что именно солома является катализатором для более раннего появления плодовых тел.

Для того чтобы выяснить, существует ли зависимость между присутствием соломы в субстрате и скороспелостью, мы провели дополнительные опыты с различным процентным соотношением данного компонента в субстрате. В

результате исследования научных трудов было установлено, что микроэлементный состав субстрата влияет на скорость обрастания грибного блока, но до сих пор не изучены точные количественные пропорции микроэлементов. Исходя из этого, был проведен анализ субстратов на содержание в них некоторых микроэлементов, результаты которого отражены на рисунке 2.

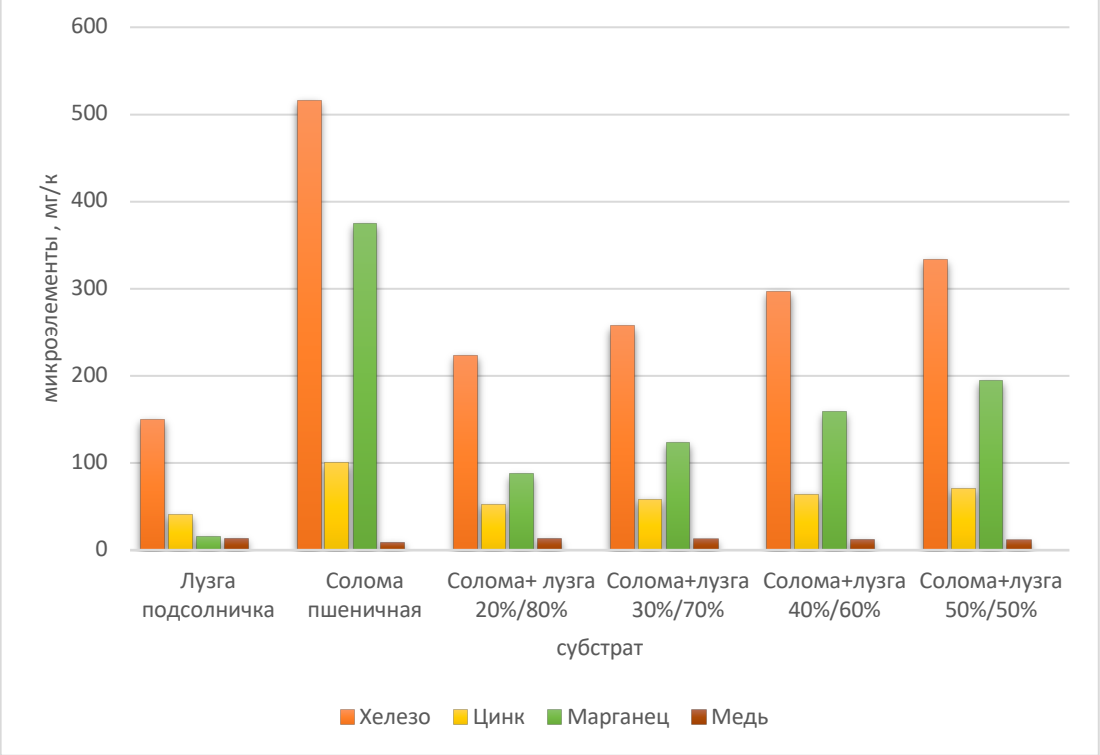


Рисунок 2. Зависимость содержания микроэлементов от состава субстрата

На основании данных можно сделать заключение, что длительный процесс обрастания субстрата на основе соломы обусловлен высоким содержанием микроэлементов.

В лузге подсолнечника содержание железа, цинка, марганца и меди напротив низкое. Наиболее скороспелыми являются субстраты с содержанием соломы от 20 % до 40 %, поэтому их состав микроэлементов следует принять за оптимальный.

Таким образом, стимуляция роста мицелия наблюдается при содержании в субстрате - железа - 220 - 300 мг/кг, - цинка - 52 - 60 мг/кг, - марганца - 90 - 160 мг/кг; - меди - 11,5 - 12,5 мг/кг

Можно рекомендовать добавление в комбинированный субстрат соломы в количестве 20-40 % для скорости обрастания грибного блока, его формирования и появления примордиев в более короткий срок. Количество соломы более 50% процентов не приводит к уменьшению срока появления примордиев, но может быть использовано для балансирования питательности.

Для выявления лучшего состава субстрата наиболее подходящего для выращивания штамма АГРО Р-802 мы исследовали показатели питательности

по оптимизации грибного субстрата, которым является отношение азота к углероду и содержание азота в исходном субстрате.

Считается, что оптимальное содержание азота в сухом веществе 0,75-0,95 %, а отношение C/N примерно 50-55 % [7]. Чтобы субстрат имел оптимальные показатели, его требуется комбинировать из различных видов растительного сырья. На рисунке 3 представлены результаты процентного содержания углерода в зависимости от состава субстрата, как видно из экспериментальных данных повышение процентного содержания соломы увеличивает показатель углерода в субстрате, так на содержание 20 % соломы в субстрате показатель углевода составил 30,32 %, против 31 % при увеличении количества соломы в субстрате на 10 %, и для увеличения количества соломы от 40 до 50 % показатель изменился с 33,35 до 34 % соответственно.

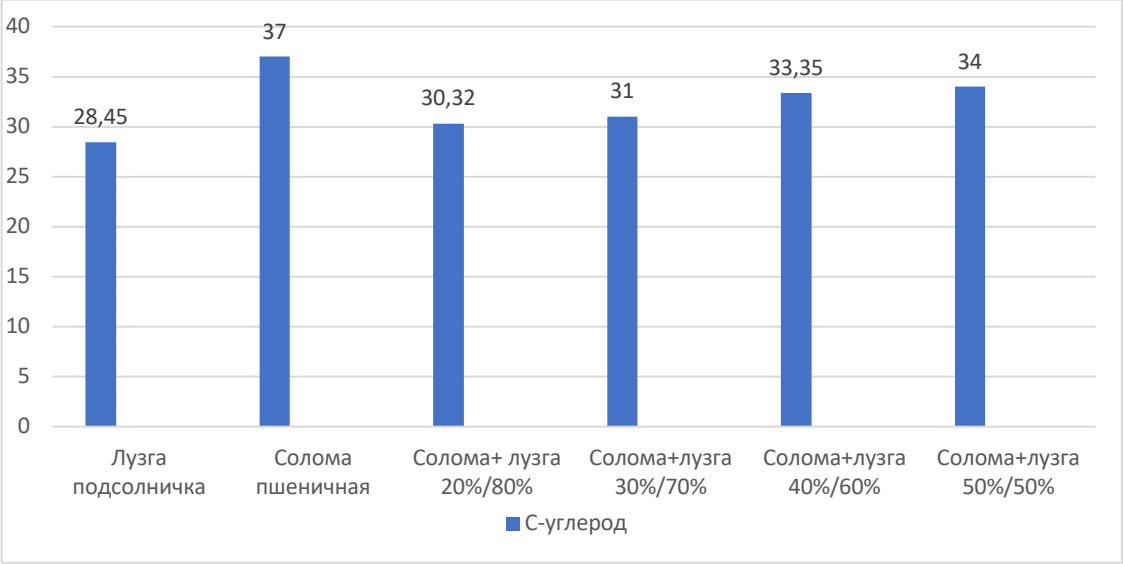


Рисунок 3. Влияние состава субстрата на содержание С-углерода, %

Наследующей диаграмме представленной на рисунке 4 отчетливо наблюдаем противоположную зависимость от увеличения количества соломы уменьшается показатель содержания азота в сухом субстрате от 0,73 до 0,65 % при увеличении соломы от 20-50 %. Хотя по азоту, только лузга подсолнечника соответствует нормам.

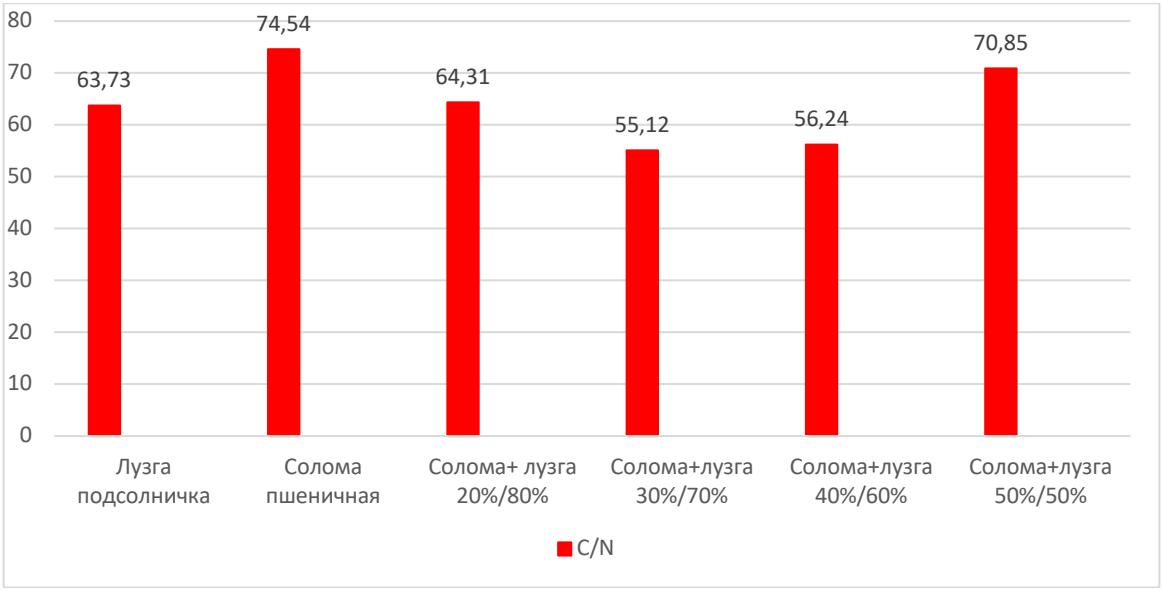


Рисунок 4. Влияние состава субстрата на содержаниесоотношения C/N, %

Из данных представленных на рисунке видно, соотношение углерода к азоту в лузге 63к73 в соломе 74к54 а полученные комбинированные субстраты в соотношении солома-лузга 30-70 % и 40-60 % наиболее близки к нормам питательности по соотношению углерода с показателем 55,12 и 56,24 соответственно.

Урожайность является самым важным фактором биологической эффективности в промышленном грибоводстве. В результате полученных данных была проведена статистическая обработка результатов по показателю урожайности дисперсионным анализом.

Это, позволяет оценить точность опытной работы и существенность разностей по вариантам: субстрат на основе соломы и лузги подсолнечника (20-80 %) превышает стандарт не только при 5 %-ном, но и при 1 %-ном уровне значимости.

Субстрат на основе соломы и лузги подсолнечника (30-70 %) несущественно отличается от стандарта, разности между стандартом и вариантом не выходят за пределы ±НСР0,5

На основании этого рекомендуется применять данный субстрат как альтернативный, для использования имеющегося сырья.

По субстрату на основе соломы и лузги подсолнечника (40-60 %), превышают стандарт только при 1%-ном, а при 5 %-ном уровне значимости в разности между стандартом и вариантом не выходят за пределы ±НСРо5

Субстрат на основе соотношения 50-50 % оказался не эффективным, поэтому данные показания не учитываются.

Список источников

1. Вдовенко, С. А. Влияние температуры на урожайность вешенки обыкновенной при интенсивном выращивании / С. А. Вдовенко // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2019. – № 2(22). – С. 17–20.

2. Величко, Н. А. Химический состав плодового тела гриба Pleurotus ostreatus (Fr) Kumm / Н. А. Величко, З. Н. Берикашвили // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2018. – № 4. – С. 274–278.

3. Закутнова, В. И. Биохимические исследования грибов долины Нижней Волги / В. И. Закутнова, А. В. Левченко, Е. Б. Закутнова // Биохимические исследования грибов долины Нижней Волги. – 2013. – № 3(25). – С. 110–114. 171

3. Запотоцкая, Е. В. Исследование реологических свойств гидроколлоидов / Е. В. Запотоцкая, В. Я. Пичкур, А. В. Лысый, Е. В. Грабовская, В. Н. Ковбаса // Science and education a new dimension. – 2013. – Vol. 2. – P. 207–210.

5. Зарицкая, В. В. Перспективы использования грибов рода вешенка Pleurotus (Fr.) P. Kumm. в производстве колбасных изделий / В. В. Зарицкая, Н. А. Кочунова // Дальневосточный аграрный вестник. – 2017. – № 4(44). – С. 157–164.

5. Инженерная реология : учеб.-метод. комплекс / А. Н. Пирогов, Д. В. Доня. – Кемерово : КемТИПП, 2014. – 110 с.

6. Лазарева, Т. Г. Анализ производства и рынка грибов в России [Электронный ресурс] / Т. Г. Лазарева, Е. Г. Александрова // Вестник Евразийской науки. – 2019. – Т. 11, № 1.

© Ловцова Л.Г., Майоров А. В., 2024

Научная статья
УДК 620.3

Дарья Владимировна Манушина, Софья Владимировна Горшунова, Ярослав Борисович Древко
Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова,
г. Саратов

Синтез наночастиц селена с использованием амиака стабилизированым ТВИН-80.

Аннотация: Создание наночастиц селена для восполнения дефицита селена в организмах млекопитающих, добавки растениям, за счёт использования уникальной технологии синтеза наночастиц, что позволяет подобрать оптимальный размер наночастиц (2-4 нм) за счёт низкой токсичности и высокой усвояемости, стабилизировать нетоксичным ТВИН-80, с минимальной ценой повышающим физико-химические свойства добавки, в частности растворимости в воде, что позволяет увеличить удобство применения и эффективность добавки.

Ключевые слова: наночастицы, селен, ТВИН-80, аммиак

Daria Vladimirovna Manushina, Sofya Vladimirovna Gorshunova, Yaroslav Borisovich Drevko
Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov,
Saratov

SYNTHESIS OF SELENIUM NANOPARTICLES USING AMMONIA STABILIZED TWIN-80.

Abstract: Creation of selenium nanoparticles for replenishment of selenium deficiency in mammalian organisms, additives for plants, due to the use of unique technology of nanoparticles synthesis, which allows selecting the optimal size of nanoparticles (2-4 nm) due to low toxicity and high digestibility, stabilized by non-toxic TWIN-80, with minimum price increasing the physical and chemical properties of the additive, in particular water solubility, which allows increasing the convenience of use and efficiency of the additive.

Keywords: nanoparticles, selenium, TWIN-80, ammonia

Наночастицы селена являются объектом повышенного интереса для научных исследований, благодаря своим уникальным свойствам и

потенциальным применениям в различных областях, таких как медицина, электроника и катализ [1]. Эти наночастицы обладают высокой биологической активностью, что открывает перспективы для создания новых препаратов и диагностических средств [2]. Однако, одной из основных проблем синтеза наночастиц селена является их тенденция к окислению и нестабильности. В данном исследовании предлагается использование аммиака и стабилизатора твин-80 для синтеза наночастиц селена с целью улучшения их стабильности и длительности сохранения их уникальных свойств [3].

Мы брали 3 плоскодонные колбы объемом 250 мл ставили на магнитную мешалку и водяную баню добавляли 50 мл изопропилового спирта, (10 мл аммиака), доводили t=50 ^{0}C при постоянном перемешивании добавляли дихлордиацетофенонилселенид 0,1 г, 0,4 г ТВИН-80 и перемешивали на протяжении 2-х часов. При этом закрывали колбы гидравлическим затвором. Далее проводили исследование методом тонкослойной хроматографии с использованием элюента 3/1/1 гексан/диэтиловый эфир/хлорофом, в качестве стандарта сравнения использовали дихлордиацетонфенонилселенид. В результате анализа было установлено, что стандарт отсутствует в исследуемом растворе, что позволяет предполагать полное прохождение реакции получения наночастиц из дихлордиацетофенонилселенида.

Далее добавляли 200 мл дистиллированной воды и проводили лиофилизацию.

Проведенные исследования показали, что синтез наночастиц селена с использованием аммиака и стабилизатора ТВИН-80 дал положительные результаты. Наночастицы получились равномерного размера и сферической формы. Стабилизатор ТВИН-80 способствовал образованию стабильных дисперсий наночастиц и предотвращал их агрегацию. Анализ оптических свойств показал наличие пиков в определенных областях спектра, что указывает на формирование наночастиц селена.

Результате настоящего исследования показано, что синтез наночастиц селена с использованием аммиака и стабилизатора ТВИН-80 является эффективным методом для получения стабильных наночастиц селена. Полученные данные могут быть использованы для дальнейших исследований в области создания новых материалов и технологий на основе наночастиц селена. Этот метод синтеза представляет потенциал для широкого использования в различных областях, включая медицину, электронику и катализ.

В данной статье был рассмотрен процесс синтеза наночастиц селена с использованием аммиака, стабилизированных ТВИН-80. Подчеркнута важность этого процесса для различных областей применения наноматериалов селена.

Список источников

1. Li, Z., Chen, Z. (2019). Selenium Nanoparticles and Their Applications in Chemico- and Biosensing. The Royal Society of Chemistry.

2. Singh, P., Kim, Y.-J., Zhang, D. (2016). Selenium Nanoparticles: Potential in Cancer Gene and Drug Delivery. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine.

3. Wang, H., Zhang, J. (2013). Synthesis, Characterization and Application of Selenium Nanoparticles. Nano Today.

© Манушина Д.В., Горшунова С.В., Древко Я.Б., 2024

Научная статья

УДК 620.3

Елизавета Валерьевна Писаревская, Софья Владимировна Горшунова, Ярослав Борисович Древко
Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия

Исследование антимикробной активности наночастиц селена размером 1-2 нм

Аннотация: В эксперименте проведен анализ наночастиц селена размером 1-2 нм на антимикробную активность в отношении E.Coli, Ps. Pseudoalcaligenes, P. Aeruginosa, где использовались уже синтезированные наночастицы, чем подтвержден размер частиц при помощи электронной микроскопии.

Ключевые слова: наночастицы, селен, E.Coli, Ps. Pseudoalcaligenes, P. Aeruginosa

Elizaveta Valeryevna Pisarevskaya, Sofya Vladimirovna Gorshunova, Yaroslav Borisovich Drevko
Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, Saratov, Russia

Investigation of antimicrobial activity of selenium nanoparticles 1-2 nm in size

Abstract: The experiment analyzed selenium nanoparticles 1-2 nm in size for antimicrobial activity against E.Coli, Ps. Pseudoalcaligenes, P. Aeruginosa, where already synthesized nanoparticles were used, which confirmed the particle size using electron microscopy.

Keywords: nanoparticles, selenium, *E.Coli, Ps. Pseudoalcaligenes, P. Aeruginosa*

Нанобиотехнологии находят широкое применение в медицине, сельском хозяйстве и охране окружающей среды [1]. Многие болезни, от которых сегодня нет лекарств, могут быть излечены с помощью нанотехнологий в будущем. Использование нанотехнологий в медицинской терапии требует адекватной оценки факторов риска и безопасности [2-3].

В наших экспериментах мы использовали уже готовые синтезированные наночастицы селена, которые отправлялись на электронную микроскопию, где был получен размер 1-2 нм, что является оптимальным для дальнейших исследований.

Одним из важных исследований полученных наночастиц селена является изучение их влияния на биологические процессы.

В наших экспериментах мы определяли антимикробную активность наночастиц:

Каждый образец исследовали в разных концентрациях, для этого делали разведение с концентрациями растворов: 100, 50, 25, 12,5, 6,25 мкг/мл.

Использовали микроорганизмы: *Escherichia coli M22, Pseudomanas Pseudoalcaligenes PPA, Pseudomanas Aeruginosa XABC 02.*

Общим для всех методов тестирования является стандартизация микробной взвеси исследуемого микроорганизма. Концентрация должна составлять 1,5*108 КОЕ/мл. Методом оценки концентрации бактериальной суспензии является измерение ее оптической плотности. Оптическая плотность бактериальной суспензии с концентрацией 1,5*108 КОЕ/мл при визуальном контроле должна соответствовать стандарту мутности 0,5 по МакФарланду

Для определения наличия роста микроорганизма пробирки Количество пробирок - 24 штуки: по два ряда с шестью пробирками (один контроль и пять пробирок для добавления образца с разной концентрацией) на каждый микроорганизм. Параллельно с этим производим разведения исследуемого образца. Для разведения используем 10 пробирок. В первых пяти непростерилизованных пробирках образец разводим следующим способом:

В первой пробирке 0,04 г образца разводим с 4 мл физраствора.

Во вторую переносим 2 мл полученного раствора и затем добавляем ещё 2 мл физраствора. Далее повторили данное действие для 3, 4 и 5 пробирки. Из последней пробирки удаляем 2 мл раствора.

В итоге получаем разведения со следующими концентрациями: в первой пробирке - 10 мг/мл, во второй - 5 мг/мл, в третьей - 2,5 мг/мл, в четвертой - 1,25 мг/мл, в пятой - 0,625 мг/мл.

После, в боксе при стерильных условиях в уже стерилизованные пробирки со средой добавляем 0,5 мл каждой культуры, соответствующей стандарту мутности 0,5 по МакФарланду (108 КОЕ/мл), и 0,5 мл разведенного образца каждой концентрации, который в контрольные пробирки не добавляли. Контрольные пробирки помещаем в холодильник при 4 °С.

Для определения наличия роста микроорганизма пробирки с посевами просматриваем в проходящем свете и сравниваем рост культур с контрольными пробирками.

На рисунке 1 можно увидеть изменения, а именно рост бактерий *E. Coli* с равномерным помутнением среды в контроле. И также по отношению к *E. Coli* у нас наблюдалась мутность в пробирке номер 5 с концентрацией наночастиц 0,625 мл/г, в пробирке номер 4 с концентрацией наночастиц 1,25 мл/г.

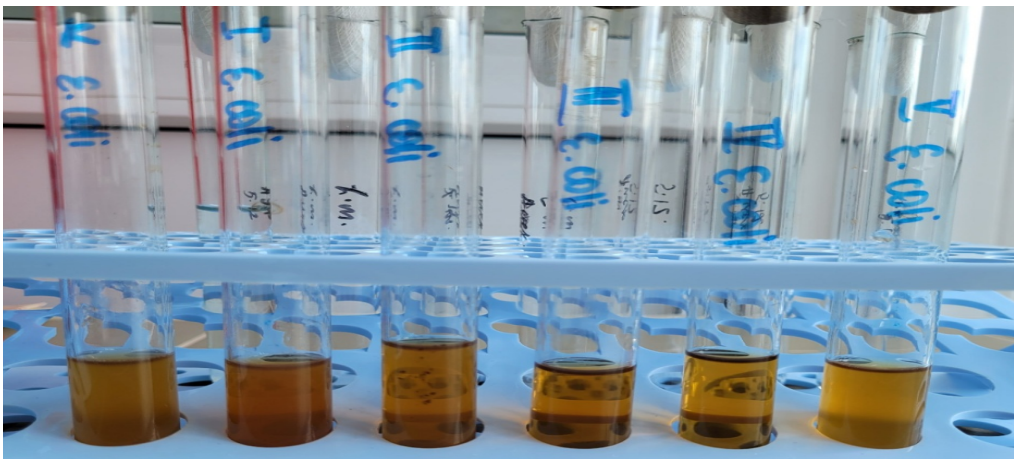


Рисунок 1. исследование антимикробной активности в отношении *E.Coli*

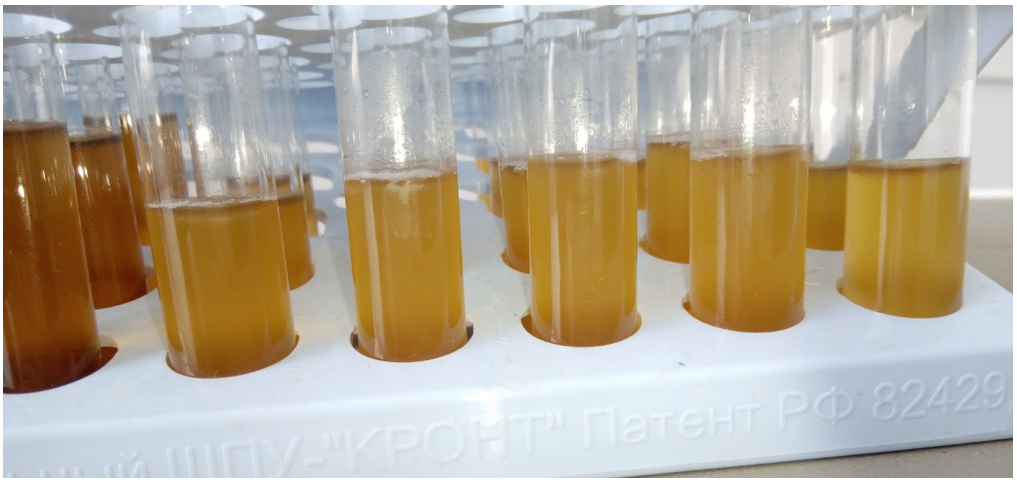


Рисунок 2. исследование антимикробной активности в отношении *Ps. Pseudoalcaligenes*

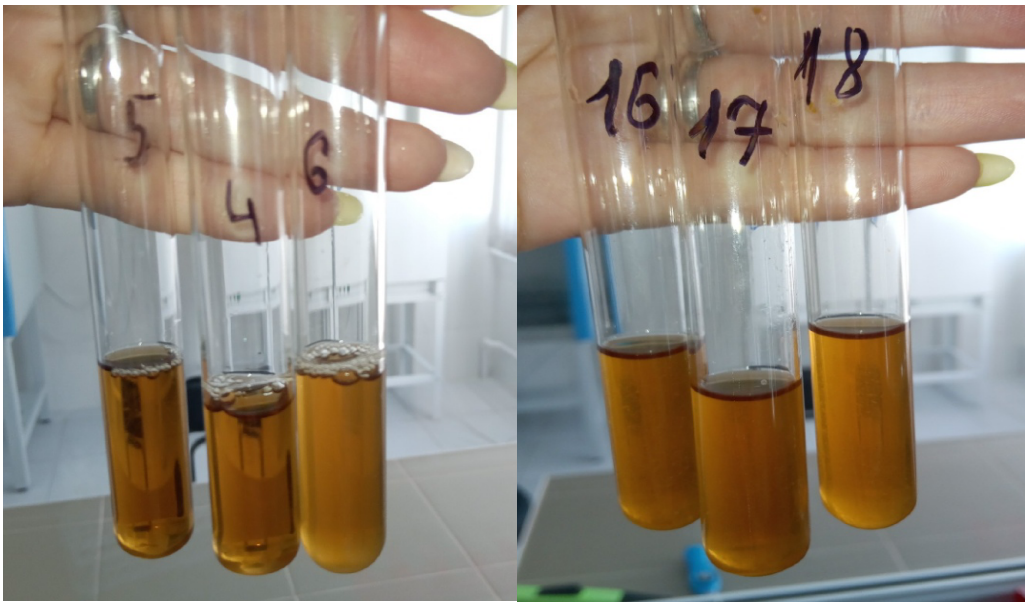


Рисунок 3. исследование антимикробной активности в отношении *P. Aeruginosa*

Данные наночастицы обладают антимикробной активностью в отношении *E. Coli, Ps. Pseudoalcaligenes, P. Aeruginosa*, что может быть использовано при разработке селективных питательных сред или при создании антибактериальных препаратов.

Список использованных источников

1. Ranjitha, V. R. Selenium nanostructure: Progress towards green synthesis and functionalization for biomedicine / V. R. Ranjitha // J Pharm Investig. – 2021. – V. 51. – P. 117-135.
2. Biochemistry, cellular, and molecular biology, and physiologica roles of the iodothyronineselenodeiodinases / A.C. Bianco, D. Salvatore, B. Gereben [et al.] // Endocrinol. Rev. – 2002. – V. 23, №1. – P. 38-89.
3. Duntas, L.H. Selenium: an element for life/ L.H. Duntas, S. Benvenga // Endocrine. – 2015. – V. 48, № 3. – P. 756-775.

© Писаревская Е.В., Горшунова С.В., Древко Я.Б., 2024

Научная статья
УДК: 579.64:633.13:631.46

Испытание новой препаративной формы биопрепарата «РИЗО – С» на злаковых культурах

Лидия Романовна Романова, Татьяна Владиславовна Спиряхина, Заур Юрьевич Хапцев, Сергей Владимирович Иващенко
Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова,
г. Саратов

Аннотация. В статье рассмотрен биопрепарат «РИЗО – С». Изучены свойства компонентов биопрепарата и их действие по отношению к растениям. Показаны результаты испытания разбавленного биопрепарата «РИЗО – С» на озимой ржи сорта Саратовская 7 и овсе.
Ключевые слова: РИЗО – С, овёс, озимая рожь, *Pseudomonas aureofaciens, Azotobacter vinelandii,* биопрепараты

Testing of a new preparative form of the biological preparation "RIZO – S" on cereals

Lidiya R. Romanova, Tatiana V. Spiriakhina, Zaur Yu. Khaptsev, Sergei V. Ivaschenko
Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N. I. Vavilov, Saratov

Abstract. The article considers the biological product "RIZO – S". The properties of the components of the biological product and their effect on plants have been studied. The results of testing the diluted biological preparation "RIZO – S" on winter rye of the Saratov 7 variety and oats are shown.
Keywords: RHIZOME, oats, winter rye, Pseudomonas aureofaciens, Azotobacter vinelandii, biological products

Введение

Микробиологические удобрения (биопрепараты) – это удобрения, содержащие микроорганизмы, способные повышать содержание питательных веществ (азотфиксирующие клубеньковые и ассоциативные бактерии). Биопрепараты на основе цианобактерий (синезеленых водорослей) содержат культуры цианобактерий: *Cylindrospermum, Aulosira, Tolypothrix tenuis, Anabaena cylindrica, Nostoc linckia*. В Индии, Китае и других странах тропической зоны альголизацию (внесение одного или нескольких штаммов водорослей в почву или введение в водоем) применяют довольно широко, преимущественно на рисовых полях. Обычно внесение цианобактерий в почву или воду рисовых

полей дает хороший эффект. Указанные микроорганизмы накапливают довольно большое количество азота, фиксируя N2, продуцируют биологически активные вещества и обогащают почву органическим веществом. Наибольшее практическое значение имеет симбиотическая азотфиксация цианобактерий рода *Anabaena*, особенно *Azolla Anabaena* с плавающим папоротником рода *Azolla*. Использование азолы в качестве удобрения дополнительно обогащают почву органическим веществом, улучшает ее структуру, повышая в результате продуктивность растений. Ее использование позволяет получать высокие урожаи риса в монокультуре без внесения минерального азота и органических удобрений. За вегетационный период цианобактерии связывают до 50-100 кг азота на 1 га и более. Половина этого количества азота усваивается посевами. Фиксированный азот частично выделяется из клеток при их жизни в виде аминокислот, частично после их отмирания. Биопрепараты на основе арбускулярных микоризных грибов обеспечивают ассимиляцию питательных (в основном фосфор- и азотсодержащих) веществ из почвы, а также способствуют выживанию растений в неблагоприятных условиях окружающей среды. В состав препарата Микоплант в состав входят почвенные грибы семейства Glomulus. В целом, научные источники отмечают следующие положительные эффекты микоризации:

1) улучшение потребления элементов питания;

2) уменьшение потребности в минеральных удобрениях;

3) повышение урожайности;

4) повышение устойчивости к вредоносным организмам;

5) повышение устойчивости к засухе, засолению;

6) снижение вредного воздействия тяжелых металлов;

7) улучшение структуры и водоудерживающей способностипочвы и благодаря этому снижение эрозии;

8) снижение интенсивности вымывания элементов питания изпочвы;

9) повышение конкурентоспособности мокоризованной культурыпо отношению к сорнякам.

РИЗО-С это эффективное биологическое средство защиты растений от грибных и бактериальных заболеваний, с ростостимулирующим действием. Действующее вещество – бактерии *Pseudomonas aureofaciens* и *Azotobacter vinelandii*. Бактерии способны к продукции внеклеточных соединений (гидролитические ферменты, антибиотические вещества, сидерофоров), оказывающих негативное действие на развитие возбудителей заболеваний, таких как: фузариоз, альтернариоз, фитофтороз, бурая ржавчина, септориоз, мучнистая роса, церкоспореллезные, ризоктониозные, питиозные корневые гнили и др. Кроме этого, эти полезные микроорганизмы воздействуют на иммунитет растения путем опосредованного оздоровления ризосферы, позитивно влияют на

структуру урожая, производят фитогормоны и факторы роста, фиксируют атмосферный азот в процессе аэробного роста. Благодаря этому воздействию такие культуры, как озимая и яровая пшеница, яровой ячмень, пивоваренный ячмень показывают увеличение фактической урожайности на 7-20%. Препарат обладает ростостимулирующими свойствами и способствует развитию мощной корневой системы за счет синтеза фитогормонов типа ауксинов и цитокининов, увеличивает энергию прорастания и всхожести семян на 10-15%. Увеличивает прирост фактической урожайности на 10-30%. В отличие от химических препаратов является экологичным и оказывает пролонгированное действие на развитие растений в целом, что приводит к повышению продуктивности и улучшению качества выращиваемой продукции. Испытания, проводимые в различных регионах европейской части России в течение последних четырех лет, также показывают, что препарат повышает качество зерна по содержанию белка и клейковины; снижает стресс зерновых культур от негативных явлений, таких как обработка ядохимикатами, засуха, низкие температуры окружающей среды. Основными компонентами препарата являются живые клетки штаммов бактерий: *Pseudomonas aureofaciens B11634* (ризосферный антагонист), *Azotobacter vinellandii Д-О8* (азотфиксирующий). Титр жизнеспособных клеток 10^{11} – 10^{12} КОЕ/мл. в состав препарата входит питательная среда для развития бактерий, антиокислитель, фосфат калия и гидросфосфат калия.



Рисунок 1. Канистра с биопрепаратом «РИЗО – С»

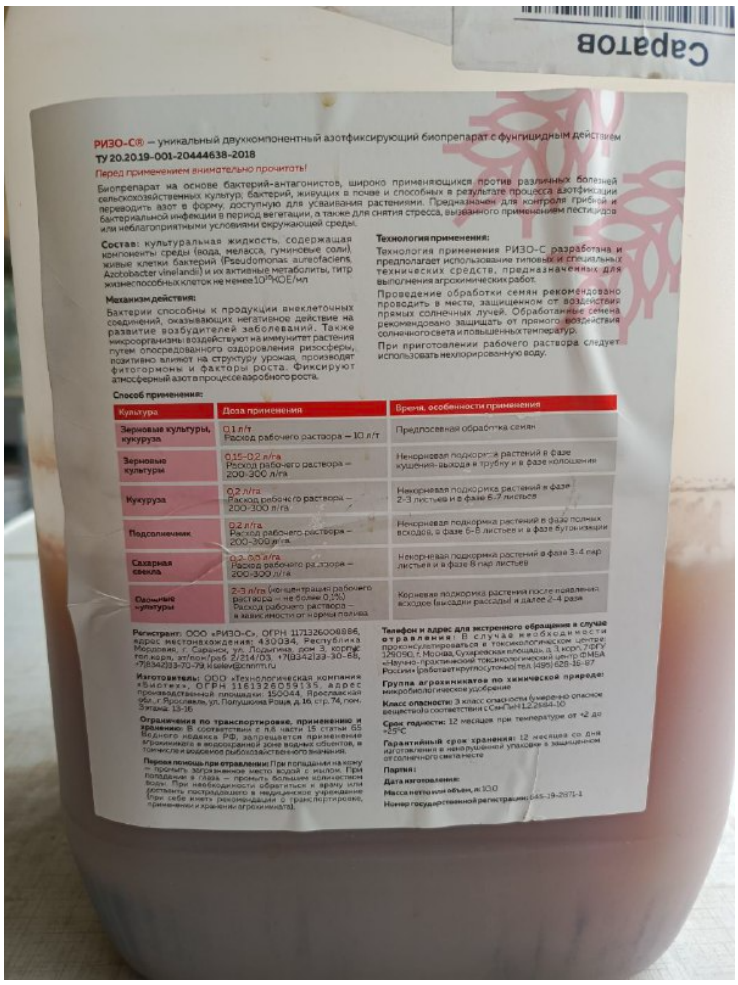


Рисунок 2. Канистра с биопрепаратом «РИЗО – С» (оборотная сторона)

Pseudomonas aureofaciens – вид бактерий из рода *Pseudomonas*, используемый в составе биопрепаратов для защиты растений от заболеваний. Вид грамотрицательных подвижных палочковидных бактерий с несколькими (от 2 до 4) жгутиками. Принадлежит к роду псевдомонад. Ризосферные бактерии, являющиеся антагонистами ряда патогенов. На их основе изготавливаются препараты (жидкость или паста) для обработки растений, чаще всего – семян. Средства на основе *Pseudomonas aureofaciens* используются против болезней зерновых и других культур, некоторые штаммы также нашли применение в защите некоторых овощей и корнеплодов. Препарат Псевдобактерин-2 может применяться в составе баковых смесей с некоторыми другими средствами. Препараты эффективны в отношении фитопатогенных грибов, также отмечается антибактериальная активность. Бактерии способны к продукции внеклеточных соединений, оказывающих негативное действие на развитие возбудителей заболеваний. Штаммы отличаются высокой активностью против гельминтоспориоза. Также микроорганизмы описываемого вида способны воздействовать на иммунитет растения путем опосредованного оздоровления ризосферы, позитивно влиять на структуру урожая, производить фитогормоны и факторы роста. Кроме того, бактерии увеличивают всхожесть семян, способствуют лучшей перезимовке и позитивно влияют на рекультивацию почв, загрязненных углеводородами.

Azotobacter vinelandii – грамотрицательная азотфиксирующая непатогенная почвенная бактерия, которая способна к дифференциации и формированию устойчивых к высыханию цист. Клетки *A. vinelandii* вытянутые и сферические по форме, имеют размеры приблизительно 2 × 5 мкм. *A. vinelandii* является облигатным аэробом, синтезирует фитогормоны, витамины, а также флуоресцентный пигмент пиовердин. *A. vinelandii* производит два полимера: альгинат и поли-β-гидроксибутират, которые участвуют в процессе образования цист. Альгинат – составная часть капсулы цисты, накопление поли-β-гидроксибутирата коррелирует с частотой образования цист. *A. vinelandii* способна к разнообразию метаболизма, что позволяет ей деградировать и использовать многочисленные субстраты. Альгинат является наиболее важным продуцируемым ею полисахаридом, хотя возможно получение и других ЭПС, например левана. Длина цепей и степень ацетилирования альгината и, следовательно, физико-химические и реологические свойства альгината могут варьировать в зависимости от нескольких факторов, но главным образом от окружающей среды и питания. Одним из наиболее важных условий является соединение, из которого микроорганизм получает энергию и углерод, необходимый для роста. Поскольку *A. vinelandii* могут фиксировать молекулярный азот из воздуха и переводить его в форму, доступную для растений, а также способны продуцировать широкий спектр веществ, обладающих антагонистической активностью по отношению к фитопатогенам, и образуют стимуляторы роста, их используют в составе биопрепаратов для растений.

Калий усиливает фотосинтез, образование сахаров, крахмала и других углеводов. При недостатке его в почве злаковые растения плохо кустятся, листья покрываются коричневыми пятнами. У картофеля, сахарной свеклы повышается восприимчивость к грибным заболеваниям, особенно при хранении. Внесение калийных удобрений увеличивает накопление углеводов, например, у озимых растений, что повышает устойчивость их против вымерзания. Калий увеличивает прочность механических тканей: у волокнистых растений улучшается качество волокна, у остальных – полегаемость. Фосфор играет большую роль в период формирования соцветий и плодоношения.

Материалы и методы исследования

Целью нашего исследования являлось изучить влияние биопрепарата «РИЗО – С» в обычном и разбавленном виде на озимую рожь сорта Саратовская 7 и овёс. В качестве биологической составляющей был выбран биопрепарат «РИЗО – С», выпускаемый компанией «Биотех». Хранится 12 месяцев при температуре от +2 до +25 °С. Далее необходимо было выяснить можно ли использовать этот биопрепарат в разбавленном виде на выбранных нами растениях. Объектом для исследования на злаковые культуры была выбрана озимая рожь сорта Саратовская 7. Для испытаний в почву вносили разбавленный в 2 раза биопрепарат «РИЗО – С» и тщательно перемешивали и проводили посев семян. Для сравнения посев в почву проводили с внесением жидкого препарата РИЗО –

С (неразбавленного) и без внесения. Было сформировано 3 группы растений: с внесением жидкого биопрепарата «РИЗО – С», с внесением разбавленного препарата «РИЗО – С» и контроль (почва без добавок). На 18 и 21 сутки измеряли высоту растений. Результаты представлены на диаграммах.

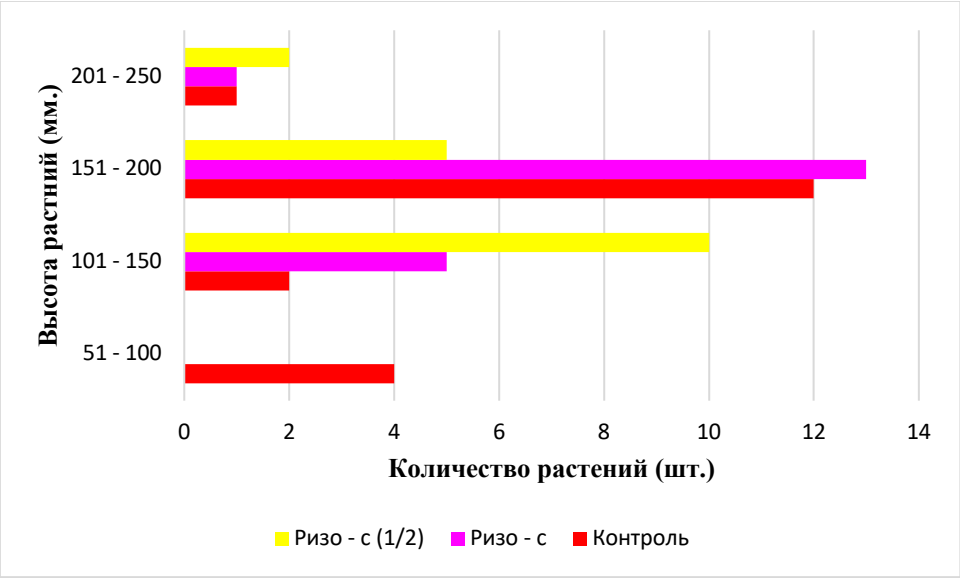


Рисунок 3. Влияние разбавленного биопрепарата на рост и развитие озимой ржи сорта Саратовская 7 (18 сутки)

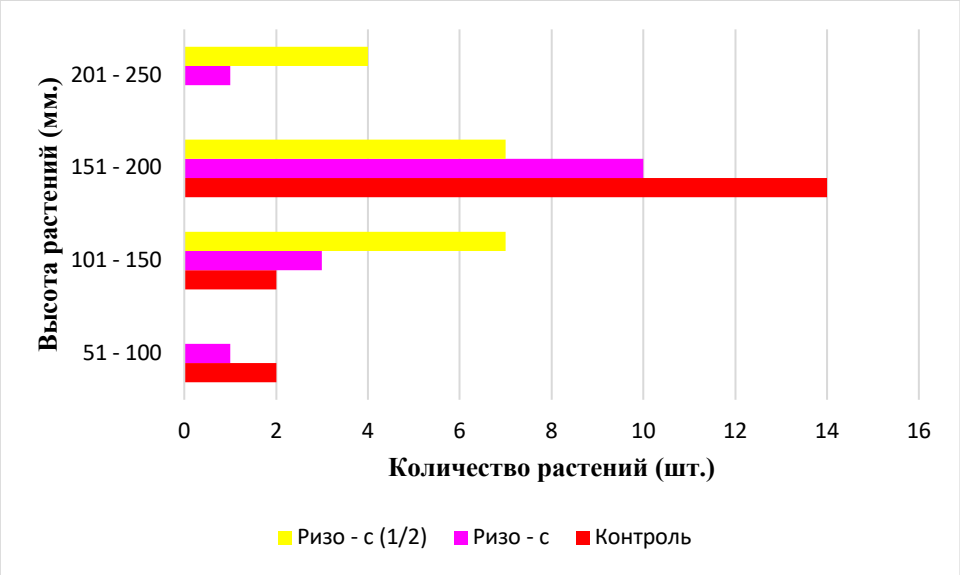


Рисунок 4. Влияние разбавленного биопрепарата на рост и развитие озимой ржи сорта Саратовская 7 (21 сутки)

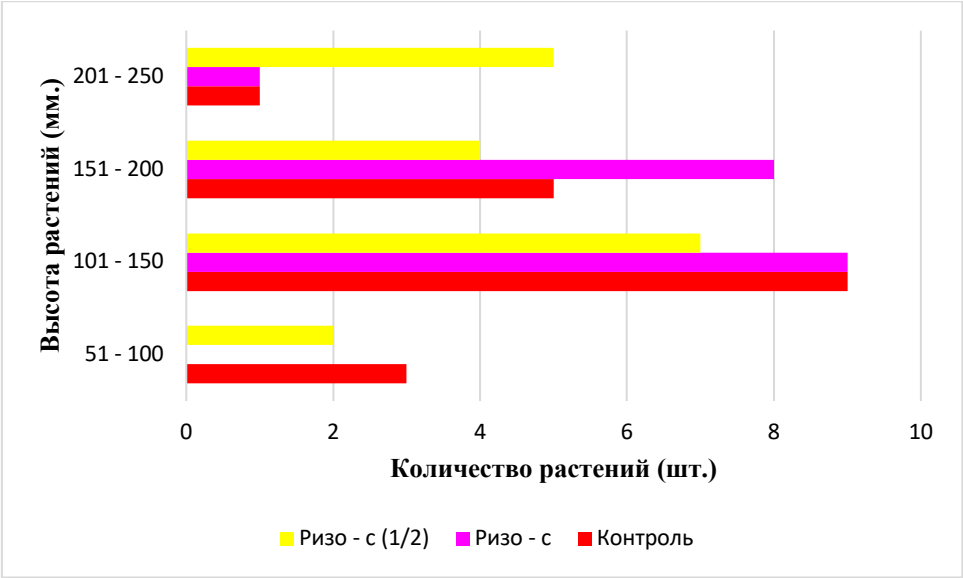


Рисунок 5. Влияние разбавленного биопрепарата на рост и развитие овса (18 сутки)

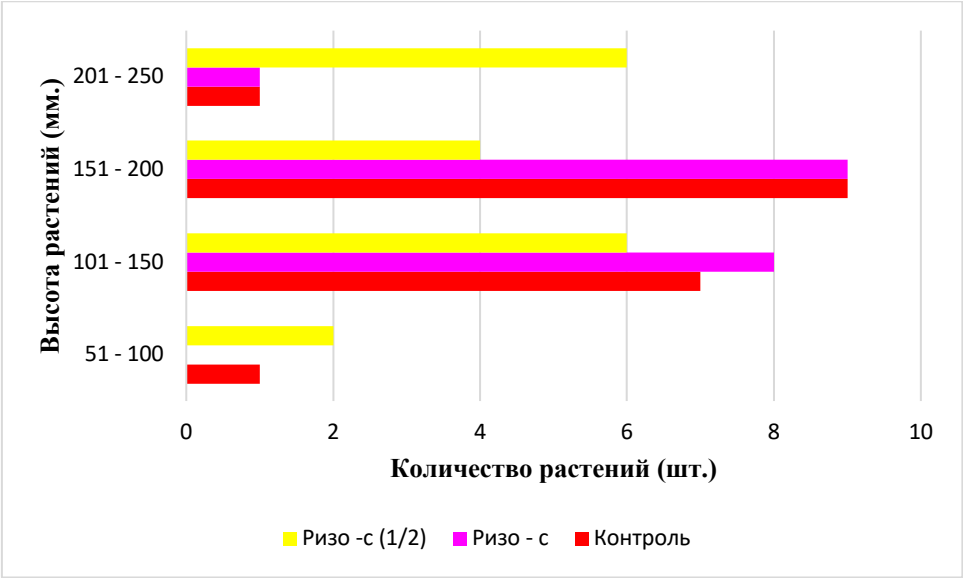


Рисунок 6. Влияние разбавленного биопрепарата на рост и развитие овса (21 сутки)

Самые высокие, ярко окрашенные, упругие, сильные растения были в группах с добавление «РИЗО – С» в обычном и разбавленном виде. В контрольной группе были более низкие растения, слабые, менее окрашенные, вялые. Особенно хорошо результаты исследования видно на овсе. Самые высокие и сильные растения были в группе с применением разбавленного препарата, причём, результаты намного лучше, чем в группе с применение биопрепарата в обычном виде. Таким образом исследование показало, что разбавленная в 2 раза форма биопрепарата «РИЗО – С» для некоторых культур может дать положительные результаты и работает не хуже, чем в обычном виде. Также можно сделать вывод,

что данное исследование показывает положительный экономический эффект в плане расхода биопрепарата для сельскохозяйственных нужд.



Рисунок 7. Измерение растений ржи в группе без добавления биопрепарата «РИЗО – С»



Рисунок 8. Измерение растений овса в группе без добавления биопрепарата «РИЗО – С»



Рисунок 9. Измерение растений ржи в группе с добавлением биопрепарата «РИЗО – С»



Рисунок 10. Измерение растений овса в группе с добавлением разбавленного биопрепарата «РИЗО – С»

Выводы

1) Применение препарата «РИЗО – С» положительно влияет на рост и развитие овса и озимой ржи сорта Саратовская 7;
2) Показано, что для некоторых культур возможно применение препарата в разбавленном виде;
3) Показано, что разбавленная форма препарата оказывает не менее положительный эффект, чем обычная форма.

Список источников

1. Биокомпозиционные материалы на основе биополимеров, полученных путем микробиологического синтеза : монография / В. В. Ревин, Д. А. Кадималиев, В. В. Шутова [и др.]. — Саранск : МГУ им. Н.П. Огарева, 2021. — 332 с. — ISBN 978-5-7103-4219-0. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: https://e.lanbook.com/book/311531
2. Земледелие с основами почвоведения и агрохимии : учебное пособие / А. Н. Арефьев, О. А. Тимошкин, А. В. Лянденбурская, О. А. Ткачук. — Пенза : ПГАУ, 2023. — 198 с. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: https://e.lanbook.com/book/382010
3. Хуаз, С. Х. Агрохимия. Удобрения: классификация, свойства и способы применения. Методы качественного анализа минеральных удобрений : учебное пособие / С. Х. Хуаз, М. В. Киселёв, В. П. Царенко. — Санкт-Петербург : СПбГАУ, 2022. — 116 с. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: https://e.lanbook.com/book/258497
4. Официальный сайт «Биотех»/Электронный ресурс/ Режим доступа: https://tkbiotech.ru/productions/rastenievodstvo/rizo
5. Официальный сайт «ГлавАгроном»/Электронный ресурс/ Режим доступа: https://glavagronom.ru/substance/pseudomonas-aureofaciens

© Романова Л. Р., Спиряхина Т. В., Хапцев З. Ю., Иващенко С. В., 2024

Научная статья
УДК 664.8.047

Сравнительный анализ ароматов овощей, высушенных в дегидраторе «Ezidri Ultra FD1000 Digital»

Дарья Равильевна Саак, Кристина Евгеньевна Белоглазова, Гульсара Есенгильдиевна Рысмухамбетова
Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова, г. Саратов
Руслан Умарханович Умарханов, Татьяна Анатольевна Кучменко
Воронежский государственный университет инженерных технологий, г. Воронеж

Аннотация. Целью настоящего исследования явилось изучение влияния конвекционного дегидратора «Ezidri Ultra FD1000 Digital» на сохранность характерного и индивидуального аромата овощей во время их совместного высушивания. В качестве контроля были взяты кружки нарезанного томата сорта «Бакинские» толщиной 0,5 см, которые высушивали в конвекционной сушилке «Ezidri Ultra FD1000 Digital» при температуре 50 ± 1 ℃ в течение 14 ч. Опытные образцы – это аналогично нарезанные томаты сорта «Бакинские», но высушенные совместно с чесноком на разных уровнях. Образец 2 – томаты расположены на поддонах № 1 – № 3, а чеснок (зубчик) на поддонах № 4 – № 5 и наоборот, у образцов 3 томаты расположены на поддонах № 3 – № 5 , а чеснок в свою очередь на поддонах № 1 – № 2. Инструментальная оценка запаха изделий была проведена в НИЛ на лабораторном анализаторе запахов «Бионос» по методологии «электронный нос» (Россия). Было выявлено, что сенсоры выделяют по насыщенности запаха образец 2, но в целом аромат всех образцов томатов практически идентичен и у опытных образов томатов отсутствует запах чеснока.

Ключевые слова: конвекционная сушилка, способы сушки, анализатор запахов, интенсивность аромата, электронный нос

Comparative analysis of flavors of vegetables dried in the Ezidri Ultra FD1000 Digital dehydrator

Daria R. Sahak, Kristina E. Beloglazova, Gulsara Y. Rysmukhambetova
Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, Saratov
Ruslan U. Umarkhanov, Tatyana A. Kuchmenko
Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh

Abstract. The purpose of this study was to study the effect of the convection dehydrator "Ezidri Ultra FD1000 Digital" on the preservation of the characteristic and individual flavor of vegetables during their joint drying. As a control, mugs of sliced tomatoes of the Bakinsky variety with a thickness of 0.5 cm were taken, which were dried in an Ezidri Ultra FD1000 Digital convection dryer at a temperature of 50 ± 1 ℃ for 14 hours. The prototypes are similarly sliced tomatoes of the Baku variety, but dried together with garlic at different levels. Sample 2 – tomatoes are located on pallets No. 1 – No. 3, and garlic (clove) on pallets No. 4 – No. 5 and vice versa, in samples 3, tomatoes are located on pallets No. 3 – No. 5, and garlic, in turn, on pallets No. 1 – No. 2. An instrumental assessment of the smell of the products was carried out in the NIL on the laboratory odor analyzer "Bionos" according to the methodology "electronic nose" (Russia). It was found that the sensors distinguish the odor saturation of sample 2, but in general, the aroma of all samples

Key words**:** convection dryer, drying methods, odor analyzer, aroma intensity, electronic nose

Основной целью высушивания пищевых продуктов является пролонгирование их сроков хранения. Вследствие этого содержание влаги уменьшается в исходном продукте, а рост и развитие микроорганизмов замедляется, что способствует увеличению сроков хранения высушенного продукта.

При сушке из плодов и овощей удаляется большая часть содержащейся в них влаги. Концентрация клеточного сока и его осмотическое давление увеличивается во много раз. Соблюдение оптимальных параметров высушивания позволяет в плодоовощной продукции максимально сохранять основные питательные вещества, а также благодаря этому калорийность продукта увеличивается в 9–10 раз [1].

Целью исследования явилось изучение воздействия конвекционной сушилки «Ezidri Ultra FD1000 Digital» на аромат томатов.

Существуют различные виды сушки по способу подвода тепла к высушиваемому материалу. В таблице 1 представлена характеристика видов высушивания.

Таблица 1 – Характеристика видов высушивания

Вид сушки	Характеристика
Конвективная сушка	работает по принципу обдува нагретым воздушным (паровым) потоком массы высушиваемого продукта
Контактная сушка	проходит путем передачи тепла от теплоносителя к материалу через разделяющую их стенку
Инфракрасная сушка	протекает путем передачи тепла инфракрасными лучами

Диэлектрическая сушка	проходит путем нагревания материала в поле токов высокой частоты (ТВЧ) и сверхвысокой частоты (СВЧ)
Сублимационная сушка	происходит в замороженном состоянии при глубоком вакууме

Нами был выбран конвекционный способ высушивания, так как он является наиболее распространённым методом высушивания растительного сырья и пользуется высоким спросом у населения. Данный способ высушивания обеспечивает постоянный контроль температуры и влажности в сушильной камере, а также позволяет уменьшить энергозатраты [2].

Для исследования была использована конвекционная сушилка «Ezidri Ultra FD1000 Digital». Производитель данной сушилки гарантирует высокую надежность сушильных аппаратов благодаря системе направленного потока теплого воздуха, что обеспечивает самые высокие стандарты сушеных продуктов. Уникальная система потока в сочетании с микропроцессорами и интегральными PLD схемами, обеспечивает точность и равномерность температуры потока воздуха, гарантирует быструю и равномерную сушку с минимальным потреблением электричества и исключительным наращиванием количества лотков, что позволяет одновременно высушивать несколько различных продуктов [3].

Объектами исследования явились красные томаты сорта «Бакинские», высушенные в конвекционной сушилке «Ezidri Ultra FD1000 Digital» при температуре 50 ℃ в течение 14 ч.

Инструментальная оценка запаха изделий была проведена в НИЛ на лабораторном анализаторе запахов «Бионос» по методологии «электронный нос» (Россия). Применены сенсоры на основе пьезокварцевых резонаторов ОАВ-типа с базовой частотой колебаний 10,0-14,0 МГц с разнохарактерными пленочными и наноструктурированными сорбентами на электродах [4].

Конструктивная особенность сушилки «Ezidri Ultra FD1000 Digital» заключается в таком движении воздуха, которое не позволяет смешивать ароматы разных овощей между собой в независимости от расположения поддонов. Для этого высушивание томата производилось одновременно с зубчиками чеснока, при этом размещение остро-пахнущего продукта (чеснока) по отношению к томатам было различное, то есть «сверху и снизу» к ним, так у образца 2 томат расположен под чесноком, а у образца 3 над чесноком. По окончанию эксперимента отметили степень влияния аромата чеснока на аромат томатов. Матрица эксперимента представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Матрица эксперимента

Наименование образца	Форма нарезки	Толщина нарезки, см	Расположение на поддонах (снизу-вверх)	
			томаты	чеснок
Образец 1 (контроль)	Кружки	0,5	1-2	-
Образец 2	Кружки	0,5	1-3	4-5
Образец 3	Кружки	0,5	3-5	1-2

В таблице 3 представлены результаты оценки близости аромата с помощью биосканера на основе одного сенсора с гидроксиапатитом.

Таблица 3 – Результаты оценки близости аромата с помощью биосканера на основе одного сенсора с гидроксиапатитом

Пробы	**ΔF_{max}, Гц**	**IH, %**	**Качественные параметры смеси $a_{i/j}$**									**Суммарный цвет в коде RGB**	**HEX**
			1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**		
Проба 1	78	79	0,69	0,50	0,28	0,68	0,56	0,38	60	0,32	0,25		
	160	86	0,71	0,53	0,32	0,66	0,60	0,39	62	0,37	0,29		
	73	89	0,70	0,51	0,30	0,75	0,59	0,47	60	0,39	0,29		
	88	89	0,69	0,50	0,31	0,71	0,61	0,44	60	0,40	0,36		
Среднее 1я проба	**100**	***86***	0,70	0,51	0,30	0,70	0,59	0,42	61	0,37	0,30		**#99C332**
Проба 2	128	89	0,69	0,51	0,31	0,72	0,62	0,43	60	0,40	0,34		
	118	86	0,72	0,54	0,34	0,75	0,62	0,47	64	0,40	0,34		
Среднее 2я проба	**123**	***88***	0,71	0,53	0,33	0,74	0,62	0,45	62	0,40	0,34		**#99C332**
Проба 3	86	86	0,64	0,45	0,26	0,66	0,56	0,42	56	0,32	0,25		
	92	96	0,66	0,47	0,27	0,82	0,58	0,45	56	0,37	0,29		
Среднее 3я проба	**89**	***91***	0,65	0,46	0,27	0,74	0,57	0,44	56	0,35	0,27		#99C44B

Образцы 2 и 3 более близки друг к другу, чем к образцу 1. Существенного отличия между всеми образцами не установлено. По отдельным показателям близки все пробы, образцов 1 и 2 и образцов 1 и 3.

Для привычного понимания различий параметры для средних проб представлены в виде диаграмм (рисунок 1). Для средних проб по выбранным 7-ми параметрам из 12-ти объединяются образцы 1 и 2 пробы, но по анализу всех измерений выборка образцов 2 и 3 ближе по однородности друг к другу и внутри проб.

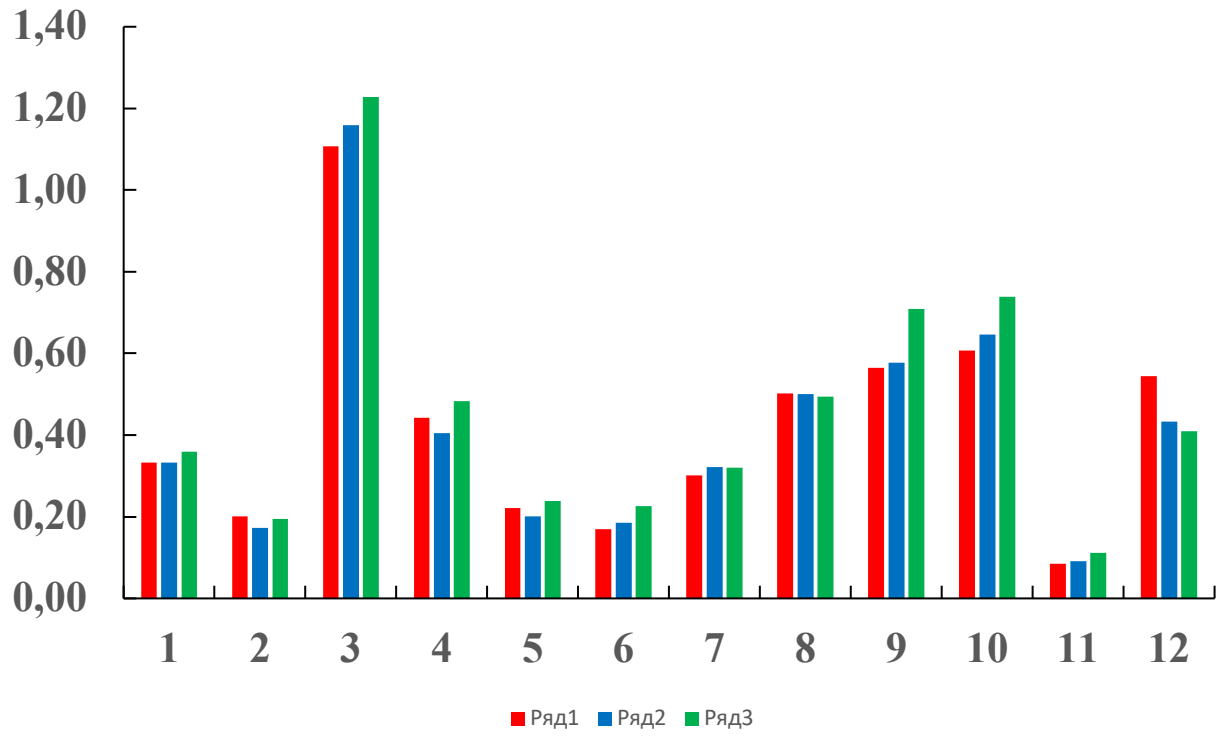


Рисунок 1. Диаграмма сравнения набора информативных параметров для средних проб помидорных чипсов по группам образец 1 (ряд 1), образец 2 (ряд 2), образец 3 (ряд 3).

По совокупности всех данных можно сделать вывод о том, что у опытных образцов томатов отсутствует чесночный запах, то есть конвекционная сушилка «Ezidri Ultra FD1000 Digital» сохраняет индивидуальный запах каждого овоща при их совместном высушивании.

Список источников

1. Консервирование плодоовощной продукции: учебное пособие / О. А. Захарова, Ф. А. Мусаев, О. В. Евдокимова [и др.]. – Рязань: РГАТУ, 2022. – 235 с.

2. Влияние конвекционной сушки на массу грибов / С. С. Сорокин, Р. Ш. Щербянов, Г. Е. Рысмухамбетова, К. Е. Белоглазова // Научное обеспечение устойчивого развития агропромышленного комплекса горных и предгорных территорий: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященная 105-летию Горского ГАУ, Владикавказ, 26–27 октября 2023 года. – Владикавказ: Горский государственный аграрный университет, 2023. – С. 190-192.

3. EZIDRI. Официальный сайт. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://ezidri.ru/content/o_kompanii.html

4. Kuchmenko, T. A. Electronic nose based on nanoweights, expectation and reality / T. A. Kuchmenko // Pure and Applied Chemistry. – 2017. – Vol. 89, No. 10. – P. 1587-1601. – DOI 10.1515/pac-2016-1108.

© Саак Д.Р., Белоглазова К.Е., Рысмухамбетова Г.Е., Умарханов Р.У., Кучменко Т.А., 2024

Научная статья
УДК 579.678: 637.074: 637.075

Определение свежести и микробиологический контроль молока, полученного от коров, содержащихся в частных подворьях

Ангелина Юрьевна Сиваева, Ксения Юрьевна Нечаева
[1]Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия

Аннотация. Цель данного исследования заключается в оценке свежести и микробиологического состава молока, полученного от коров, содержащихся в частных подворьях. Исследование проводилось с использованием методов химического анализа, оценки органолептических показателей и микробиологического контроля. Результаты позволяют сделать выводы о качестве и безопасности молока, произведенного на частных подворьях, и обосновать необходимость улучшения методов контроля его качества.

Ключевые слова: молоко, свежесть, микробиологический контроль, частные подворья, коровы, безопасность пищевых продуктов

Determination of freshness and microbiological control of milk obtained from cows kept in private farmsteads

Angelina Yu. Sivaeva, Ksenia Yu. Nechaeva
Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, Saratov, Russia

Annotation. The purpose of this study is to assess the freshness and microbiological composition of milk obtained from cows kept in private farmsteads. The study was conducted using methods of chemical analysis, assessment of organoleptic parameters and microbiological control. The results allow us to draw conclusions about the quality and safety of milk produced in private farms, and justify the need to improve methods of quality control.

Keywords: milk, freshness, microbiological control, private farmsteads, cows, food safety

Введение

Молоко является одним из ключевых продуктов питания, богатым питательными веществами и микроэлементами, необходимыми для здоровья человека. Контроль за качеством молока становится важным аспектом в современном мире, особенно в условиях, когда все больше людей предпочитают продукты с натуральным составом, без добавок и консервантов [3,6].

В последние годы увеличение числа частных подворий и мелких фермерских хозяйств привело к повышенному интересу к качеству молока, получаемого от

коров, содержащихся на таких подворьях [5,8]. В отличие от промышленных ферм, где процессы контроля качества могут быть более стандартизированными, на частных подворьях условия содержания скота и методы обработки молока могут значительно варьироваться. Это может повлиять на свежесть и микробиологический состав молока, а также на его безопасность для потребления [4,7]. Таким образом, проведение научных исследований, направленных на определение свежести и микробиологический контроль молока от коров, содержащихся в частных подворьях, имеет важное практическое значение для обеспечения безопасности и качества этого продукта.

Материалы и методы.

Объектом исследования являлось молоко, полученное от коров разных возрастов, содержащихся в частных подворьях.

Отбор проб выполняли согласно ГОСТ 26809.1-2014 «Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Часть 1. Молоко, молочные и молочные составные, молокосодержащие продукты». Отбор проб для микробиологических анализов проводили перед отбором проб для физико-химических и органолептических анализов.

Для отбора проб применяли чистые одноразовые стерильные контейнеры, изготовленные из полимерных материалов, оснащенные плотно закрывающимися крышками. Стерильную емкость для отбора проб открывали непосредственно перед отбором пробы. После наполнения емкость немедленно закрывали стерильной крышкой. Транспортирование проб проводили при температуре 5±3°С.

Анализ проб молока проводился в день отбора проб. Срок хранения не превышал 4 ч от начала взятия.

Определение количества соматических клеток проводили визуальным методом с использованием водного раствора препарата «Мастоприм».

Для определения уровня бактериальной обсемененности сырого молока проводили редуктазную пробу и метод прямого подсчета (метод Брида).

Посев молока производили на среду Рессельа для первичной идентификации энтеробактерий. Параллельно проводили высев на дифференциально-диагностические среды Эндо для индикации *E. coli.*

Определение кислотности молока проводили по ГОСТ 3624-92 «Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности».

Результаты исследования

Для приготовления водного раствора препарата «Мастоприм» 2,5 г препарата вносили в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и доливали до метки дистиллированной водой, нагретой до температуры 30-35ºС. Раствор перед применением взбалтывали до равномерного распределения осадка.

В луночку пластинки вносили 1 $см^3$ тщательно перемешанного молока и добавили 1 $см^3$ водного раствора препарата «Мастоприм». Молоко с препаратом интенсивно перемешивали пластмассовой палочкой в течение 10 с. Полученную смесь из луночки пластинки при непрерывном интенсивном перемешивании

поднимали палочкой вверх на 5-7 см, после чего в течение не более 60 с оценивают результаты анализа.

В результате определения количества соматических клеток с использованием водного раствора препарата «Мастоприм» во всех образцах наблюдалась Однородная жидкость или слабый сгусток, который слегка тянется за палочкой в виде нити. Данный результат соответствует количеству микроорганизмов - до 500 тыс (Рисунок 1).



Рисунок 1. Определения количества соматических клеток с использованием водного раствора препарата «Мастоприм»

После посева образцов на дифференциально-диагностическую среду Ресселя окраска среды не изменилась, роста не наблюдалось в течении 48 часов. Энтеробактерии обнаружены не обнаружены (Рисунок 2).

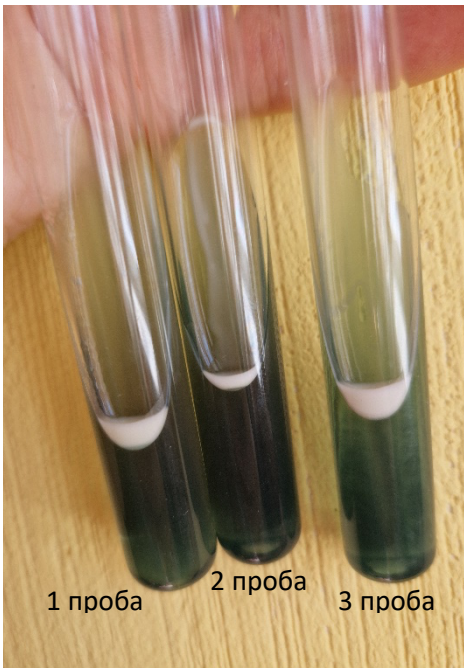


Рисунок 2. Посев образцов на дифференциально-диагностическую среду Ресселя

При проведении резуктазной пробы к 20 мл исследуемого молока в пробирку добавили 1 мл рабочего водного раствора метиленового голубого, тщательно перемешали покачиванием, подогрели в пламени горелки до температуры 35–40 ºС и поставили в термостат на 5,5 часов при 37 ºС.

Учёт процесса обесцвечивания молока проводили через 20 мин, 2 часа и 5,5 часов.

После 5,5 часов выдерживания молока в термостате окраска не изменилась - результат редуктазной пробы не показал наличия ферментов микроорганизмов, способных разрушать метиленовый голубой (Рисунок 3).

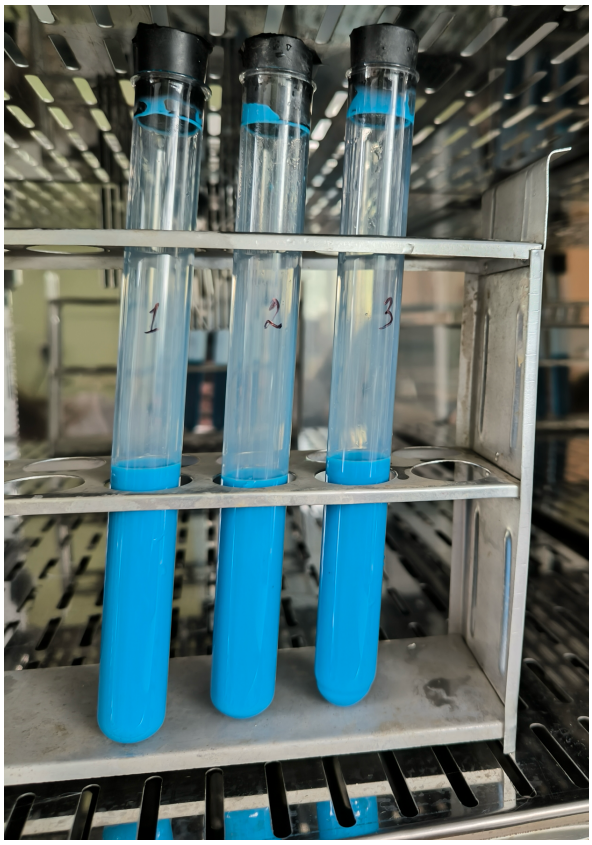


Рисунок 3. Учет результата редуктазной пробы спустя 5,5 часов

При определении уровня бактериальной обсеменённости сырого молока прямым методом Брида в образцах №2 и 3 были обнаружены единичные клетки *Lactobacillus spp*. (Рисунок 4). Уровень содержания микроорганизмов в мазках всех трех образцов молока не превышал 500 тыс. микробных клеток. По полученным данным все пробы молока относятся к 1 категории.

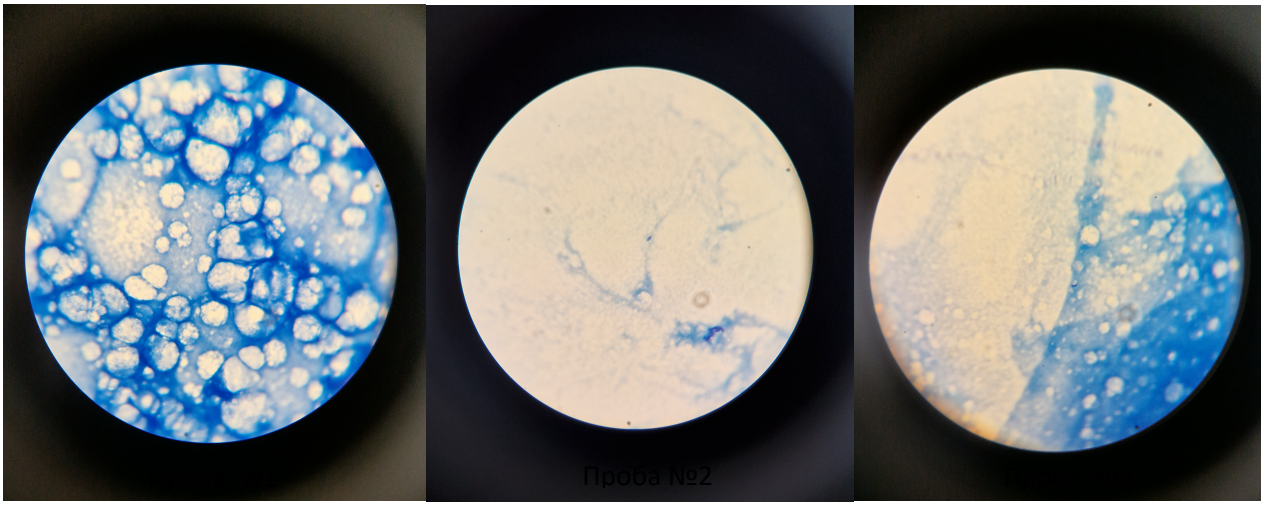


Рисунок 4. Микроскопия мазков молока по методу Брида

При проведении исследования на определение кислотности молока в колбу вместимостью 250 $см^3$ приливают по 10 $см^3$ молока и 20 $см^3$, 3 капли фенолфталеина и нейтрализуют смесь раствором щелочи (0,1М раствором NaOH) до появления слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин.

При определении кислотности молока с применением индикатора фенолфталеина были получены результаты, представленные в Таблице 1.

Таблица 1 – Определение кислотности молока с применением индикатора фенолфталеина

№ пробы	1 повторность	2 повторность
1	19°Т	18°Т
2	18°Т	18°Т
3	17°Т	16°Т

В соответствии с требованиями ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции» кислотность принимаемого на переработку молока должна быть в пределах от 16 до 21°Т (включительно). Полученные показатели соответствуют требованиям.

Заключение

Микробиологический контроль молока играет ключевую роль в выявлении потенциально опасных микроорганизмов, которые могут присутствовать в продукте и представлять угрозу здоровью потребителей. Это подчеркивает необходимость разработки и внедрения эффективных методов контроля качества молока на частных подворьях [9].

В ходе данного исследования были проведены анализ свежести и микробиологический контроль молока, полученного от коров, содержащихся в частных подворьях и сделаны следующие выводы:

1. Свежесть молока на частных подворьях зависит от нескольких ключевых показателей, включая температуру хранения, условия сбора и обработки, а также гигиенические стандарты на ферме, качества корма для животных, их здоровье и генетические особенности.

2. Органолептические, физико-химические и микробиологические методы анализы, включая определение количества бактерий и патогенных микроорганизмов, являются важными для оценки безопасности и свежести молока.

3. Микроорганизмы, присутствующие в молоке, могут включать как полезные, так и патогенные виды, и их наличие и количество могут изменяться в зависимости от условий сбора, хранения и обработки.

Список источников

1. ГОСТ 26809.1-2014 «Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Часть 1. Молоко, молочные и молочные составные, молокосодержащие продукты

2. ГОСТ 3624-92 «Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности».

3. Basaras, P. et al. "Influence of different factors on the microbiological quality of bulk tank milk in small dairy farms." Journal of Dairy Science, 2019, 102(9), 8066-8074.

4. Delgado, F. et al. "Microbiological quality of raw milk from small dairy farms in Chile." Journal of Dairy Science, 2020, 103(3), 2210-2217.

5. Ercolini, D. et al. "Microbial diversity in natural whey cultures used for the production of Caciocavallo Silano PDO cheese." International Journal of Food Microbiology, 2019, 299, 27-33.

6. Fox, P. F. et al. "Microbiological quality of milk: Guidelines for good practice." Journal of Dairy Research, 2020, 87(2), 136-142.

7. Oliveira, M. et al. "Microbiological quality of raw milk and artisanal cheeses in the North of Portugal." Food Control, 2019, 95, 84-90.

8. Pothakos, V. et al. "Microbial diversity in raw milk and traditional fermented dairy products: focus on the microbiota of Greek Feta." Food Microbiology, 2019, 82, 219-225.

9. Quigley, L. et al. "Analysis of the microbiota of raw cow's milk and its starter cultures in production of artisanal hard cheeses." Journal of Dairy Science, 2018, 101(8), 6120-6129.

© Сиваева А.Ю., Нечаева К.Ю.

Научная статья
УДК 336.018(045)

Разработка новой препаративной формы биоудобрения на основе *Azospirillum brasilense*

Антонина Андреевна Соловьева[1], Татьяна Владиславовна Спиряхина[1], Заур Юрьевич Хапцев[1], Виктор Геннадиевич Сержантов[2], Сергей Владимирович Иващенко[1]
[1]Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова,
г. Саратов, Россия
[2]Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского,
г. Саратов, Россия

Аннотация. В современном мире остро стоит вопрос деградированных почв и замены минеральных удобрений, чрезмерное использование которых привело к высокой загрязненности почв агрохимикатами биологическими удобрениями на основе различных хозяйственно-полезных штаммов микроорганизмов. В статье рассмотрена проблема значения выбора препаративной формы в изготовлении биологических препаратов, а также недостатки существующих препаративных форм биологических удобрений. Работа посвящена поиску, разработке и исследованию новой формы комплексного биоминерального удобрения на основе метода иммобилизации микроорганизмов рода *Azospirillum* на алюмосиликатном носителе – глауконите. В статье представлен вариант алюмосиликатного носителя с оптимальными свойствами, обеспечивающими эффективность полученного биологического удобрения. В работе описаны исследования выживаемости *Azospirillum Brasilense Sp Cd* в иммобилизированной форме в составе биопрепарата методом серийных разведений и высевом на плотную картофельную среду с последующим подсчетом выросших колоний. В эксперименте рассмотрены концентрации микроорганизмов на момент закладки образцов, через месяц и через 12 месяцев хранения биопрепарата. В ходе лабораторных испытаний была установлена длительная выживаемость иммобилизированных *Azospirillum Brasilense Sp Cd* в иммобилизированной форме на протяжении 12 месяцев.

Ключевые слова: биоудобрение, биопрепарат, иммобилизация, алюмосиликатный носитель

Development of a new preparative form of biofertilizer based on *Azospirillum brasilense*

Antonina A. Solovieva[1], Tatiana V. Spiriakhina[1], Zaur Yu. Khaptsev[1], Viktor G. Serzhantov[2], Sergei V. Ivaschenko[1]
[1]Saratov State University of genetics, biotechnology and engineering named after N.I. Vavilov, Saratov
[2]Saratov National Research State University named after N.G. Chernyshevsky, Saratov, Russia

Abstract. In the modern world, the issue of degraded soils and the replacement of mineral fertilizers, the excessive use of which has led to high soil contamination with agrochemicals with biological fertilizers based on various economically useful strains of microorganisms, is acute. The article considers the problem of the importance of choosing a formulation in the manufacture of biological preparations, as well as the disadvantages of existing formulations of biological fertilizers. The work is devoted to the search, development and research of a new form of complex biomineral fertilizer based on the method of immobilization of microorganisms of the genus *Azospirillum* on an aluminosilicate carrier – glauconite. The article presents a variant of an aluminosilicate carrier with optimal properties that ensure the effectiveness of the resulting biological fertilizer. The paper describes studies on the survival of *Azospirillum Brasilense Sp Cd* in immobilized form as part of a biological product by serial dilution and seeding on dense potato pulp.
Key words: biofertilizer, biopreparation, immobilization, aluminosilicate carrier

1. Введение

Глобальный спрос на продовольствие продолжает расти, более остро стоят проблемы восстановления деградированных почв и смягчения воздействия вносимых химических препаратов на окружающую среду [1]. В последние годы биологическим удобрениям, как варианту решений этих проблем, уделяется все большее внимание, а масштабы их применения, так же, как и рыночная доля в структуре применяемых удобрений, уверенно растут. Представители рода Azospirillum, которые благоприятно влияют на здоровье растений и стимулируют рост сельскохозяйственных культур различными механизмами, такими как метаболизм регуляторов роста растений, повышение иммунитета растений против патогенов, и действие в качестве биологических азотфиксаторов вызывают большой интерес в последние годы [2].

Финальным этапом производства биопрепарата является выбор и изготовление препаративной формы, что непосредственно влияет на его эффективность и срок хранения. Считается, что жидкая форма биопрепаратов особенно экономична и выгодна. Она представляет собой питательную среду с выращенными в ней бактериями. Тем не менее, ее главным недостатком является короткий срок хранения: титр бактерий начинает резко снижаться уже через 10-15 суток [3]. Существует способ получения биопрепаратов в лиофилизированной форме, однако такой препарат нужно хранить при низких температурах. Вместе с тем процесс лиофилизации требует большие затраты на оборудование,

защитные среды, газо- и паронепроницаемую упаковку, что делает этот способ приготовления биопрепаратов экономически невыгодным.

Исходя из этих факторов, все больший интерес в последние годы вызывают способы приготовления биопрепаратов путем иммобилизации бактериальных и грибных клеток на различных носителях.

Целью работы являлось получение и исследование иммобилизированной препаративной формы комплексного биопрепарата на основе Azospirillum brasilense Sp Cd и глауконита.

1.1 Глауконит в качестве носителя для иммобилизации

Глауконит – минерал, относящийся к гидрослюдам подкласса слоистых силикатов. Брутто-формула минерала: (K, Na, Ca)(Fe+3, Mg, Fe+2, Al)2[(Al, Si)Si3O10](OH)2H2O. Химический состав переменный. В частности, содержание калия варьируется от 4,4 до 9,4 % (в пересчете на K2O). Помимо вышеуказанных элементов, глауконит содержит в своем составе более 20 микроэлементов, находящихся в легко извлекаемой форме [4].

К его преимуществам относят: дешевизну, способность к сорбции тяжелых металлов, высокую прочность перед механическими повреждениям, термоустойчивость, высокую устойчивость к микробному разложению и органическим растворителям, возобновляемость. Благодаря своим свойствам глауконит является подходящим носителем для иммобилизации бактериальных клеток. Благоприятное действие глауконита при получении иммобилизованной формы биопрепарата на его основе заключается в обеспечении сохранности микроорганизмов. Помимо этого, глауконит, являясь природным удобрением, обеспечит почву комплексом полезных веществ и микроэлементов [5].

В работе использовали обогащенную глауконитовую муку, полученную на предприятии ООО «ЭкоСорбент» (г. Саратов).

1.2 Иммобилизация клеток микроорганизмов на глауконит и гранулирование

Для получения гранул из глауконита с иммобилизированными на нем микроорганизмами Azospirillum Brasilense Sp Cd со стерильной глауконитовой мукой размером частиц до 100 мкм смешивали жидкую культуру Azospirillum Brasilense Sp Cd в соотношении 1 часть культуры к 3 частям глауконитовой муки с размером частиц до 100 мкм.

Гранулы были получены из смеси стерильной глауконитовой муки и жидкой культуры на шнековом грануляторе ФШ-004Р. Готовые гранулы были высушены при комнатной температуре в течение 48 часов.

Учет численности бактерий в культуре был проведен методом серийных разведений и высевом на плотную картофельную среду.

2. Исследование выживаемости Azospirillum Brasilense Sp Cd в иммобилизированной форме в составе биопрепарата

Для исследования выживаемости Azospirillum brasilense Sp Cd были приготовлены биопрепараты с микроорганизмами, иммобилизированными на стерильной глауконитовой муке.

В день приготовления иммобилизированного препарата параллельно делали последовательные разведения и посев культуры на картофельный агар для определения исходного количества бактерий. Препараты хранились в темноте при комнатной температуре (при 20°С).

Каждый месяц препарат разводили стерильной водой и перемешивали в течение двух часов на подвижной платформе для перехода иммобилизированных бактерий в раствор. Затем высевали на картофельный агар и после инкубации подсчитывали количество выросших колоний.

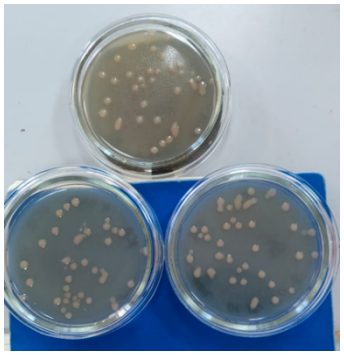


Рисунок 1. Высев из препарата через 12 месяцев хранения

Результаты показали хорошую сохранность бактерий в иммобилизированной форме. Количество бактерий сократилось по сравнению с исходной концентрацией, но осталось выше нормы для биопрепаратов (норма - 7,3 lg КОЕ/мл).

Таблица 1 – Выживаемость Azospirillum Brasilense Sp Cd в иммобилизированной форме

Временной промежуток	**Количество бактерий, lg КОЕ/мл**	**Количество бактерий КОЕ/мл**
На момент изготовления препарата	9,7±0,2	$5{,}0x10^{9}$
Через месяц хранения препарата при 20°С	8,8±0,1	$6{,}3x10^{8}$
Через 6 месяцев хранения при 20°С	8,5±0,2	$3{,}2x10^{8}$
Через 12 месяцев хранения препарата при 20°С	8,5±0,2	$2{,}8x10^{8}$

В соответствии с данными, полученными в ходе лабораторных испытаний установлено, что иммобилизация данной культуры на алюмосиликатном

носителе в виде гранул позволяет сохранить концентрацию микроорганизмов в пределах установленной нормы, вследствие чего, иммобилизация в гранулах культуры *Azospirillum brasilense Sp Cd* является эффективным способом их хранения**.**

Список источников

1. Куст, Г. С. Современные глобальные вызовы проблемы деградации земель: международные подходы и пути адаптации на национальном уровне / Г. С. Куст // Деградация земель и опустынивание: проблемы устойчивого природопользования и адаптации: МАТЕРИАЛЫ МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ, Москва, 09–11 ноября 2020 года. – Москва: ООО "МАКС Пресс", 2020. – С. 11-17. – DOI 10.29003/m1665.978-5-317-06490-7/11-17. – EDN IJQQDF.
2. Sharon Fibach-Paldi, Saul Burdman, Yaacov Okon, Key physiological properties contributing to rhizosphere adaptation and plant growth promotion abilities of Azospirillum brasilense, FEMS Microbiology Letters, Volume 326, Issue 2, January 2012, P. 99–108, https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02407.x
3. Уранян, Г. Р. Биопрепараты на основе Bradyrhizobium japonicum и проблемы их применения / Г. Р. Уранян // Метеорологический вестник. – 2018. – Т. 10, № 5. – С. 41-49. – EDN YZFIFN.
4. Новые виды фосфорсодержащих комплексных удобрений и тукосмесей. Технологии получения и агрохимическая эффективность: монография / К. Т. Жантасов [и др.] ; науч. ред. : О. Б. Дормешкин, К. Т. Жантасов. – Минск: БГТУ, 2020. – С 112-115. – ISBN 978-985-530-846-2.
5. Биотехнологические подходы к использованию глауконита в сельском хозяйстве / Е. А. Горельникова, О. С. Ларионова, З. Ю. Хапцев [и др.] // Аграрный научный журнал. – 2018. – № 5. – С. 11-15. – DOI 10.28983/asj.v0i5.467. – EDN XOUCEP.

© Соловьева А. А., Спиряхина Т. В., Хапцев З. Ю., Сержантов В. Г., Иващенко С. В., 2024

Научная статья
УДК 636.03/619

Содержание иммунокомпетентных клеток в крови животных при использовании пробиотика

Лариса Юрьевна Топурия
Оренбургский государственный аграрный университет
г. Оренбург
Гоча Мирианович Топурия
Оренбургский государственный медицинский университет Минздрава России
г. Оренбург

Аннотация. В статье представлены результаты исследования по влиянию пробиотика на иммунный статус животных. Установлено, что препарат улучшает клеточный и гуморальный иммунитет за счет повышения в крови количества иммунокомпетентных клеток.

Ключевые слова: пробиотик, иммунитет, кровь, иммунокомпетентные клетки, Т-лимфоциты, В-лимфоциты.

Immunocompetent cells in animal blood when probiotic is used

Larisa Yurievna Topuria
Orenburg State Agrarian University
Orenburg
Gocha Mirianovich Topuria
Orenburg State Medical University of the Ministry of Health of Russia
Orenburg

Abstract. The article presents the results of a study on the effect of a probiotic on the immune status of animals. It has been found that the drug improves cellular and humoral immunity by increasing the number of immunocompetent cells in the blood.

Keywords: probiotic, immunity, blood, immunocompetent cells, T-lymphocytes, B-lymphocytes.

Введение. Рентабельное производство продукции животноводства возможно лишь при строгом соблюдении систем и методов кормления и содержания животных [1, 2].

Для увеличения продуктивного потенциала животных и птиц эффективно применение кормовых добавок, которые служат важным дополнением рациона биологически активными веществами, улучшают процессы пищеварения, повышают воспроизводительную способность маточного поголовья и сохранность молодняка [3-5].

Одними из перспективных и целесообразных препаратов природного происхождения для использования в животноводстве и ветеринарной медицине являются пробиотики. Они используются для стимуляции естественной резистентности и иммунобиологической реактивности, профилактики и лечения болезней желудочно-кишечного тракта, ускорения роста молодняка, улучшения обмена веществ [6-8].

Цель. Целью исследования явилось изучение влияния пробиотика ветоспорин-ж на количество Т- и В-лимфоцитов в крови телят.

Материалы и методы исследования. Для проведения опыта было отобрано 10 голов суточных телят красной степной породы и сформировано две группы по 5 животных в каждой. Телятам опытной группы выпаивали ветоспорин-ж в дозе 10 мл недельными курсами. Молодняк из контрольной группы препарат не получал.

В суточном, 5-, 10-, 20- и 30-дневном возрасте у подопытных животных осуществляли забор крови для определения количества иммунокомпетентных клеток [9].

Ветоспорин-ж – препарат на основе Bacillus subtilis, продуцирует антимикробные вещества, ферменты.

Результаты исследований. Т- и В-лимфоциты – основные типы лимфоцитов, выполняющие важные функции в иммунном ответе. Т-лимфоциты образуются в костном мозге, созревание их происходит в тимусе, участвуют в клеточном иммунитете. В-лимфоциты образуются и созревают в костном мозге, дифференцируются в плазматические клетки, образующие антитела [10].

Использование в рационе телят пробиотического препарата на 5-й день исследования не оказало существенного влияния на изменение количества Т- и В-лимфоцитов.

Однако, к 10-дневному возрасту у молодняка крупного рогатого скота опытной группы наблюдалось достоверное повышение количества иммунокомпетентных клеток по сравнению с контрольными сверстниками. Так, в этот период исследования количество абсолютного числа Т-лимфоцитов превысило контрольные значения на 13,8 % ($p<0,01$), относительного – на 10,5 % ($p<0,01$). Аналогично изменялось и число В-лимфоцитов. Абсолютное и относительное количество В-лимфоцитов увеличилось на 18,2 % ($p<0,01$) и на 10,2 % ($p<0,01$) соответственно.

В 20-дневном возрасте телят указанная тенденция продолжала сохраняться. Абсолютное количество Т-лимфоцитов в крови животных опытной группы составило $1,66\pm0,07\cdot10^9$/л, что на 9,9 % ($p<0,05$) больше, чем у телят из контрольной группы. Относительное число Т-лимфоцитов увеличилось на 10,0 % ($p<0,01$). Повысилось и количество В-лимфоцитов: абсолютных на 11,4 % ($p<0,01$), относительных – на 10,5 % ($p<0,05$).

К концу опыта максимальное число иммунокомпетентных клеток сохранялось у телят, получавших пробиотик. Абсолютное количество Т-лимфоцитов превысило контрольный уровень на 9,9 % ($p<0,05$), В-лимфоцитов

– на 7,0 %. Относительное число данных клеток возросло на 4,0 % и 6,7 % соответственно (табл.).

Таблица 1 – Количество Т- и В-лимфоцитов

Показатели	Группа	
	Контрольная	Опытная
сутки		
Т-лимфоциты, 10^9/л	1,05±0,06	1,07±0,04
Т-лимфоциты, %	28,90±1,21	30,11±1,18
В-лимфоциты, 10^9/л	0,17±0,09	0,15±0,02
В-лимфоциты, %	4,86±0,29	4,81±0,11
5 дней		
Т-лимфоциты, 10^9/л	1,18±0,16	1,20±0,21
Т-лимфоциты, %	29,42±0,51	28,78±0,42
В-лимфоциты, 10^9/л	0,27±0,02	0,26±0,06
В-лимфоциты, %	7,92±0,42	8,10±0,62
10 дней		
Т-лимфоциты, 10^9/л	1,30±0,07	1,48±0,04**
Т-лимфоциты, %	29,78±0,64	32,93±0,51**
В-лимфоциты, 10^9/л	0,33±0,05	0,39±0,06**
В-лимфоциты, %	7,90±0,47	8,71±0,73*
20 дней		
Т-лимфоциты, 10^9/л	1,51±0,09	1,66±0,07*
Т-лимфоциты, %	29,72±0,71	32,71±0,89**
В-лимфоциты, 10^9/л	0,35±0,02	0,39±0,07**
В-лимфоциты, %	8,16±0,83	9,02±0,56*
30 дней		
Т-лимфоциты, 10^9/л	1,61±0,05	1,77±0,08*
Т-лимфоциты, %	33,87±1,16	35,27±1,42
В-лимфоциты, 10^9/л	0,39±0,03	0,42±0,02
В-лимфоциты, %	11,42±0,48	12,17±0,25

Примечание: * - $p<0,05$; ** - $p<0,01$.

Заключение. Полученные в ходе исследования результаты свидетельствуют о положительном влиянии на иммунный статус телят изученного пробиотика за счет повышения в крови количества Т- и В-лимфоцитов.

Список источников

1. Котарев В.И., Большаков В.Н., Брюхова И.В. Влияние кормовых добавок на микробное сообщество рубцовой жидкости телят // Ветеринарный фармакологический вестник. 2021. №1(14). С. 65-74.
2. Попов В.С., Свазлян Г.А, Грязнова О.А. Кормовые факторы и иммунометаболическая коррекция у животных. Курск: Федеральное

государственное бюджетное научное учреждение «Курский федеральный аграрный научный центр», 2022. 190 с.
3. МалютинаТ.К.Содержание минеральных веществ в крови уток при применении пробиотика // В фокусе достижений молодежной науки. Материалы ежегодной итоговой научно-практической конференции. Под общей редакцией В. А. Шахова. 2023. С. 116-118.
4. Топурия Л.Ю., Топурия Г.М., Коткова Т.В., Ступина М.Ю. Применение фитопрепарата в качестве иммуностимулятора // Инновационные технологии в науке: управление качеством, метрологическое обеспечение, новые подходы и цифровизация производства в сфере АПК. Сборник научных материалов I Всероссийской (национальной) научно-практической конференции с международным участием, приуроченной к Всемирному дню метрологии. Саратов, 2023. С. 675-679.
5. Чернокожев А.И. Растительные препараты и их использование // Состояние, проблемы и перспективы развития овцеводства и козоводства. Министерство сельского хозяйства Российской Федерации; Министерство сельского хозяйства, торговли, пищевой и перерабатывающей промышленности Оренбургской области; ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный аграрный университет»; Факультет ветеринарной медицины. 2023. С. 73-77.
6. Сингариева Н.Ш. Состояние иммунного статуса уток при применении иммунофлора // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2023. № 1 (99). С. 239-244.
7. Порваткин И.В. Лечебно-профилактические свойства пробиотиков // Современные проблемы развития ветеринарной медицины и биотехнологии. Материалы национальной научно–практической конференции с международным участием. Министерство сельского хозяйства Российской Федерации; Министерство сельского хозяйства, торговли, пищевой и перерабатывающей промышленности Оренбургской области; ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный аграрный университет»; Факультет ветеринарной медицины. 2023. С. 357-360.
8. Топурия Л.Ю., Карамаев С.В., Порваткин И.В., Топурия Г.М. Лечебно-профилактические свойства пробиотиков при болезнях телят. Москва: Издательство "Перо", 2013. 160 с.
9. Веревкина М.Н., Ожередова Н.А. Иммунологические методы исследования в ветеринарии. Ставрополь: Издательство «Агрус», 2017. 70 с.
10. Михайлова Е.А., Мирошниченко И.В. Основы клинической иммунологии. Оренбург, 2022. 198 с.

© Топурия Л.Ю., Топурия Г.М., 2024

Научная статья
УДК 57.054/619

Влияние пробиотического препарата на клеточные факторы естественной резистентности животных

Лариса Юрьевна Топурия
Гоча Мирианович Топурия
Мария Юрьевна Ступина
Оренбургский государственный медицинский университет Минздрава России
г. Оренбург

Аннотация. В статье представлены результаты исследования по влиянию пробиотика на клеточные факторы естественной резистентности животных. Установлено, что препарат улучшает фагоцитарную активность и фагоцитарный индекс нейтрофилов крови.

Ключевые слова: фагоцитоз, кровь, пробиотик, естественная резистентность

Effect of probiotic drug on cellular factors of natural animal resistance

Larisa Yurievna Topuria
Gocha Mirianovic Topuria
Maria Yuryevna Stupina
Orenburg State Medical University of the Ministry of Health of Russia
Orenburg

Abstract. The article presents the results of a study on the effect of a probiotic on cellular factors of natural animal resistance. The drug was found to improve phagocytic activity and blood neutrophil phagocytic index.

Keywords: phagocytosis, blood, probiotic, natural resistance

Введение. Иммунодефицитные состояния являются следствием нарушения механизмов иммунного гомеостаза. К недостаточности иммунной системы приводят вирусные, бактериальные инфекции, нарушения обмена веществ, стрессы, воздействие на организм химических ксенобиотиков [1, 2].

Для повышения продуктивности сельскохозяйственных животных и птиц, профилактики болезней, улучшения обмена веществ и иммунного статуса в последние годы широко применяют кормовые добавки и препараты природного происхождения [3-5].

Особую перспективу имеют пробиотические препараты [6, 7].

Пробиотики содержат в своем составе живые микроорганизмы нормальной микрофлоры. Способствуют улучшению пищеварения у животных и птиц, снижают заболеваемость желудочно-кишечного тракта, улучшают усвояемость

питательных веществ корма, нормализуют нарушенный обмен веществ, стимулируют факторы естественной резистентности [8, 9].

Цель. Целью исследования явилось изучение влияния пробиотического препарата ветоспорин-ж на фагоцитарные свойства лейкоцитов крови телят.

Материалы и методы исследования. Для проведения исследований было сформировано две группы суточных телят красной степной породы и по 5 голов в каждой. Молодняку опытной группы недельными курсами выпаивали ветоспорин-ж с суточного возраста в дозе 10 мл. Телята контрольной группы пробиотик не получали.

В суточном, 5-, 10-, 20- и 30-дневном возрасте у животных отбирали пробы крови для иммунологических исследований. Определяли фагоцитарный индекс и фагоцитарную активность нейтрофилов крови телят [10].

Ветоспорин-ж – пробиотический препарат, созданный на основе двух штаммов бактерий Bacillus subtilis 11В и 12В в среде культивирования в комплексе с природным полисахаридом.

Результаты исследований. До начала выпойки пробиотика показатели у животных подопытных групп находилось на одном уровне и составили: фагоцитарный индекс нейтрофилов 1,16-1,18, фагоцитарная активность – 29,78-30,42 %.

Таблица 1 – Фагоцитарные свойства лейкоцитов

Показатели	Группа	
	Контрольная	Опытная
	сутки	
Фагоцитарный индекс	1,16±0,15	1,18±0,13
Фагоцитарная активность, %	29,78±1,22	30,42±1,46
	5 дней	
Фагоцитарный индекс	1,21±0,21	1,19±0,12
Фагоцитарная активность, %	28,13±1,15	28,40±1,24
	10 дней	
Фагоцитарный индекс	1,19±0,17	1,22±0,19
Фагоцитарная активность, %	27,86±1,62	28,42±1,33
	20 дней	
Фагоцитарный индекс	1,13±0,16	1,21±0,11*
Фагоцитарная активность, %	26,98±1,97	28,11±2,11
	30 дней	
Фагоцитарный индекс	1,20±0,19	1,29±0,09*
Фагоцитарная активность, %	27,11±2,13	29,68±1,87*

Примечание: * -$p<0,05$.

Включение в рацион телят опытной группы пробиотического препарата не оказало заметного влияния на фагоцитарные свойства лейкоцитов крови. В 5-дневном возрасте разница между группами составила 0,9 % по фагоцитарной активности нейтрофилов и 1,7 % по фагоцитарному индексу. К 10-дневному

возрасту разница по изучаемым показателям между представителями контрольной и опытной групп оставалась на невысоком уровне: 2,5 % и 2,0 % соответственно.

Более существенные различия установлены в следующие периоды исследования. Так, в 20-дневном возрасте молодняк крупного рогатого скота опытной группы опережал сверстников из контрольной группы по фагоцитарному индексу на 7,0 % ($p<0,05$), по фагоцитарной активности нейтрофилов крови – на 4,2 %.

К концу наблюдений минимальные значения фагоцитарных свойств лейкоцитов были установлены у телят контрольной группы: фагоцитарная активность – 27,11±2,13 %, фагоцитарный индекс – 1,20±0,19, что на 7,5 % ($p<0,05$) меньше, чем у животных, которым применяли пробиотик (табл.)

Заключение. Представленные результаты исследования свидетельствую о положительном влиянии пробиотического препарата на клеточные факторы естественной резистентности за счет улучшения фагоцитарной активности и фагоцитарного индекса нейтрофилов крови животных.

Список источников

1. Власенко В.С., Конев А.В. Иммунология. Омск, 2021. 123 с.
2. Михайлова Е.А., Мирошниченко И.В. Основы клинической иммунологии. Оренбург, 2022. 198 с.
3. Топурия Л.Ю., Топурия Г.М. Показатели крови птицы при гастроэнтерите // Геномика и биотехнологии в сельском хозяйстве. сборник научных статей по материалам пленарного заседания 88-й научно-практической конференции ФГБОУ ВО «Ставропольский ГАУ» «Аграрная наука – Северо-Кавказскому федеральному округу». Ставрополь, 2023. С. 115-117.
4. Корелин В.П. Состояние обмена веществ у утят // Современные проблемы развития ветеринарной медицины и биотехнологии. Материалы национальной научно–практической конференции с международным участием. Министерство сельского хозяйства Российской Федерации; Министерство сельского хозяйства, торговли, пищевой и перерабатывающей промышленности Оренбургской области; ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный аграрный университет»; Факультет ветеринарной медицины. 2023. С. 153-155.
5. Сингариева Н.Ш. Пищевая ценность мяса птицы // Современные проблемы развития ветеринарной медицины и биотехнологии. Материалы национальной научно–практической конференции с международным участием. Министерство сельского хозяйства Российской Федерации; Министерство сельского хозяйства, торговли, пищевой и перерабатывающей промышленности Оренбургской области; ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный аграрный университет»; Факультет ветеринарной медицины. 2023. С. 56-58.
6. МалютинаТ.К.Содержание минеральных веществ в крови уток при примен ении пробиотика // В фокусе достижений молодежной науки. Материалы ежегодной итоговой научно-практической конференции. Под общей редакцией В. А. Шахова. 2023. С. 116-118.

7. Порваткин И.В. Лечебно-профилактические свойства пробиотиков // Современные проблемы развития ветеринарной медицины и биотехнологии. Материалы национальной научно–практической конференции с международным участием. Министерство сельского хозяйства Российской Федерации; Министерство сельского хозяйства, торговли, пищевой и перерабатывающей промышленности Оренбургской области; ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный аграрный университет»; Факультет ветеринарной медицины. 2023. С. 357-360.
8. Лобачева Е.В. Влияние пробиотитических препаратов на функциональное состояние организма птиц // Современные проблемы развития ветеринарной медицины и биотехнологии. Материалы национальной научно–практической конференции с международным участием. Министерство сельского хозяйства Российской Федерации; Министерство сельского хозяйства, торговли, пищевой и перерабатывающей промышленности Оренбургской области; ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный аграрный университет»; Факультет ветеринарной медицины. 2023. С. 354-357.
9. Топурия Л.Ю., Карамаев С.В., Порваткин И.В., Топурия Г.М. Лечебно-профилактические свойства пробиотиков при болезнях телят. Москва: Издательство "Перо", 2013. 160 с.
10. Веревкина М.Н., Ожередова Н.А. Иммунологические методы исследования в ветеринарии. Ставрополь: Издательство «Агрус», 2017. 70 с.

© Топурия Л.Ю., Топурия Г.М., Ступина М.Ю., 2024

Научная статья
УДК 636.084.1: 57.084.1: 639.3.05

Применение бактериальных экзополисахаридов в животноводстве

Галина Тимофеевна Урядова, Надежда Александровна Фокина, Лидия Владимировна Карпунина
Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова
г. Саратов

Аннотация. Было исследовано влияние экзополисахаридов (ЭПС) молочнокислых бактерий на рост и развитие, а также кишечную микрофлору сельскохозяйственных животных – кур и осетров при их кормлении. Было обнаружено, что применение бактериальных экзополисахаридов у сельскохозяйственных животных имеет положительный эффект – приводит к увеличению живой массы. Результаты исследования в перспективе могут найти применение в зоотехнии и аквакультуре в процессе выращивания сельскохозяйственных птиц и рыб.

Ключевые слова: сельскохозяйственные птицы, осетр, рост, развитие, ихтиомасса.

Experience of using bacterial exopolysaccharides in livestock farming

Galina T. Uryadova, Nadezda A. Fokina, Lidia V. Karpunina
Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, Saratov

Abstract. The influence of exopolysaccharides of lactic acid bacteria on the growth and development, as well as the intestinal microflora of farm animals - chickens and sturgeons during their feeding, was studied. It was found that the use of bacterial exopolysaccharides in sturgeon leads to. The results of the study may in the future be used in animal husbandry and aquaculture in the process of growing poultry and fish.

Keywords: agricultural birds, sturgeon, growth, development, ichthyomass.

В последние годы в сельском хозяйстве активно ведется поиск способов повышения продуктивности животных, в том числе и сельскохозяйственной птицы, крупного и мелкого рогатого скота, ценных пород рыб, основанный не только на применении биологически активных кормовых добавок с добавлением микроэлементов (например, йода), аминокислот и витаминов [1, 2, 3], но и с возможным применением веществ бактериального синтеза, но этот вопрос еще требует глубокого изучения [4, 5]. Целью работы явилось изучение влияния экзополисахаридов молочнокислых бактерий на жизнедеятельность сельскохозяйственных животных при кормлении.

В качестве объектов исследования были выбраны животные, относящиеся к разным таксономическим классам: сельскохозяйственная птица – куры, рыбы – осетры. Был использован ЭПС *Streptococcus thermophilus*, полученный нами ранее [6]. Данный полисахарид является нетоксичным в качестве кормовой добавки [7], а также успешно подавлял рост условно-патогенных бактерий, в том числе сальмонелл и кишечной палочки [8].

Исследуемые цыплята кросса Хаббард ИЗА Ф-15 яичного направления были распределены на контрольную и опытную группы (n=10). Содержание цыплят было напольным, на глубокой подстилке из древесной стружки. Все цыплята получали общепринятый в хозяйстве рацион кормления. Контрольная группа получала полнорационный комбикорма № ПК-ИЗА-15-8, производства России, а опытная группа – тот же комбикорм с добавлением 10 мл раствора ЭПС (из расчета 0,06 г/кг массы птицы) дважды в неделю в течение первого месяца жизни.

Сеголетки ленского осетра со средней массой примерно 630 г. содержались в аквариумах вместимостью 250 л и были распределены на контрольную и опытную группы (n=6). Для обеспечения наилучших условий для жизнедеятельности рыб и потребления кормов поддерживали соответствующий оптимальной физиологической норме температурный режим (18-19°С), уровень растворенного в воде кислорода (7 мг/л) и pH (6,5-7). Кормление рыб в период опыта производили три раза в день, в светлое время суток, через равные промежутки времени. Особи контрольной группы получали полнорационный гранулированный продукционный комбикорм для осетров Supreme-10 фирмы «Coppens», Нидерланды, а особи опытной группы получали тот же комбикорм с добавлением ЭПС из расчета 0,04 г/кг массы рыбы в течение 15 недель. Состав и питательность соответствовали данному периоду выращивания рыбы. Определение живой массы цыплят и ихтиомассы рыб осуществляли путем индивидуального взвешивания в одно и то же время, до утреннего кормления.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли по стандартным методам [9] с использованием параметрического t-критерия Стьюдента и достоверными считали различия при вероятности ошибки $p<0,05$.

В ходе изучения влияния изучаемого экзополисахарида на живую массу птиц было определено, что к концу второго месяца жизни у цыплят опытной группы масса тела была равна 1041± 30,12 г, что было выше контроля на 8,2%.

При исследовании влияния бактериального ЭПС на рост и развитие рыб было определено, что использование ЭПС *S. thermophilus* в рационе опытной группы сопровождалось увеличением интенсивности роста рыбы. Так, прирост ихтиомассы был выше на 8,2 % по отношению к контрольной группе и составил на конец эксперимента 5240,0±30,00 г. Также опытная группа опережала контроль по относительному приросту на 3,9 %, который составил 52,4±1,00 %, а также по среднесуточному на 8,1 %, который составил 4,0±0,08 г.

Таким образом, использование в кормлении цыплят и осетров ЭПС молочнокислых бактерий *S. thermophilus* влияет на увеличение массы животных по сравнению с контрольными группами без применения бактериальной

добавки. Полученные результаты в перспективе могут найти применение в зоотехнии и рыбоводстве.

Список источников

1. Андреев, В.В. Органолептическая и дегустационная оценка мяса цыплят-бройлеров, получавших в рационе комплекс органических микроэлементов / В.В. Андреев // Молодой ученый. – 2013. – №3 (50). – С. 534 – 536.
2. Поддубная, И.В. Теоретическое и практическое обоснование использования органического йода в кормлении осетровых рыб: монография / И.В. Поддубная, А.А. Васильев // ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ. – Саратов, 2017. – 252 с.
3. Терентьева, Е.Ю. Органолептические показатели и дегустационная оценка мяса цыплят-бройлеров, при использовании жидкой кормовой добавки Версал ликвид / Е.Ю.Терентьева, В.В. Салаутин, С.Е. Салаутина // Актуальные вопросы ветеринарной науки: Материалы Международной научно-практической конференции. – Ульяновск, 2015. – С. 233 –235.
4. Полисахариды в кормлении молочного скота / Н.П. Буряков, А.В. Косолапов, М.А. Малков [и др.] // Сыроделие и маслоделие. – 2017. – №6. – С. 51 – 54.
5. Биопрепараты микробного происхождения в птицеводстве / Н.В. Феоктистова, А.М. Марданова, М.Т. Лутфуллин [и др.] // Ученые записки Казанского университета. Серия Естественные науки. – 2018. – Т. 160, кн. 3. – С. 395 – 418.
6. Фокина, Н.А. Влияние условий культивирования на продукцию экзополисахарида *Streptococcus thermophilus* / Н.А. Фокина, Г.Т. Урядова, Л.В. Карпунина // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. – 2018. – Т. 18, вып. 2. – С. 179 – 181.
7. Урядова. Г.Т. Биологическая активность экзополисахаридов молочнокислых бактерий / Г.Т. Урядова, Н.А. Фокина, Е.А. Горельникова [и др.] // IV Пущинская школа-конференция «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов»: сборник тезисов. – Москва: ООО «ИД «Вода: химия и экология», 2017. – С. 15.
8. Урядова, Г.Т. Изучение антимикробных свойств экзополисахаридов молочнокислых бактерий / Г.Т. Урядова, Н.А. Фокина, Л.В. Карпунина // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – №2; URL: http://www.science-education.ru/article/view?id=26226 (дата обращения: 21.03.2017).
9. Воробьев, В.Я. Теория и эксперимент / В.Я. Воробьев, А.И. Елсуков // Минск: Высшая школа. – 1989. – 109 с.

© Урядова Г.Т., Фокина Н.А., Карпунина Л.В., 2024

Научная статья
УДК 616.9:616-07

Система менеджмента качества в производстве медицинских изделий для *in vitro* диагностики особо опасных инфекций

Анна Сергеевна Феськова, Ирина Витальевна Шульгина, Оксана Анатольевна Лобовикова, Мария Владимировна Овчинникова, Анастасия Александровна Савенкова, Светлана Сергеевна Галетова
ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов

Аннотация. Формирование и внедрение системы менеджмента качества применительно к проектированию, разработке и производству медицинских изделий для *in vitro* диагностики особо опасных инфекций, относящихся к классам потенциального риска применения 2б и 3, является обязательным законодательным требованием. Целью создания и внедрения системы менеджмента качества, является ориентация на выпуск качественной продукции, удовлетворяющей запросы потребителей.
Ключевые слова: медицинские изделия, система менеджмента качества

Quality Management System in the Production of Medical Devices for in vitro Diagnostics of Highly Dangerous Infections

Anna Sergeevna Feskova, Irina Vitalievna Shulgina, Oksana Anatolyevna Lobovikova, Maria Vladimirovna Ovchinnikova, Anastasia Alexandrovna Savenkova, Svetlana Sergeevna Galetova
FKUN Russian Anti-Plague Institute «Microbe», Rospotrebnadzor, Saratov

Abstract. The formation and implementation of quality management system in relation to the design, development and production of medical devices for in vitro diagnostics of especially dangerous infections belonging to classes of potential risk of use 2b and 3 is a mandatory legislative requirement. The purpose of creating and implementing quality management system is to focus on the production of high-quality products that meet the needs of consumers.
***Keywords*:** medical devices, quality management system

Требования по внедрению системы менеджмента качества (СМК) для разработчиков, производителей и других участников обращения медицинских изделий до недавнего времени носили добровольный характер. Необходимость внедрения СМК в производство медицинских изделий продиктовано гармонизацией национальной процедуры государственной регистрации с соответствующими требованиями Евразийского экономического союза (решение Совета ЕАЭК от 10.11.17 г. N 106) [1].

В соответствии с ФЗ № 323 от 21.11. 2011 г. (изм. от 25.12.23 г.) "Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации" производство медицинских изделий, подлежащих государственной регистрации должно соответствовать требованиям к внедрению, поддержанию и оценке системы управления качеством медицинских изделий в зависимости от потенциального риска их применения [2]. Согласно требованиям, утвержденным постановлением Правительства РФ № 136 от 09.02.2022., производители медицинских изделий классов потенциального риска применения 2б и 3 должны внедрить систему управления качеством медицинских изделий, причем для класса 3 - в полном объеме, включая процессы проектирования и разработки [3].

Номенклатурная классификация медицинских изделий по классам в зависимости от потенциального риска их применения (приказ Минздрава РФ № 4н от 06.06.2012 г. "Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий") подразделяет медицинские изделий для диагностики *in vitro* следующим образом:

медицинские изделия, предназначенные для выявления инфекционных агентов, являющихся причиной заболеваний, угрожающих жизни человека, с высоким риском распространения, относят к классу 3;

медицинские изделия, предназначенные для выявления инфекционных агентов, когда ошибочный результат может быть причиной летального исхода пациента, а также при определении статуса инфекционной болезни или иммунного статуса, когда ошибочный результат приведет к терапевтическому заключению, вызывающему опасность для жизни пациента, относят к классу 2б [4].

Основные положения системы менеджмента качества медицинских изделий изложены в стандарте ГОСТ ISO 13485 -2017 "Изделия медицинские. Системы менеджмента качества. Системные требования для целей регулирования".

Система менеджмента качества - это комплекс мер, методов и инструментов, применяемых производителем для выпуска качественной продукции, соответствия требованиям потребителей, совершенствования всей производственной деятельности организации.

Положения системы менеджмента качества должны применяться организациями, участвующими в одной или нескольких стадиях жизненного цикла медицинского изделия, включая проектирование, разработку, производство, хранение, поставку и утилизацию.

При разработке СМК необходимо учитывать внутреннюю организационную структуру предприятия, его численность, а также требования к медицинским изделиям, связанные с конкретными этапами их обращения.

Создание и внедрение системы менеджмента качества в организации - производителе, делающей ставку на постоянное улучшение качества продукции, требует стратегического административного решения.

При этом должны быть учтены конкретные цели и задачи организации, специфика выпускаемой продукции, применяемые процессы. Любую деятельность, начинающуюся с закупки сырья и материалов, т.е. имеющую вход,

и преобразующую это в готовую продукцию, т.е. в выход, рассматривают как процесс. Производитель должен определить процессы, где необходимо внедрение СМК, установить их последовательность и взаимодействие, применить риск-ориентированный подход к управлению ими.

Особое внимание при формировании системы менеджмента качества уделяют документации, основным элементом которой является Руководство по качеству. Этот документ определяет политику учреждения в отношении качества, структуру системы обеспечения качества, функциональные обязанности и полномочия участвующих структурных подразделений, общую организационную иерархию мероприятий в области качества, систему вспомогательной документации.

Доказательством соответствия внедренной СМК требованиям межгосударственного стандарта ГОСТ ISO 13485-2017, являются сертификат соответствия и отчеты об аудите системы качества медицинских изделий, полученные производителем от аккредитованного в установленном порядке органа по сертификации СМК с необходимой областью аккредитации [5].

Все вышеизложенное явилось основанием для совершенствования имеющейся в Российском противочумном институте «Микроб» системы менеджмента качества применительно к производству медицинских изделий для *in vitro* диагностики возбудителей особо опасных инфекций.

Учреждение выпускает более 30 препаратов для индикации и идентификации чумы, холеры, туляремии, сибирской язвы, бруцеллеза. Перечисленные диагностические средства согласно Номенклатурной классификации медицинских изделий по классам в зависимости от потенциального риска их применения относят к классам 2б и 3. Необходима актуализация действующей СМК, а также ее расширение с учетом включения процессов проектирования и разработки для медицинских изделий класса 3.

Создание и поддержание условий, необходимых для эффективного функционирования существующей в институте «Микроб» системы качества, достигнуто путем соблюдения при организации и проведении работ требований основополагающих документов: Федеральных законов, постановлений Правительства РФ, ГОСТов, руководящих нормативных документов и методических разработок Министерства здравоохранения РФ, Росздравнадзора, Роспотребнадзора. Имеющаяся в организации система документации включает весь комплекс нормативных документов, технологических инструкций, протоколов производства и контроля, маршрутных карт, а также положений о подразделениях и видах деятельности, должностных инструкций.

Технологические процессы производства четко регламентированы, работы проводятся в помещениях, спроектированных и оборудованных в соответствии с требованиями нормативной документации. Регулярно проводится оценка состояния технологического оборудования, а также контроль сроков поверки и калибровки средств измерений. По мере надобности и в соответствии с финансовыми возможностями проводится модернизация и совершенствование парка оборудования, аналитических приборов и комплексов.

Осуществляется регулярный надзор за технологическими процессами, своевременный адекватный контроль качества полуфабрикатов и готовой продукции. Используемое сырье, материалы и реактивы проходят входной контроль при наличии сопроводительной документации производителя.

Своевременно, в случае выявления возможных ошибок в работе, из-за которых может возникнуть брак, выполняются корректирующие и предупреждающие мероприятия, на регулярной основе проводится инспектирование производственных и вспомогательных подразделений комиссией по самоинспекции, действующей на постоянной основе.

Немаловажное значение имеет работа по подбору и расстановке квалифицированного персонала, организации подготовки и повышения квалификации специалистов.

Таким образом, достигается цель создания и внедрения системы менеджмента качества, заключающаяся в ориентации на выпуск качественной продукции. При этом для создания единых целей и направлений деятельности лидирующая роль отводится руководству организации. Вовлечение в работу персонала основано на раскрытии и использовании способностей сотрудников с пользой для предприятия. В целом, деятельность организации должна воспринимается как совокупность процессов.

При таком подходе обеспечивается выпуск медицинских изделий, соответствующих требованиям стандартов и удовлетворяющих запросы потребителей.

Список источников

1. Решение Совета Евразийской экономической комиссии "О Требованиях к внедрению, поддержанию и оценке системы менеджмента качества медицинских изделий в зависимости от потенциального риска их применения" от 10.11.2017 № 106. - С изм. и допол. в ред. от 19.08.2022.
2. Федеральный закон "Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации " от 21.11.2011 № 323 // Принят Государственной Думой 1 ноября 2011 года. - С изм. и допол. в ред. от 25.12.2023.
3. Постановление Правительства Российской Федерации "Об утверждении требований к внедрению, поддержанию и оценке системы управления качеством медицинских изделий в зависимости от потенциального риска их применения" от 09.02.2022 № 136.
4. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации "Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий" от 06.06.2012 № 4н. - С изм. и допол. в ред. от 07.07.2020.
5. Изделия медицинские. Системы менеджмента качества. Системные требования для целей регулирования. ГОСТ ISO 13485 -2017.

© Феськова А.С., 2024

Научная статья
УДК 637.146

Разработка кисломолочного продукта «Курт» с добавлением соевой муки и шпината

Анастасия Сергеевна Федорец, Заур Юрьевич Хапцев, Татьяна Владиславовна Спиряхина, Сергей Владимирович Иващенко
Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова,
г. Саратов

Аннотация: Функциональный пищевой продукт представляет собой инновационную категорию пищевых изделий, которые создаются, производятся или модифицируются с целью предоставления доказанных научными исследованиями свойств. Эти свойства направлены на улучшение состояния здоровья и снижение риска развития заболеваний за счет включения функциональных компонентов. Кроме того, такие продукты способствуют предотвращению дефицита необходимых питательных веществ в организме человека, что делает научную обоснованность их эффективности ключевым фактором в функциональном питании. Особое внимание следует уделить функциональным молочным продуктам. Помимо традиционной пищевой ценности, они обладают рядом дополнительных преимуществ для здоровья. Кисломолочные продукты являются источником пробиотиков - полезных бактерий, которые оказывают благотворное воздействие на кишечную микрофлору. Регулярное употребление этих продуктов помогает подавлять рост патогенной микрофлоры, улучшает пищеварение и повышает общий иммунитет. Добавление растительного белка в молочные продукты приводит к повышению их биологической ценности.

Курт – это сухой молочный продукт, приготовленный из обезжиренного или нормализованного по жирности обработанного коровьего, якового, овечьего, козьего молока. В процессе исследования установлено, что обогащение курта белками и шпинатом повышает его пищевую ценность, переводя в категорию функциональных продуктов.

Ключевые слова: молочнокислое брожение, курст, функциональный продукт, белки, соя, шпинат

Development of fermented milk product “Kurt” with the addition of soy flour and spinach

Anastasia S. Fedorets, Zaur Yu. Khaptsev, Tatiana V. Spiriakhina, Sergei V. Ivaschenko
Saratov State University of genetics, biotechnology and engineering named after N.I. Vavilov, Saratov

Abstract. A functional food is an innovative category of food products that are created, manufactured or modified to provide scientifically proven properties. These properties are aimed at improving health and reducing the risk of disease through the inclusion of functional components. In addition, such products help prevent deficiencies of essential nutrients in the human body, which makes the scientific basis of their effectiveness a key factor in functional nutrition. Particular attention should be paid to functional dairy products. In addition to their traditional nutritional value, they have a number of additional health benefits. Fermented milk products are a source of probiotics - beneficial bacteria that have a beneficial effect on the intestinal microflora. Regular consumption of these products helps suppress the growth of pathogenic microflora, improves digestion and improves overall immunity. Adding vegetable protein to dairy products increases their biological value.

Kurt is a dry milk product made from skim or fat-standardized processed cow, yak, sheep, and goat milk. During the study, it was found that enriching kurt with proteins and spinach increases its nutritional value, transferring it to the category of functional products.

Key words: lactic acid fermentation, kurst, functional product, proteins, soybeans, spinach

Термин «функциональный продукт» впервые был разработан в Японии для обозначения продуктов с добавлением ингредиентов, которые, как утверждается, приносят дополнительную пользу для здоровья [1].

Современная пищевая промышленность стремится к созданию функциональных продуктов питания, богатых биологически активными веществами, которые способствую улучшению здоровья и благополучия человека. Вследствие этого разработка новых кисломолочных продуктов с усовершенствованным составом и свойствами является актуальной задачей.

Функциональные кисломолочные продукты играют важную роль в современном мире, удовлетворяя потребности людей в здоровом и вкусном питании. Они способствуют улучшению пищеварения, укреплению иммунитета, повышению качества жизни и профилактике различных заболеваний.

Курт – традиционный кисломолочный продукт народов Центральной Азии, который высоко ценится за свою питательную ценность и вкус [3]. Однако для расширения его функциональных возможностей и повышения привлекательности для потребителей необходимо разрабатывать новые рецептуры, богатые полезными ингредиентами.

В настоящее время изучаются различные способы обогащения молока и творога белковыми компонентами, витаминами, микроэлементами, пробиотиками и пребиотиками. Однако недостаточно исследований,

посвященных изучению влияния соевой муки и шпината на качество и свойства курта.

Соя является ценным источником высококачественного белка и содержит полный набор незаменимых аминокислот, которые необходимы для синтеза белков в организме [3]. В свою очередь, шпинат обладает богатым составом микроэлементов, включая железо, калий и магний, а также витамины группы В и витамин К. Эти компоненты играют ключевую роль в поддержании здоровья костной системы и обеспечении процессов кроветворения [4].

Целью работы явилась разработка и исследование кисломолочного продукта «Курт» с добавлением соевой муки и шпината

Для реализации поставленной цели был определён ряд ***задач***:

1. Разработать рецептуру курта, с добавлением соевой муки и шпината.
2. Провести органолептическую оценку разработанного продукта.
3. Провести микробиологические и физико-химические анализы разработанного продукта.
4. Оценить пищевую ценность курта с добавлением соевой муки и шпината

Объекты и методы исследования.

В качестве исходного сырья использовано молоко питьевое ультрапастеризованное с массовой долей жира 2,5 % «Добрая Буренка», соответствующее ГОСТу 31450-2013 «Молоко питьевое. Технические условия».

Для сквашивания молока применялась коммерческая закваска «Иван-поле», изготовленная в соответствии с ТУ 10.89.19-026-51070597-2018 “Закваски молочнокислые для производства кисломолочных продуктов”. В состав закваска входит два уникальных штамма: *Lactococcus lactis subsp. lactis* и *Streptococcus salivarius subsp. Thermophilus.*

Соевая мука использовалась в качестве источника белка и пищевых волокон. Мука соевая полуобезжиренная «С.Пудовъ» производится в соответствии с СТО 53548590-031-2014. Пищевая ценность 100 г продукта: белки – 43,0 г, жиры – 9,5 г, углеводы – 19,0 г.

В качестве источника витаминов использовался порошок шпината. Он содержит множество полезных микроэлементов: витамины К, B_9, А, С, калий, магний, марганец, железо. Пищевая ценность 100 г порошка шпината указанная изготовителем: 2,9 г белков, 2 г углеводов, 0,3 г жиров.

Приготовление курта начинали с внесения в молоко, предварительно прогретое до температуры 28-30 °С, 3 % закваски. Для достижения однородности состава, молочная смесь подвергалась интенсивному перемешиванию в течение 2-3 минут, что способствовало полному растворению закваски.

Сквашивание длилось 16 часов при температурном режиме 26-28 °С. В последующем, для минимизации потерь ценных белковых компонентов в сыворотке, сгусток разрезали вдоль и поперек емкости шагом 1,5-2 см. Затем подогревали сгусток до 60 °С с последующим выдерживанием в течение 30 минут. Отделенная сыворотка удалялась, а сгусток подвергался процессу самопрессования на протяжении 3 часов, находясь в лавсановом мешке для отжима.

В последующем, к сгустку добавляли 2 % соли, а также соевую муку и порошок шпината в различных пропорциях – 3 %, 5 % и 7 %. Тщательное перемешивание этих компонентов приводило к получению массы с однородной текстурой, которую затем формовали в виде таблеток.

Курт подвергали процессу сушки, при котором использовалось инфракрасное излучение. Данный процесс длился 12 часов при температуре 50 °С (Рисунок 1).

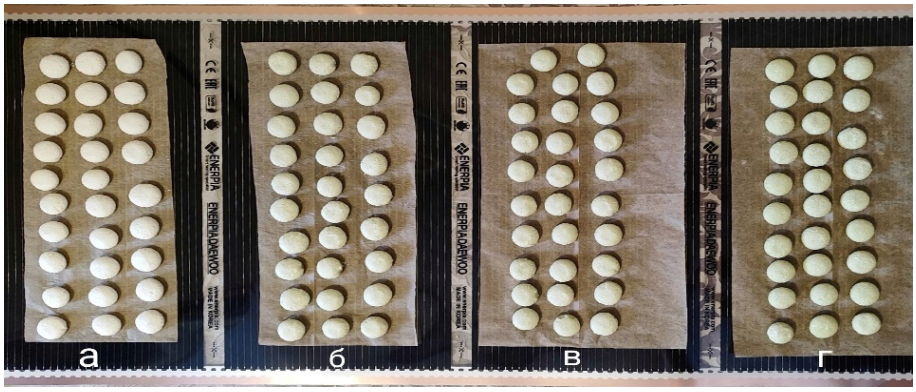


Рисунок 1. Сушка курта на полотне с ИК-излучением: а – контроль; б – курт с 3 % соевой муки и 3 % шпината; в – курт с 5 % соевой муки и 5 % шпината, г – курт с 7 % соевой муки и 7 % шпината

Микробиологические анализы курта

Анализы проводились с использованием тест-пластин Petrifilm, для подсчета энтеробактерий, которые помогают выявить потенциальные патогенны, такие как сальмонеллы, а также колиформные бактерии (БГКП).

Использование Petrifilm рекомендовано ГНУ ВНИМИ Россельхозакадемии для производственного контроля на предприятиях промышленности, а также соответствует ГОСТ 32901-2014 «Молоко и молочная продукция. Методы микробиологического анализа».

Органолептический анализ курта

Для оценки органолептических свойств разработанных образцов курта использовалась методика, описанная в ГОСТ 13299-2015 «Органолептический анализ. Методология. Общее руководство по составлению органолептического профиля». Метод основан на способности человеческих органов чувств (зрение, обоняние, вкус, осязание) воспринимать различные характеристики продукта.

Изучение физико-химических свойств курта

Определяли физико-химические показатели свежевыработанного продукта и продукта, после 30 суток хранения. Образцы хранились в холодильнике при температуре +4 °С до момента проведения анализов.

1) Титруемую кислотность устанавливали методом с применением индикатора фенолфталеина согласно ГОСТ Р 54669-2011 «Молоко и продукты переработки молока. Методы определения кислотности».

2) Массовую долю влаги определяли с помощью анализатора влажности Mettler Toledo.

Анализаторы влажности Mettler Toledo используют метод термогравиметрии для определения содержания влаги в образце. Прибор соответствует ГОСТ 24104-2001.

3) Массовую долю жира в пересчете на сухое вещество определяли по ГОСТ 5867-2023 «Молоко и продукты переработки молока. Методы определения жира».

Результаты исследований и их обсуждение

В ходе исследования были приготовлены образцы курта с различным процентным содержанием соевой муки и шпината.



Рисунок 2. Готовые образцы курта: а – контроль; б – курт с 3 % соевой муки и шпината; в – курт с 5 % муки и шпината, г – курт с 7% муки и шпината

Микробиологические анализы

В результате проведения анализа на наличие БГКП было установлено, что в пробах курта колиформные и энтеробактерии не обнаружены.

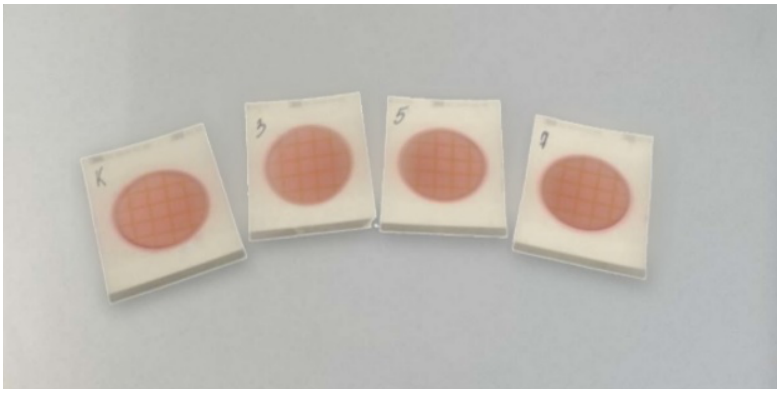


Рисунок 3. Результаты анализа на тест-пластинах

Отсутствие БГКП и сальмонеллы в разработанном продукте свидетельствует о его микробиологической безопасности.

Органолептические анализы

Результаты органолептического анализа четырех образцов представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1 - Органолептические показатели курта

Показатели	Контроль	Курт с 3 % добавок	Курт с 5 % добавок	Курт с 7 % добавок
Форма	Сплюснутые шарики (форма таблетки)			
Цвет	Кремовый	Кремовый с зеленым оттенком	Бледно зеленый, небольшое количество белых вкраплений	Темно зеленый с белыми вкраплениями
Вкус	Кисломолочный, в меру соленый	Кисломолочный, в меру соленый	Кисломолочный, в меру соленый	Кисломолочный с привкусом шпината, в меру соленый
Запах	Без запаха	Без запаха	Запах шпината	Запах шпината и соевой муки
Консистенция	Твердая, сухая			

Таблица 2 - Органолептическая оценка курта

Образец	Форма	Цвет	Вкус	Запах	Консистенция
Контроль	9,8±0,3	9,8±0,3	9,4±0,8	9,6±0,5	9,8±0,3
Курт с 3 % добавок	9,8±0,3	8,8±0,9	9,2±0,8	9,6±0,5	9,6±0,8
Курт с 5 % добавок	9,8±0,3	8,4±0,9	9,2±0,8	8,2±0,5	9,6±0,5
Курт с 7 % добавок	9,8±0,3	6,6±0,5	7,4±0,5	6,8±0,8	9,6±0,8

По выставленным оценкам составлен органолептический профиль, представленный на рисунке 3.

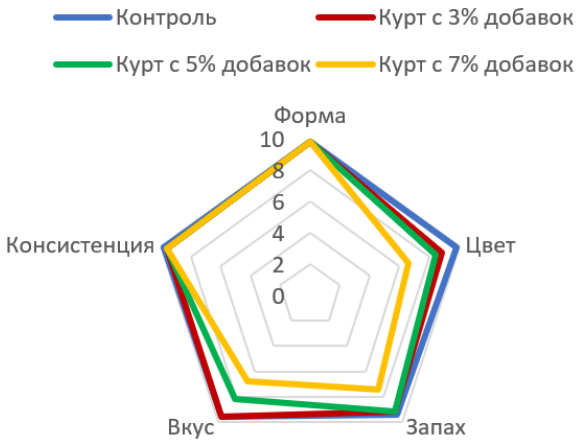


Рисунок 3. Органолептический профиль готового продукта

Контрольный образец получил наивысшие оценки по всем показателям, что свидетельствует о высоком качестве продукта. Образцы с 3 % и 5 % добавок продемонстрировали хорошие органолептические характеристики. Незначительное снижение оценок (цвет, вкус) может быть связано с влиянием добавок. Образец с 7 % добавок получил более низкие оценки по цвету, вкусу и запаху, что указывает на негативное влияние высокого содержания добавок на органолептические свойства курта.

Физико-химические анализы

Результаты физико-химических исследований отражены в таблицах 4-5.

Таблица 4 - Физико-химические показатели свежего курта

Показатель	Контрольный образец	Курт с добавлением 3%	Курт с добавлением 5%	Курт с добавлением 7%
Кислотность, °Т	370±2	362±2	341±2	332±2
Массовая доля влаги, %	15,7±0,2	15,9±0,3	16,1±0,2	16,8±0,2
Массовая доля жира в пересчете на сухое вещество, %	12,7±0,3	13,4±0,5	13,6±0,5	13,8±0,5

Таблица 5 - Физико-химические показатели курта через 30 дней

Показатель	Контрольный образец	Курт с добавлением 3%	Курт с добавлением 5%	Курт с добавлением 7%
Кислотность, °Т	280±4	286±2	288±4	294±2
Массовая доля влаги, %	12,9±0,3	13,2±0,2	14,4±0,2	14,9±0,3
Массовая доля жира в пересчете на СВ, %	12,4±0,4	12,5±0,4	13,2±0,5	13,4±0,5

Проведённые физико-химические анализы позволили получить данные о влиянии добавления соевой муки и шпината на свойства курта, как в свежем виде, так и после 30 дней хранения.

В ходе хранения наблюдается снижение кислотности во всех образцах, как в контрольном, так и в образцах с добавками. Образцы с добавками показали более высокую начальную кислотность по сравнению с контрольным образцом. После 30 дней хранения кислотность во всех образцах стабилизировалась.

Образцы с добавками демонстрируют более высокое содержание влаги как в свежем виде, так и после 30 дней хранения. Это связано с гигроскопичными свойствами соевой муки и шпината, которые способны удерживать влагу.

В процессе хранения наблюдается снижение содержания влаги во всех образцах. Это обусловлено испарением влаги из продукта, что является естественным процессом при хранении курта. Также образцы с добавками показали более высокое содержание влаги после 30 дней хранения по сравнению с контрольным образцом. Вероятно, соевая мука и шпинат способствуют более медленному испарению влаги из продукта.

Массовая доля жира в контрольном образце и образцах с добавками снизилась в ходе хранения. Образцы с добавками содержат больше жира, чем контрольный образец.

Проведенные исследования показали, что добавление соевой муки и шпината в курт может влиять на его физико-химические свойства. Однако, полученные результаты свидетельствуют о том, что разработанный продукт отвечает требованиям стандарта.

Оценка пищевой ценности курта

Для оценки пищевой ценности использовали расчетный метод, исходя из данных, приведенных в таблице 6.

Таблица 6 - Пищевая ценность используемого сырья

Сырье	Белки, г	Жиры, г	Углеводы, г
Молоко	3,0	2,5	4,7
Шпинат	2,9	0,3	2,0
Соевая мука	43,0	9,5	19,0

В 100 г молока содержится 3 г белка. Из 4800 мл молока выход творога составил 820 г. В творог переходит около 80 % белка от исходного количества. Следовательно 100 г получившейся творожной массы содержит приблизительно

12 г белка. Так как при сушке масса курта уменьшилась в двое 100 г, курт содержит около 24 г белка.

Курт с 5 % добавок, получивший высокие оценки по органолептическим показателям, содержит 26,5 г белка, что составляет 33 % от средней суточной нормы потребления белка для взрослого человека. Помимо этого, продукт содержит 20 % суточной нормы витамина К, 6,7 % от нормы Витамина B_9, 6 % от нормы бета-каротина.

Курт с 7 % добавок содержит 27,4 г белка, что составляет 20 % от суточной нормы белка для военнослужащих и спортсменов. Также продукт содержит 28 % суточной нормы витамина К, 9,4 % от нормы Витамина B_9, 8,4 % от нормы бета-каротина.

Выводы

1. Разработана рецептура курта с добавлением соевой муки и шпината, что позволило обогатить продукт белками, витаминами и минералами. Были найдены оптимальные пропорции ингредиентов, при которых продукт сохраняет свои вкусовые качества и одновременно обогащается полезными веществами.
2. Проведенные оценки подтвердили, что разработанный продукт соответствует всем стандартам качества и безопасности. Органолептические характеристики оценивались как хорошие, а микробиологические показатели соответствовали нормам.
3. Исследование физико-химических свойств (влажности, кислотности, содержания жира) показало, что добавление соевой муки и шпината не влияет негативно на структуру и стабильность продукта.
4. Анализ пищевой ценности показал, что курт с добавлением соевой муки и шпината имеет более высокое содержание белка и витаминов по сравнению с традиционным куртом.

Список источников

1. Alongi, M. Re-thinking functional food development through a holistic approach / M. Alongi, M. Anese // Journal of Functional Foods. – 2021. – Vol. 81. – P. 1 - 13.
2. Надиров, Ш.Х. Технология таджикского национального продукта курут / Ш.Х. Надиров, Л.И. Елисеева // Стратегия и перспективы развития агротехнологий и лесного комплекса Якутии до 2050 года: Материалы Всероссийской научно-практической конференции. – Якутск, 2022. – С. 1212 - 1217.
3. Qin, P. A review on plant-based proteins from soybean: Health benefits and soy product development / P. Qin, T. Wang, Y. Luo // Journal of Agriculture and Food Research. – 2022. – Vol. 7. – P. 1 - 8.
4. Spinach / M. A. Murcia et al. // Nutritional Composition and Antioxidant Properties of Fruits and Vegetables. – 2020. – Vol. 11. – P. 181 - 195.

© Федорец А. С., Хапцев З. Ю., Спиряхина Т. В., Иващенко С. В., 2024

Научная статья
УДК 615.371

К вопросу о перспективах сокращения применения антибиотиков в ветеринарии

Заур Юрьевич Хапцев, Татьяна Владиславовна Спиряхина, Андрей Алексеевич Краснов, Ольга Александровна Круглова
Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова,
г. Саратов

Аннотация. Широкое применение антибиотиков в медицине и ветеринарии привело к селекции антибиотикорезистентных штаммов. Одним из путей решения проблемы является применение аутовацин. Однако, в Российской Федерации отсутствуют правовые основания для внедрения данного способа профилактики оппортунистических заболеваний животных.

***Ключевые слова*:** антибиотикорезистентность, условно-патогенные микроорганизмы, маститы, аутовакцины

On the issue of the prospects for the use of autovaccines in veterinary medicine

Zaur Yu. Khaptsev, Tatiana V. Spiriakhina, Andrey A. Krasnov, Olga A. Kruglova
Saratov State University of genetics, biotechnology and engineering named after N.I. Vavilov, Saratov

Abstract. The widespread use of antibiotics in human and veterinary medicine has led to the selection of antibiotic-resistant strains. One way to solve the problem is the use of autovaccins. However, in the Russian Federation there are no legal grounds for the introduction of this method of preventing opportunistic animal diseases.

Key words: antibiotic resistance, opportunistic microorganisms, mastitis, autovaccines

Исторически сложившееся широкое использование антибиотиков в том числе при выращивании сельскохозяйственных животных и птицы, привело к появлению устойчивости к противомикробным препаратам в микробных популяциях. Выделение антибиотиков в окружающую среду после нерационального использования приводит к гибели восприимчивых организмов и селекции антибиотикоустойчивых штаммов. [1].

Селекция антибиотикорезистентных штаммов, особенно в популяциях условно-патогенных микроорганизмов, ассоциированных с инфекционными заболеваниями, рассматривается как одна из наиболее актуальных проблем, стоящих перед мировым здравоохранением и животноводством [2, 3, 4].

В настоящее время предпринимаются усилия значительные усилия для оптимизации или снижению применения антибиотиков у сельскохозяйственных животных. Так, к примеру в Российской Федерации принято распоряжение Правительства РФ от 25 сентября 2017 г. № 2045-р «О Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в РФ на период до 2030 г. прямо указано, что одной из основных причинам появления и распространения антимикробной резистентности является нерациональное и (или) бесконтрольное применение противомикробных препаратов, химических и биологических средств в здравоохранении, сельском хозяйстве, в том числе животноводстве, растениеводстве, при разведении аквакультуры, а также в пищевой промышленности. В соответствии с этим документом планируется ввести ограничения, исключающие бесконтрольное применение противомикробных препаратов, химических и биологических средств, а также принять ограничительные меры по их нецелевому применение в профилактических и иных целях. [5]. Аналогичные законодательные усилия и кампании по рациональному использованию антибиотиков были предприняты во всем мире, в том числе в США, странах Евросоюза, Японии, Китае и Индии [6, 7, 8].

Это ожидаемо привело к снижению продаж ветеринарных препаратов с противомикробными составляющими. Так, к примеру, в окончательном отчете *Европейского органа надзора за потреблением ветеринарных противомикробных препаратов (ESVAC) за 2009 – 2023 гг.* указано, что продажи антибиотиков, применяемых в ветеринарии, достигли самого низкого уровня за всю историю наблюдений на основе данных из 25 стран. [9]. В качестве основной альтернативы применению антибиотикам рассматривается строгое соблюдение ветеринарно-санитарных, зоогигиенических нормативов, а также условий кормления.

Вместе с тем, абсолютно очевидно, что животные могут заболеть даже при наличии идеальных условий содержания и кормления, и, скорее всего, потребуется лечение антибиотиками [10].

При этом на животноводческих комплексах зачастую применяется групповое лечение антимикробными препаратами. В соответствии с нормативно-законодательной базой Евросоюза термин групповое лечение охватывает как профилактику, так и метафилактику[11, 12].

При этом, новый регламент ЕС 2019/6 гласит, что "Противомикробные лекарственные средства должны использоваться для метафилактики только тогда, когда риск распространения инфекции или инфекционного заболевания в группе животных высок и когда нет других подходящих альтернатив" [13].

Современные подходы в промышленном животноводстве и птицеводстве включают выращивание сельскохозяйственных животных в сходных половозрастных группах, часто скомплектованных с разных и иногда даже происхождения. И хотя все животные на фермах стадные отъем и перемещение в другие помещения представляет собой серьезный стресс, и последующая

транспортировка (внутри- или межфермерская) с последующей перегруппировкой усугубляет ситуацию, особенно для телят.

Проведенные исследования показали, что метафилактика в хозяйствах по выращиванию и разведению крупного рогатого скота и свиней чаще всего проводилась после отъема, транспортировки, комплектации и совместного содержания животных с разных ферм, поскольку за этими периодами стресса часто следуют заболевания [14, 15, 16].

Данные о продажах антибиотиков отражают эти выводы, поскольку они представляют собой косвенный показатель для ветеринарных препаратов этой группы. [17].

Что касается Российской Федерации, то в настоящее нет достоверных данных по групповому применению антибиотиков в животноводстве в виде порошков. Так, по данным Национальной ветеринарной ассоциации антибиотики занимали второе место в структуре применяемых в ветеринарии лекарственных препаратов с долей 31 %, уступая лишь немногим иммунобиологическим препаратам (доля 35 %) [18]. При этом в стоимостном выражении в структуре рынка по данным ряда исследований ветпрепаратов в России основную долю занимают «антибиотики» - 70 %, а на долю «вакцины и сыворотки» приходится порядка 10 % рынка [19]

Проведенные исследования показали, что несмотря на то, что метафилактика является успешным методом снижения заболеваемости и смертности, групповое лечение животных антибиотиками также является основной причиной развития антибиотикорезистентности [20, 21, 22].

Учитывая риски, которые несет в себе широкое применение антибиотиков в промышленном животноводстве и птицеводстве, а также при выращивании аквакультуры, продолжаются исследования по поиску альтернативных препаратов, которые бы еще больше позволили оптимизировать применение антибиотиков. Одной из групп таких препаратов являются аутовакцины.

Учитывая то, что в Российской Федерации термин «аутовакцина» отсутствует в законодательстве, а их применение фактически запрещено [23], то обратимся к зарубежному опыту.

Действующее ветеринарное законодательство, Регламент (ЕС) 2019/6 [24], который вступил в силу 28 января 2022 года, устанавливает правовые положения об инактивированных аутогенных вакцинах, включая положения об их производстве, контроле и использовании

Аутогенные вакцины в основном известны как вакцины для экстренной помощи, предназначенные для конкретного стада, животноводческого комплекса или изготовленные на заказ. Хотя правовая основа и точное определение различаются в разных странах, аутогенные вакцины используются во всем мире (например, в ЕС, США, Канаде, Бразилии, Китае, Индонезии, Австралии, Египте) и имеют долгую историю использования [25,26].

Для получения аутогенных вакцин выбранные бактериальные или вирусные штаммы обычно комбинируют с соответствующим адъювантом. В комбинированной вакцине можно использовать несколько видов вирусов или

бактерий, а в поливалентной вакцине также можно комбинировать различные серотипы. Также возможна комбинация инактивированных вирусов и бактерий. Бактериальные аутогенные вакцины разрешены во всех странах Европейского экономического пространства, тогда как вирусные аутогенные вакцины запрещены в ряде стран [26].

Аутогенные вакцины готовятся по следующей схеме (Рис.1):



Рисунок 1. Схема приготовления аутогенных вакцин Ceva Biovac. Autogenous Vaccines. [27]

Каждое производство изготавливается по индивидуальному заказу, и многочисленные адъюванты, вирусные и бактериальные изоляты, включая серотипы, токсины и виды, обеспечивают бесчисленные комбинации. Это подчеркивает важность опыта как основы для производства высококачественных аутовакцины. Ветеринар также несет обязательства в отношении диагностики, заказа и ответственности за введение вакцины.

Для приготовления аутовакцины часто используются различные бактериальные патогены. К ним относятся для домашней птицы: *Bordetella* spp., *Campylobacter* spp., *Cl. perfringens*, *Enterococcus cecorum*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *E. coli*, *Gallibacterium anatis*, *Mycoplasma spp.*, *Ornithobacterium rhinotracheale*, *Pasteurella multocida*, *Riemerella anatipestifer*; для свиней: *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Bordetella* spp., *Brachyspira* spp., *Cl. perfringens*, *E. coli*, *H. parasuis*, *Mycoplasma* spp., *Pasteurella multocida*, *Strep. suis*, *Trueperella pyogenes*; для крупного рогатого скота: *Chlamydia* spp. *Cl. Perfringens*, *E. coli*, *Histophilus somni*, *Mannheimia haemolytica*, *Moraxella bovis*, *Mycoplasma* spp., *Pasteurella multocida*, *Salmonella enterica*, *Trueperella pyogenes* ; и для рыбы: *Aeromonas* spp., *Photobacterium* spp., *Pseudomonas* spp., *Vibrio* spp., *Yersini a ruckeri.* [28]

В зависимости от вида животного и возраста при вакцинации могут использоваться различные адъюванты. Риск побочных эффектов, которые зависят от комбинации адъювант-антиген, может быть снижен за счет стандартизации протоколов.

В настоящее время многочисленные публикации о вирусных и бактериальных аутовакцинах для домашней птицы [29, 30; 31, 32; 33], крупного рогатого скота [34; 35], свиней [36] и рыбы [37]. Большинство результатов показывают, что аутовакцины могут быть полезной альтернативой использованию антибиотиков.

Подводя итог можно сделать вывод о том что, аутовакцины являются хорошей альтернативой антибиотикам в определенных ситуациях, когда коммерческие вакцины либо недоступны, либо, как ожидается, недостаточно эффективны из-за несоответствия между циркулирующими и вакцинными штаммами. Выбор адекватных клинических изолятов и вакцинных составов требует значительного опыта, а эффективное использование аутовакцин зависит от условий производства и соответствующего ветеринарного надзора.

Список источников

1. Prestinaci F Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. [Электронный ресурс] / F. Prestinaci, P. Pezzotti, A. Pantosti. // Pathog Global Health – 2015 – 109(7) – 309 – 18. Режим доступа: doi: 10.1179/ 2047773215y.0000000030. Дата обращения 20 апреля 2024 г.
2. The application of antibiotics in broiler production and the resulting antibiotic resistance in Escherichia coli: a global overview [Электронный ресурс] / N. Roth et al.// Poult Sci – 2019 – 98(4) – 1791–804. Режим доступа: doi: 10.3382/ps/ pey539. Дата обращения 20 апреля 2024 г.
3. Dadgostar P. Antimicrobial resistance: implications and costs. [Электронный ресурс] / P. Dadgostar// Infect Drug Resist – 2019 – 12:390 3–10. Режим доступа: doi: 10.2147/idr.s234610 23. Дата обращения 20 апреля 2024 г.
4. O'Neill J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations/J. O'Neill.// London, UK: Wellcome Trust and HM Government. (2016).
5. https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71677266/ Дата обращения 20 апреля 2024 г.
6. Critically important antibiotics: criteria and approaches for measuring and reducing their use in food animal agriculture [Электронный ресурс] / H.M. Scott et al.// Ann New York Acad Sci – 2019 – 1441(1) – 8–16. Режим доступа: doi: 10.1111/nyas.14058. Дата обращения 20 апреля 2024 г.
7. Founou LL, Antibiotic resistance in the food chain: a developing country-perspective [Электронный ресурс]/ L.L. Founou, R.C. Founou, S.Y. Essack// Front Microbiol –2016 – 7. Режим доступа: doi: 10.3389/fmicb.2016.01881. Дата обращения 20 апреля 2024 г.
8. Preventing bacterial disease in poultry in the post-antibiotic era: a case for innate immunity modulation as an alternative to antibiotic use [Электронный ресурс]/ J.R.G. Adams et al.// Front. Immunol .– 2023 – 14:1205869. Режим доступа: doi: 10.3389/fimmu.2023.1205869 Дата обращения 20 апреля 2024 г.
9. https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/sales-veterinary antimicrobial-agents-31-european-countries-2022-trends-2010-2022-thirteenth-esvac. Дата обращения 20 апреля 2024 г.
10. EPRUMA. Best-Practice Framework for the Use of Antibiotics in Food-Producing Animals-REACHING FOR THE NEXT LEVEL;European Platform for the Responsible Using of Medicines in Animals: Режим доступа: https://epruma.eu/home/bestpractice-guides. Дата обращения 20 апреля 2024 г.

11. https://www.afmps.be/sites/default/files/content/reflection_paper_offlabeluse_am_1.pdf . Дата обращения 20 апреля 2024 г..
12. https://www.ema.europa.eu/en/demonstration-efficacy-veterinary-medicinal-products-containing-antimicrobial-substances-scientific-guideline#current-effective-version-under-revision-9042. Дата обращения 20 апреля 2024 г.
13. Quantitative and Qualitative Analysis of Antimicrobial Usage at Farm and Flock Level on 181 Broiler Farms in Nine European Countries EFFORT consortium / P. Joosten et al.//, J. Antimicrob. Chemother. – 2019 – 74 – 798–806. [CrossRef] [PubMed]
14. Prospective Study on Quantitative and Qualitative Antimicrobial and Anti-Inflammatory Drug Use in White Veal Calves/ B. Pardon, et al.//J. Antimicrob. Chemother. – 2012 – 67– 1027 – 1038. [CrossRef] [PubMed];
15. Antibiotic Usage Pattern in Broiler Chicken Flocks in Germany/ S. Kasabova, et al//Front. Vet. Sci. – 2021 – 8, 673809. [CrossRef] [PubMed]
16. https://vicgroup.ru/publications/problemy-i-perspektivy-razvitiya-veterinarnoy-farmatsevtiki-v-rossii Дата обращения 20 апреля 2024 г.
17. https://vc.ru/marketing/930065-obzor-rynka-veterinarnyh-preparatov-v-rossii-prognoz-do-2024-goda/Дата обращения 20 апреля 2024 г.
18. https://vc.ru/marketing/930065-obzor-rynka-veterinarnyh-preparatov-v-rossii-prognoz-do-2024-goda/Дата обращения 20 апреля 2024 г.
19. Chantziaras, I. /Correlation between Veterinary Antimicrobial Use and Antimicrobial Resistance in Food-Producing Animals: A Report on Seven Countries.// I. Chantziaras, F.Boyen, B. Callens, J. Dewulf – J. Antimicrob. Chemother. – 2014 – 69 – 827–834. [CrossRef]
20. Antimicrobial Resistance: A Global Emerging Threat to Public Health Systems/ M.Ferri et al.// Crit. Rev. Food Sci. Nutr. – 2017 – 57– 2857–2876. [CrossRef]
21. Antimicrobial Resistance in Commensal Escherichia coli from Pigs during Metaphylactic Trimethoprim and Sulfamethoxazole Treatment and in the PostExposure Period. / J. Mazurek et al. // Int. J. Envrion. Res. Public Health – 2015 – 12 – 2150–2163.[CrossRef]
22. https://vetandlife.ru/sobytiya/tochno-v-cep-vozmozhno-li-v-rossii-primenenie autogennyh-vakcin/ Дата обращения 20 апреля 2024 г.
23. European Parliament and the Council of the European Union. Regulation (EU) 2019/6 of the European Parliament and the Council of the European Union of 11 December 2018 on veterinary medicinal products and repealing Directive 2001/82/EC. Available at: Regulation (EU) 2019/6 of the European Parliament and of the... (europa.eu). Дата обращения 20 апреля 2024 г.
24. L.D. Olson Comparison of commercial and autogenous bacterins for control of the cranial form of fowl cholera in turkeys [Электронный ресурс]/ Olson LD, McCune EL, Bond RE.. Avian Dis .– 1969 – 13 – 252 –260. Режим доступа: doi: 10.2307/1588493. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]. Дата обращения 20 апреля 2024 г.
25. CMDv (2017) Recommendations for the manufacture, control and use of inactivated autogenous veterinary vaccines within the EEA. European Medicines

Agency Co-ordination Group for Mutual Recognition and Decentralised Procedures—Veterinary, London. https://www.ema.europa.eu/en/veterinary-regulatory-overview/research-and-development-veterinary-medicines/availability-veterinary-vaccines. Дата обращения 20 апреля 2024 г.
26. Ceva Biovac. Autogenous Vaccines. [Autogenous Vaccines / Autogenous vaccines / Biovac (ceva-biovac-campus.com) Дата обращения 20 апреля 2024 г.
27. Vaccines as alternatives to antibiotics for food producing animals. Part 2: new approaches and potential solutions. [Электронный ресурс]/ K Hoelzer et al.// Vet Res. – 2018 – Jul 31 – 49(1):70. Режим доступа doi: 10.1186/s13567-018-0561-7. PMID: 30060759; PMCID: PMC6066917. Дата обращения 20 апреля 2024 г.
28. Advancement of Autogenous Vaccines in the Poultry Industry. [Электронный ресурс] / M. Putnam et al.//Avian Dis. – 2024 – Jan67(4)–450-455. Режим доступа: doi: 10.1637/aviandiseases-D-23- 99990. PMID: 38300663$. Дата обращения 18 апреля 2024 г.
29. Experimental reproduction of an Enterococcus cecorum infection in Pekin ducks. [Электронный ресурс]/ A. Jung et al.// Avian Pathol. – 2013 –42 – 552–556. Режим доступа: doi: 10.1080/03079457.2013.850151. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]. Дата обращения 18 апреля 2024 г.
30. Gharaibeh S. Vaccine efficacy against a new avian influenza (H9N2) field isolate from the Middle East (serology and challenge studies) [Электронный ресурс]/ S. Gharaibeh, S. Amareen// Avian Dis. – 2015 – 59 – 508–511. Режим доступа: doi: 10.1637/11123-050615-Reg. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]. Дата обращения 18 апреля 2024 г.
31. Live and inactivated vaccine regimens against caecal Salmonella typhimurium colonisation in laying hens [Электронный ресурс]/P.J. Groves et al.// Aust Vet J. – 2016 – 94 – 387–393. Режим доступа: doi: 10.1111/avj.12490. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]. Дата обращения 18 апреля 2024 г.
32. Evaluation of the efficacy of an autogenous Escherichia coli vaccine in broiler breeders. [Электронный ресурс]/ L.Li et al// Avian Pathol. – 2017 –46 – 300 – 308. Режим доступа: doi: 10.1080/03079457.2016.1267857. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]. Дата обращения 18 апреля 2024 г
33. An experimental vaccine composed of two adjuvants gives protection against Mycoplasma bovis in calves[Электронный ресурс]/K. Dudek et al.// Vaccine – 2016 – 34 – 3051 – 3058. Режим доступа: doi: 10.1016/j.vaccine.2016.04.087. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]. Дата обращения 18 апреля 2024 г.
34. Mucosal Immunization with Spore-Based Vaccines against Mannheimia haemolytica Enhances Antigen-Specific Immunity. [Электронный ресурс]/ M.S. Uddin et al.//Vaccines (Basel). – 2024 – Apr 1;12(4) – 375. Режим доступа: doi: 10.3390/vaccines12040375. PMID: 38675757; PMCID: PMC11054499. Дата обращения 18 апреля 2024 г.
35. Antibody response and maternal immunity upon boosting PRRSV-immune sows with experimental farm-specific and commercial PRRSV vaccines. [Электронный ресурс]/ M.F. Geldhof et al.//Vet Microbiol. – 2013 – 167 – 260–271. Режим

доступа: doi: 10.1016/j.vetmic.2013.08.017. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]. Дата обращения 18 апреля 2024 г.
36. Lactococcus garvieae outbreaks in Brazilian farms Lactococcosis in Pseudoplatystoma [Электронный ресурс]/H.C.S. Fukushima et al.// Fish Dis. – 2017 – 40 – 263 – 272. Режим доступа: doi: 10.1111/jfd.12509. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]. Дата обращения 18 апреля 2024 г.
37. Development of autogenous vaccines for farmed European seabass against Aeromonas veronii using zebrafish as a model for efficacy assessment. [Электронный ресурс]/ M. Smyrli et al.//Fish Shellfish Immunol. – 2022 –Apr 123 – 381-387. Режим доступа: doi: 10.1016/j.fsi.2022.03.019. Epub 2022 Mar 19. PMID: 35318138. Дата обращения 18 апреля 2024 г.

© Хапцев З. Ю. Спиряхина Т. В., Краснов А. А, Круглова О. А., 2024

Научная статья
УДК 616.98:579.842.23

Применение пептона фибрина в производстве препаратов для фагодиагностики чумы

Константин Игирович Холматов, Наталья Ивановна Вахрушина, Ольга Сергеевна Зинина, Владимир Александрович Бенцлер, Светлана Васильевна Астафьева, Кристина Сергеевна Гумаюнова, Михаил Михайлович Чалбушев, Мария Владимировна Овчинникова, Александр Владимирович Комиссаров
Федеральное казённое учреждение науки «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора», г. Саратов, Россия

Аннотация. В работе рассмотрены биологические показатели качества питательных сред на основе пептона из фибрина – отхода производства профилактических препаратов, которые использовали для культивирования чумного микроба и чувствительных к нему бактериофагов.

Ключевые слова: бактериофаги, пептон, питательные среды, ферментативный гидролиз, фибрин, чума

The use of peptone fibrin in the production of drugs for the phage diagnosis of plague

Konstantin Igirovich Kholmatov, Natalia Ivanovna Vakhrushina, Olga Sergeevna Zinina, Vladimir Alexandrovich Benzler, Svetlana Vasilyevna Astafieva, Kristina Sergeevna Gumayunova, Mikhail Mikhailovich Chalbushev, Maria Vladimirovna Ovchinnikova, Alexander Vladimirovich Komissarov
Federal State Scientific Institution «Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe» of the Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Well-being», Saratov, Russia

Abstract. The paper considers the biological quality indicators of nutrient media based on peptone from fibrin, a waste product of the production of preventive drugs that were used to cultivate the plague microbe and bacteriophages sensitive to it.

Key words: bacteriophages, peptone, nutrient media, enzymatic hydrolysis, fibrin, plague

Процесс накопления бактериофагов, специфичных к чумному микробу, является двухэтапным: первый этап заключается в культивировании

гомологичной культуры *Yersinia pestis* EV НИИЭГ; второй – в накоплении вирусных частиц на гомологичной культуре *Yersinia pestis* EV НИИЭГ, находящейся в стационарной фазе. Чумной микроб является факультативным анаэробом, хемогетеротроф, природный ауксотроф по ряду факторов роста [1]. Для его культивирования используют простые питательные среды из панкреатического гидролизата казеина, ферментативного гидролизата мяса по Хоттингеру и панкреатического гидролизата рыбокостной муки с добавлением факторов роста [1]. В процессе накопления бактериофагов, специфичных к чумному микробу используют жидкие питательные среды из ферментативного гидролизата мяса по Хоттингеру или пептон Мартена с добавлением солей аммония и метабисульфита в качестве факторов роста [1, 3].

Успешный опыт использования пептона фибрина, произведенного из отхода производства иммунобиологического лекарственного препарата «Иммуноглобулин антирабический из сыворотки крови лошади жидкий, раствор для инъекций», в качестве основы питательных сред для культивирования холерного вибриона и накопления специфичных к нему бактериофагов [2], стимулировал наш интерес к использованию пептона фибрина в производстве препаратов для фагодиагностики чумы.

В связи с вышесказанным была обозначена **цель работы:** исследование возможности использования пептона фибрина в качестве основы питательных сред на стадии накопления бактериофагов, специфичных к чумному микробу.

В работе использовали в качестве гомологичной культуры штамм *Y. pestis* EV НИИЭГ и 2 специфичных к *Y. pestis* культуры бактериофага (Покровской и Л-413С). Для культивирования систем бактерия-бактериофаг использовали питательные среды из пептона фибрина, произведенного по ранее описанному способу [2], в качестве контрольной – ферментативный гидролизат мяса по Хоттингеру, которые содержали NaCl, натрия сульфит (Na_2SO_3), водородный показатель pH устанавливали на уровне (7,35±0,10). Питательные среды из пептона фибрина дополнительно содержали аммоний фосфорнокислый двузамещенный ($(NH_4)_2HPO_4$) или цистеин в качестве факторов роста. Культивирование гомологичной культуры *Y. pestis* EV НИИЭГ проводили в течение 24-х ч при температуре (28±1) ºС. Накопление бактериофагов Покровской и Л-413С проводили при температуре (28±1) ºС до полного просветления культуральной жидкости, которое указывало на окончание процесса лизиса и составило, в среднем, (18±1) ч. Количественный учет чумного микроба осуществляли по отраслевому стандарту мутности ФСО 3.1.00086 ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России соответствующему 5 МЕ. Количественный учет фаговых частиц осуществляли методом агаровых слоев по Грациа.

При анализе ростовых свойств экспериментальных и контрольных питательных сред был отмечен типичный рост *Y. pestis* на всех вариантах в течение всего срока наблюдения, включая контроль. Прирост при культивировании штамма *Y. pestis* был идентичным и составил более 2×10^8 м.к./мл во всех вариантах питательных сред, включая контрольный образец.

Показатель количества фаговых частиц – бляшко образующих единиц (БОЕ) на экспериментальных питательных средах был в 2 раза выше в сравнении с контрольным образцом. Хранение полученных фаголизатов в течение 6 месяцев показало сохранение уровня БОЕ во всех экспериментальных средах, включая контроль. Полученные диагностические препараты бактериофага Покровской и бактериофага Л-413С в диагностическом рабочем титре лизировали контрольные штаммы *Y. pestis* и не лизировали штаммы *Y. pseudotuberculosis*.

Результаты культивирования *Y. pestis* EV НИИЭГ с последующим размножением бактериофагов Покровской или Л-413С на питательных средах на основе пептона фибрина соответствуют требованиям, предъявляемым к питательным средам и конечному продукту (бактериофагам), нормативной документации (технические условия «Бактериофаг диагностический чумной Покровской (П), лиофилизат для диагностических целей» 9386-021-01898109-2008 и технические условия «Бактериофаг диагностический чумной Л-413С, лиофилизат для приготовления раствора для диагностических целей» 9386-020-01898109-2008), что указывает на возможность их применения в производстве диагностических препаратов.

Использование пептона фибрина дополнительно позволяет снизить затраты на дорогостоящее белковое сырье для питательных сред, и способствует снижению объема утилизации отходов производства профилактических препаратов.

Таким образом, была доказана эффективность и преимущество применения, по сравнению с контрольной средой (является основной при производстве бактериофагов Покровской и Л-413С), экспериментальных питательных сред из пептона фибрина для накопления специфичных к чумному микробу бактериофагов.

Работа выполнена по теме НИР 89-2-21 «Научно-прикладные аспекты производства и совершенствования препаратов для иммунопрофилактики и диагностики опасных бактериальных и вирусных инфекций» (2021-2025 гг.).

Список литературы

1. Дятлов И.А., Кутырев В.В., Храмов М.В. Питательные среды для выделения, культивирования и идентификации возбудителей особо опасных инфекций бактериальной природы. М.: ООО «ТиРу», 2012. 415 с.

2. Получение основы микробиологических питательных сред – пептона из фибрина и применение в производстве препаратов для диагностики возбудителей особо опасных инфекций / К.И. Холматов, Н.И. Вахрушина, К.С. Гумаюнова, М.В. Антонычева и др. // ЗЫКИНСКИЕ ЧТЕНИЯ: Материалы национальной научно-практической конференции, посвященной памяти докт. мед. наук, профессора Л. Ф. Зыкина [Электронный ресурс] / под редакцией О.С. Ларионовой, Т. В. Спиряхиной. Саратов: ФГБОУ ВО Вавиловский университет, 2023. С.242-247.

3. Электронный справочник по рецептуре микробиологических питательных сред для возбудителей особо опасных инфекций с учетом количества и

компонентного состава при их приготовлении / А.Д. Белоусов, М.В. Антонычева, Н.И. Вахрушина, С.В. Астафьева, К.И. Холматов // Свидетельство о государственной регистрации № 2018620718 от 18.05.2018.

© Холматов К.И., Вахрушина Н.И., Зинина О.С., Бенцлер В.А., Астафьева С.В., Гумаюнова К.С., Чалбушев М.М., Овчинникова М.В., Комиссаров А.В., 2024.

Научная статья
УДК 579:614.48

Алгоритм выбора оборудования для обеззараживания отходов иммунобиологического производства

Михаил Михайлович Чалбушев, Алексей Дмитриевич Белоусов, Марина Владимировна Антонычева, Наталия Ивановна Вахрушина, Светлана Васильевна Астафьева
Федеральное казенное учреждение науки Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов

Аннотация. Учитывая разнообразие отходов, образующихся при иммунобиологическом производстве, требуется алгоритм выбора соответствующего оборудования для обеззараживания. На примере производства вакцины холерной и антирабического иммуноглобулина в ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора рассмотрена последовательность шагов для подготовки к комплектованию участка обеззараживания. При наличии централизованного пароснабжения целесообразно применять паровые стерилизаторы. Установленные производителями стерилизаторов программы обеззараживания могут не учитывать конкретные свойства объектов, в связи с этим необходимо согласовывать параметры программ на этапе заказа оборудования.

Ключевые слова: отходы иммунобиологического производства, обеззараживание отходов, патогенные биологические агенты, паровая стерилизация

An algorithm for selecting equipment for disinfection of waste from immunobiological production

Mikhail Mikhailovich Chalbushev, Alexey Dmitrievich Belousov, Marina Vladimirovna Antonycheva, Natalia Ivanovna Vakhrushina, Svetlana Vasilyevna Astafyeva
Federal State Institution of Science "Russian Scientific Research Anti-plague Institute "Microbe" Rospotrebnadzor",
Saratov

Annotation. Taking into account the variety of waste generated during immunobiological production, an algorithm for selecting the appropriate equipment for disinfection is required. Using the example of the production of cholera vaccine and anti-rabies immunoglobulin at the Russian Anti-Plague Institute "Microb" of Rospotrebnadzor, the sequence of steps for preparing for the completion of the disinfection site is considered. If there is a centralized steam supply, it is advisable to

use steam sterilizers. The disinfection programs established by the manufacturers of sterilizers may not take into account the specific properties of objects, and therefore it is necessary to coordinate the program parameters at the stage of ordering equipment

Keywords: waste from immunobiological production, waste disinfection, pathogenic biological agents, steam sterilization

Производство иммунобиологических препаратов связанно с образованием отходов, подлежащих обеззараживанию с последующей утилизацией. Отходы различаются по виду содержащегося в них патогенного биологического агента (ПБА), по физическим свойствам (масса, объем, исходная температура) и характеристике обеззараживаемого объекта. Для каждого вида отходов необходимо выбрать наиболее оптимальные оборудование и способ проведения обеззараживания [1]. Поэтому алгоритм выбора оборудования является актуальной задачей и рассмотрен нами на примере ФКУН Российского противочумного института «Микроб» Роспотребнадзора.

Отходами производства вакцины холерной таблетированной, производимой в институте «Микроб», являются жидкие питательные среды, контаминированные холерным вибрионом, одноразовая лабораторная посуда и другие расходные материалы (вата, резиновые и текстильные изделия). В соответствии с СанПиН 3.3686-21 обеззараживание таких объектов проводится воздействием насыщенного водяного пара под давлением при температуре (126±2) ˚С в течение 60 мин, для бактерий не образующих спор, II группы патогенности [2]. Учитывая наличие в институте централизованного пароснабжения, нами выбран способ обеззараживания водяным насыщенным паром. Паровой стерилизатор должен быть предназначен для обеззараживания ПБА I-IV групп и оборудован бактериологическими фильтрами очистки воздуха и конденсата, удаляемых из камеры. Далее необходимо уточнить геометрические размеры и количество материала, подлежащего обеззараживанию, и соответственно выбрать размер камеры стерилизатора, т.е. конкретную модель. Наиболее крупными объектами являются бутыли объемом 10 л, заполненные на 2/3 питательными средами контаминированными холерным вибрионом. В связи с вышесказанным был выбран паровой автоматический стерилизатор Sterivap HP IL 669-1FD с объемом камеры 453 л. Модификация IL указывает на его назначение для обеззараживания объектов с ПБА.

Следующим этапом необходимо уточнить параметры режимов обеззараживания заложенные производителем, которые устанавливаются по умолчанию. Данные программы учитывают вид контаминирующих микроорганизмов (спорообразующие и не спорообразующие), без учёта конкретных характеристик и доступности для пара объектов/отходов. В программах обеззараживания, установленных производителем, зачастую не учитывается «время выравнивания» [3], необходимое для прогрева в наиболее трудно стерилизуемой области крупногабаритного объекта (лабораторная посуда в виде монтажа с силиконовыми шлангами и фильтрами). Поэтому особое внимание следует уделить предварительным этапам стерилизационного цикла:

заполнению камеры паром с вакуумной откачкой, их количеству и прогреву материала. В техническом задании на поставку стерилизатора описываются параметры и характеристика объектов, и указывается необходимость валидации режимов по их обеззараживанию.

Отходами производства антирабического иммуноглобулина являются тушки лабораторных животных (кроликов) и расходные материалы, контаминированные вирусом бешенства, относящегося к III группе патогенности. Для выбора адекватного оборудования и способа обеззараживания также необходимо определиться с количеством образующихся объектов/отходов. Обеззараживание расходных материалов возможно проводить на вышеуказанном паровом стерилизаторе. Особое внимание необходимо обратить на способ обеззараживания тушек кроликов. В соответствии с СанПиН 3.3686-21 и ветеринарными правилами № 626 от 26.10.2020 тушки инфицированных животных обеззараживаются сжиганием в специальных печах (инсинераторах) или насыщенным водяным паром [4].

Установка инсинератора для обеззараживания тушек животных, до 40 тысяч т/год, допускается по нормам СанПиН 2.2.1/2.1.1.1200-03, если в пределах радиуса 500 м отсутствует жилая застройка (санитарно-защитная) [5]. Поэтому при наличии санитарной зоны предпочтительной является установка трупосжигательной печи. В противном случае необходимо использовать паровые стерилизаторы. Требования к паровым стерилизаторам и режиму обеззараживания, включая предварительный этап, аналогичны вышеуказанным.

На заключительном этапе определяются необходимые химические и биологические индикаторы для контроля процесса обеззараживания [6]. Разрабатываются стандартные операционные процедуры (СОП) для персонала, занимающегося сбором отходов, транспортировкой и проводящего непосредственно обеззараживание [7].

Описанные действия и процедуры являются необходимыми для выбора соответствующего оборудования и подготовки к комплектованию участка обеззараживания.

Список источников

1. Балакаева А.В. Сравнительная оценка эффективности установок обеззараживания медицинских отходов / Балакаева А. В., Русаков Н.В. // Гигиена и санитария, 2016. С. 614-617.

2. СанПиН 3.3686-21. «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

3. Применение автоматического парового стерилизатора для обеззараживания отходов иммунобиологического производства, контаминированных патогенными биологическими агентами / Белоусов А.Д., Антонычева М.В., Волох О.А., Абрамова Е.Г. и др. // Дезинфекционное дело, 2023. С. 14 – 22.

4. Ветеринарные правила перемещения, хранения, переработки и утилизации биологических отходов. Утверждены приказом Минсельхоза России от 26.10.2020 г. № 626.

5. СанПиН 2.2.1/2.1.1.1200-03 «Санитарно-защитные зоны и санитарная классификация предприятий, сооружений и иных объектов».

6. Выбор химических индикаторов для контроля условий стерилизации внутри и снаружи стерилизуемых изделий / Иванов С.М., Андреев В.С., Абрамова И.М., Дьяков В.В. // Дезинфекционное дело, 2004. С. 68–71.

7. СанПиН 2.1.3684-21. «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

© Чалбушев М.М., Белоусов А.Д., Антонычева М.В., Вахрушина Н.В., Астафьева С.В., 2024

Научная статья
УДК 591.11:636.085.8:636.52/.58

Гематологические показатели цыплят-бройлеров под влиянием белково - кормовой добавки

Екатерина Алексеевна Чинова, Лидия Григорьевна Каширина
ФГБОУ ВО РГАТУ, г. Рязань

Аннотация. В статье представлены результаты экспериментальных исследований по использованию в рационах цыплят-бройлеров кросса КОББ-500 разного уровня белково-кормовой добавки (БКД-С). Определено влияние дозы введения на гематологические показатели в возрастном аспекте. Установлено, что доза введения 40 г/100 кг комбикорма зарекомендовала себя с положительной стороны, достоверно увеличивая содержание эритроцитов на 21,4 % по сравнению с интактными особями контрольной группы и гемоглобина на 8,4 %.
Ключевые слова: цыплята-бройлеры, белково-кормовая добавка, гематология

Hematological parameters of broiler chickens influenced by protein feed additives

Ekaterina Alekseevna Chinova, Lidiya Grigoryevna Kashirina
Ryazan State Agricultural University, Russia

Abstract. The article presents the results of experimental studies on the use of different levels of protein feed additive (BCD-C) in the diets of COBB-500 cross broiler chickens. The effect of the dose on hematological parameters in the age aspect was determined. It was found that the dose of 40 g/100 kg of compound feed proved to be positive, significantly increasing the content of erythrocytes by 21.4% compared with intact individuals of the control group and hemoglobin by 8.4%.
Keywords: broiler chickens, protein feed additive, hematology

При изучении любых добавок, используемых в кормлении животных и птицы, гематологические показатели являются определяющими, поскольку они характеризуют физиологическое состояние организма в определенный период. Получать животноводческую продукцию хорошего качества можно только от здоровых животных. Особенно это важно при изучении кормовых добавок применяемых в рационах животных и птицы, мясо, которых в последующем будет использоваться в питании людей. В нашем случае, это белково-кормовая добавка, вводимая в рационы бройлеров.

Эксперимент был выполнен на гибридной птице бройлерного кросса, отличающейся скороспелостью и выращиваемой на мясо за короткий

промежуток времени. Такая птица характеризуется высокой степенью роста при низких затратах кормов и хорошими мясными качествами [1,с. 16; 2, с. 28; 3, с.40; 9, с.39]. Наиболее популярной в нашей стране является быстро растущая порода кросса КОББ-500, способная в течение двух месяцев, набрать массу до 2,5 кг. Порода не требовательна в уходе, имеет хороший иммунитет, высокую выживаемость. Для получения высоких приростов живой массы птицы в короткие сроки, необходима сбалансированность рационов по всем питательным веществам, обогащение минералами и витаминам. Для этого в рационы бройлеров необходимо дополнительно вводить корма белкового происхождения. В производственных условиях для этого обычно используется рыбная мука, но поскольку себестоимость ее достаточно высока, то в настоящее время изыскиваются более дешевые заменители.

На Рязанском кожевенном заводе АО «Русская кожа» из отходов кожевенного сырья получена белково - кормовая добавка светлая «БКД-С», не подвергнутая хромовому дублению [5, с. 86; 6, с. 23; 7, с.20; 8, с. 22]. В добавке содержится большое количество белков и незаменимых аминокислот. Испытания этой добавки были проведены в федеральном научном центре "Всероссийском научно-исследовательском и технологическом институте птицеводства" на бройлерах. Было установлено, что использование добавки в количестве 200 г/т, оказало положительный эффект на рост и развитие цыплят, подтвержденный приростом живой массы [4, с. 22; 7, с. 20].

Наша работа выполнялась в осеннее - зимний период в условиях вивария ФГБОУ ВО РГАТУ имени П.А. Костычева. Для этого были приобретены яйца родительского поголовья породы кросса КОББ-500 в количестве 50-ти штук, которые были помещены в инкубатор автоматический на 50 яиц марки Rcom 50 MAX на период инкубации. После появления на свет, цыплят разместили в брудеры по группам, с автоматическими терморегуляторами, в которых они содержались до 4 недельного возраста, затем были помещены в загоны по группам, для напольного содержания. Рационы кормления соответствовали нормативным показателям. Цыплята имели свободный доступ к кормам и воде. Было сформировано 4 группы: контрольная и три опытные по 12 голов в каждой. Забор крови осуществляли через каждые 10 суток, начиная с 10 дневного возраста из подкрыльцовой вены в вакуумные пробирки на гематологические исследования (рис.1). Морфологические показатели по определению содержания эритроцитов и лейкоцитов проводили с использованием камеры Горяева. Гемоглобин определяли гемометром по методу Сали. Гематокрит - с использование гематокритной центрифуги.

Ветеринарные обработки птицы проводили своевременно по графику. Следили за поддержанием оптимальных условий содержания птицы: за температурным и влажностным режимом и освещенностью в помещении. Основной рацион (ОР) цыплят-бройлеров был представлен полнорационными комбикормами, соответствующими возрастным особенностям. Это престартерный комбикорм ПК 5-1 П-86, который использовался до 13-дневного возраста, ПК-5-2 П-103 с 14-ти до 27 дней и ПК-6-1 П-45 с 28-дневного возраста

и старше. Рационы содержали питательные вещества, витамины и микроэлементы, которые полностью соответствовали потребностям цыплят в разные возрастные периоды.



Рисунок 1. Забор крови из подкрыльцовой вены у птиц

Белково-кормовая добавка содержала в %: 90,8 сухого вещества; 6,7 жира; 91,0 протеина; 10,4 золы; 2,5 соли. Общая бактериальная обсемененность составляла 2×10 КОЕ/гр.; бактерий рода сальмонелл не было обнаружено; содержание хрома составило 0,35 мг/кг (при допустимой норме 0,5). Все приведенные показатели были ниже допустимых значений. Каждая группа цыплят получала рацион с разным уровнем добавки.

Схема исследований была следующей: Контрольная группа получала ОР к которому добавляли 25 г рыбной муки на 10 кг комбикорма. Опытная группа 1 ОР + 20 г «БКД-С» на 10 кг комбикорма; Опытная группа 2 ОР + 30 г «БКД-С» на 10 кг комбикорма; Опытная группа 3 ОР + 40 г «БКД-С» на 10 кг комбикорма.

Получать продукцию хорошего качества можно только от здоровых животных и птиц, поэтому контролировать физиологическое состояние организма необходимо по гематологическим показателям.

Целью исследований являлось изучение влияния дозы введения кормовой добавки «БКД-С» на гематологические показатели цыплят - бройлеров кросса «КОББ 500» в постнатальный период.

Содержание эритроцитов в возрастном аспекте до 40-х суток приведено в таблице 1.

Таблица 1 – Динамика содержания эритроцитов в крови цыплят-бройлеров, 10^{12}/л, (n=48)

Группа	Возраст в сутках		
	10	20	30
Контрольная	4,10,02	3,210,03	3,180,02
Опытная 1	5,10,02*	4,30,02	3,22*
Опытная 2	5,20,02*	4,0,02*	3,29
Опытная 3	5,40,02	4,0,03*	4,380,04*

Примечание: * - разница с контролем достоверна (P≤0,05).

В возрасте 10 суток содержание эритроцитов у птицы всех групп было на достаточно высоком уровне. При этом за 10-ти дневном периоде в Контроле величина его была ниже, чем в опытных группах: на 23,7 %, чем в Опытной группе 1, на 26,1 %, чем в Опытной группе 2 и на 31,15 % по сравнению с Опытной группой 3. Содержание эритроцитов во всех группах снизилось к 20-ти дневному возрасту в Контроле на 28,97 %, в Опытной группе 1 на 17,97 %, в Опытной группе 2 на 17,83 % и в Опытной группе 3 на 18,81 %. Данная тенденция имела место и на 30 сутки. Содержания эритроцитов на 40-е сутки резко увеличилось во всех группах и особенно в опытных. Разница в опытных группах по сравнению с Контролем была следующей: в Опытной группе 1 на 1,36 % больше, в Опытной группе 2 на 8,17 % и в Опытной 3 на 21,4 %. Данный факт указывает на то, что в раннем возрасте (10 суток) эритропоэз находится в наиболее высокой степени активности. В последующие возрастные периоды эти показатели снижались и максимума достигали в 40-ка дневному возрасту, когда интенсивности эритропоэза значительно усилилась. По-видимому, это было связано с активизацией обменных процессов в организме сформировавшейся птицы. Тем не менее, в опытных группах эти показатели оставались выше по сравнению с контролем, во все возрастные периоды.

Концентрация гемоглобина во все периоды отбора проб крови во всех группах цыплят-бройлеров была на довольно высоком уровне (таблица 2). В возрастном аспекте было отмечено снижение показателя на 20-е и 30-е сутки по сравнению с 10-ми и увеличение на 40-е во всех группах, при достоверной разнице в пользу опытных особей. Показатели в группах распределились следующим образом: в Опытной группе 1они были на 8,4 % выше по сравнению с Контролем, в Опытной группе 2 на 5,9 % и в Опытной группе 3 на 8,4 %.

Таблица 2 – Динамика содержания гемоглобина в крови цыплят-бройлеров, г/л, (n=48)

Группа	Возраст в сутках		
	10	20	30
Контрольная	74,240,4	68,190,3	72,0,4
Опытная 1	74,40,3*	67,80,6	74,90,4*
Опытная 2	78,60,6*	66,60,3*	74,80,5*
Опытная 3	79,20,4*	67,20,5	75,40,6*

Примечание: * - разница с контролем достоверна (P≤0,05).

Динамика содержания лейкоцитов во всех группах экспериментальной птицы (таблица 3), характеризовалась высокими показателями на 10 - е сутки жизни. В последующие периоды возрастного аспекта наблюдалась тенденция к снижению лейкоцитов, при некоторым увеличении к 40-му дню жизни, когда птица достигала наибольшей массы. Однако эти показатели выше были в Опытной группе 3, цыплята которой получали 40 г «БКД-С» на 100 кг комбикорма.

Таблица 3 – Динамика содержания лейкоцитов в крови цыплят-бройлеров, 10^{9}/л, (n=48)

Группа	Возраст в сутках		
	10	20	30
Контрольная	39,20,4	37,40,4	35,60,6
Опытная 1	38,40,4*	37,80,6	35,90,4*
Опытная 2	38,60,6	36,60,3*	35,80,5
Опытная 3	40,40,3*	37,20,5	36,40,6

Примечание: * - разница с контролем достоверна (P≤0,05).

Ведение белкового кормовой добавки в рационы цыплят-бройлеров стимулировало синтез гемоглобина в их организме на всем протяжении онтогенеза. Не выявлено негативного влияния испытуемых доз белково – кормовой добавки на процесс эритропоэза у цыплят-бройлеров во все возрастные периоды. Усиление эритропоэза в 40-ка дневном возрасте, по-видимому, связано с усилением обменных процессов в организме уже сформировавшейся птицы.

У цыплят-бройлеров всех групп в динамике продукции лейкоцитов имело место периодическое понижение, сменяющееся повышением показателей, что, связано с реакцией организма на воздействие биотических факторов, в том числе вакцинной природы.

Таким образом, использование белковой кормовой добавки в рационах цыплят-бройлеров свидетельствует о положительном влиянии ее на усиление обменных процессов в организме птицы, нашедшем отражение в гематологических показателях, что в последующем не может ни отразиться на приросте живой массы цыплят и качестве получаемого от них мяса.

Список источников

1. Агеев, В.И. Применение кормовой добавки из мездры в рационах цыплят-бройлеров /В.И. Агеев, Р.У. Бикташев //Птицеводство. - 1985.- №4. - С.16-18.

2. Борисенко, Л.Е. Кормовые добавки из отходов кожевенного сырья /Л.Е. Борисенко //Комбикормовая промышленность. - 1997. - №1. - С.28- 29.

3. Водолажченко, С. Добавка из отходов кожевенного производства /С. Водолажченко //Комбикорма. - 2000. - №3. – С. 40.

4. Егоров, И.А. Нетрадиционные корма/ И.А. Егоров // Птицеводство. - 1989. - №5. - С.21-24.

5. Исаева, Н. Нетрадиционные добавки для бройлеров / Н. Исаева, И. Салахбеков // Комбикорма. – 2008. – №6. – С.86-87.

6. Максимюк, Н.Н. Белковые гидролизаты для кормления цыплят- бройлеров/ Н.Н. Максимюк // Зоотехния. - 1998. - №8. – С.23.

7. Мирошина С.Е.Использование белково-кормовой добавки «БКД-С» В рационах цыплят бройлеров кросса «Смена-7»/С.Е. Мирошина, Л.Г. Каширина// Вестник ФГБОУ ВПО РГАТУ.-2011.- № 4 (12). - С. 19-22.

8. Бабаева, В.Р. Влияние технологий содержания кур-несушек на физиологические показатели и прирост живой массы птицы /В. Р. Бабаева, Л. И. Кодряну, Н. А. Косицин, Л.Г. Каширина // Научно-практические достижения молодых учёных как основа развития АПК: Материалы Всероссийской студенческой научно-практической конференции, Рязань, 05 марта 2019 года. – Рязань: Рязанский государственный агротехнологический университет им. П.А. Костычева . - 2019. – С. 21-26.

9. Римская, И. А. Влияние технологий содержания кур-несушек на качество, ветеринарно-санитарные и дегустационные показатели яиц /И. А. Римская, В. В. Кузнеченкова, Л.Г. Каширина//Вестник Совета молодых ученых Рязанского государственного агротехнологического университета имени П.А. Костычева. – 2019. – № 2(9). – С. 38-42.

©Чинова Е. А., Каширина Л. Г., 2024

Научная статья
УДК 619:616.9: 615.371:579.62: 636.03

Российские ветеринарные вакцины для профилактики сальмонеллеза

Виктория Александровна Чупинина, Наталья Валентиновна Кичемазова, Ольга Сергеевна Ларионова, Валентина Анатольевна Федорова
Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии инженерии имени Н.И. Вавилова, г. Саратов

Аннотация. В обзоре перечислены основные возбудители сальмонеллезной инфекции сельскохозяйственных животных и птиц, приведены вакцины для профилактики этого заболевания, применяющиеся на территории РФ.
Ключевые слова: сальмонеллез, сельскохозяйственные животные и птицы, вакцины, серовары, профилактика, иммунитет

Russian veterinary vaccines for the prevention of salmonellosis

Victoria Alexandrovna Chupinina, Natalya Valentinovna Kichemazova, Olga Sergeevna Larionova, Valentina Anatolyevna Feodorova
Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, Saratov

Abstract. The main causative agents of salmonella infection in farm animals and birds are reviewed. The vaccines currently available for the prevention of this disease in the territory of the Russian Federation are also listed.
Key words: salmonellosis, farm animals and poultry, vaccines, serovars, prevention, immunity

Сальмонеллез – инфекционное заболевание животных и человека, вызываемое бактериями рода *Salmonella*, протекающее с поражением желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), представляющее опасность селекцией штаммов с генами лекарственной устойчивости [7]. *Salmonella spp*. признаны основными зоонозными патогенами, имеющими экономическое значение для животных и человека. Инфекция, вызываемая этими бактериями, является одним из наиболее часто регистрируемых заболеваний пищевого происхождения во всем мире [13]. По оценке ВГНКИ, ежегодный ущерб от заболевания в мире оценивается в 1-3 млрд. долларов. По данным Роспотребнадзора ущерб от инфекционных болезней, в том числе и сальмонеллеза, достигает не менее 470 млрд. рублей в год в РФ [13]. По данным ВОЗ ежегодно в мире регистрируется около 94 млн. случаев сальмонеллеза у людей, из которых 155 тыс. сопровождаются летальным исходом [5, 13]. Сальмонеллы обладают хорошей адаптивной способностью, что позволяет им быстро приспосабливаться к изменениям окружающей среды. Кроме того, в связи с опасностью заражения сальмонеллезом человека от

больных животных, в том числе, вследствие употребления контаминированных возбудителем продуктов животноводства, заболевание представляет собой серьезную ветеринарную и медико-биологическую проблему. Согласно данным Министерства сельского хозяйства РФ по заболеваемости сельскохозяйственных животных (СХЖ) в хозяйствах РФ за 2018-2020 гг. отмечается эпизоотическая напряженность по сальмонеллезу. Так, доля положительных результатов на сальмонеллез варьировала от 1,47 % в биологическом материале мелкого рогатого скота и до 65,82 % – у птицы [5, 13].

Согласно современной номенклатуре, род *Salmonella* включает два основных вида [2, 15, 17]: *S. enterica* и *S. bongori*. Различают более 2500 сероваров сальмонелл, относящихся к первому виду. Однако лишь несколько из них способны вызывать инфекции у различных видов животных и человека. Условно их можно разделить на три группы. Сальмонеллы, относящиеся к сероварам первой группы, адаптированы к инфицированию человека и высших приматов: *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhi, S. enterica subsp. enterica* serovar *Paratyphi, S. enterica subsp. enterica* serovar *Sendai* (*S. Typhi, S. Paratyphi, S. Sendai)*. Штаммы, включенные во вторую группу, в значительной степени адаптированы к конкретным животным-хозяевам: *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Dublin* (*S. Dublin*) – КРС, *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Gallinarum* (S. *Gallinarum*) – домашней птице, *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Abortusequi* (*S. Abortusequi*) – лошади, *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Abortusovis* (S. *Abortusovis*) – овце и *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Choleraesuis* (S. *Choleraesuis*) – свинье. Серовары сальмонелл, относящиеся к третьей группе, способны вызывать инфекции у широкого круга хозяев, включая людей, животных, а также повсеместно распространены в окружающей среде: *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium* и *S. enterica subsp. enterica* serovar *Enteritidis* (*S. Typhimurium* и *S. Enteritidis*). Важно, что отдельные серотипы вызывают заболевания только одного вида животных, однако, многие из них способны вызывать заболевание и у других видов животных и человека.

Для специфической профилактики сальмонеллеза в РФ и за рубежом используют живые и инактивированные вакцины. В РФ против сальмонеллеза СХЖ применяют преимущественно инактивированные моно- и поливалентные вакцины, которые, несмотря на сравнительно низкую иммуногенность по сравнению с живыми вакцинами, могут быть использованы для профилактики заболевания у животных и птиц даже на фоне иммуносупрессии. Это исключает риск развития поствакцинальных осложнений, связанных с потенциальной реверсией вирулентности живых аттенуированных штаммов патогенов, используемых в качестве основы живых вакцин, что, при определенных условиях, может привести к заболеванию поголовья. Преимущества моновалентных вакцин заключаются в возможности индукции иммунного ответа на один конкретный серовар сальмонелл [4, 7, 10]. Поливалентные вакцины против сальмонеллеза обеспечивают иммунитет одновременно против нескольких сероваринтов возбудителя, характерных для определенного вида восприимчивых животных. Ассоциированные вакцины состоят из нескольких

антигенов, синтезируемых различными бактериальными патогенами. Применение таких вакцин обеспечивает иммунитет против нескольких инфекций одновременно [10, 11].

Вакцины против сальмонеллеза также различают по способу их введения: парентеральные и пероральные. Первый способ вакцинации наиболее распространен и пригоден для введения СХЖ большинства инактивированных и живых вакцин. Самым распространенным методом вакцинации сельскохозяйственной птицы против сальмонеллеза является пероральная иммунизация посредством выпаивания [11].

Об успешном применении вакцин против сальмонеллеза свидетельствуют данные об устойчивом снижении уровня заболеваемости в нашей стране – примерно в 4,7 раза за 30 лет [13].

Сальмонеллез КРС вызывают серовары *S. Dublin, S. Typhimurium*, реже *S. Enteritidis*. Живые вакцины вводят молодняку для стимуляции иммунного ответа до первичного контакта с возбудителем с целью предотвращения развития клинических признаков болезни и профилактики бактерионосительства. Установлено, что защиту от инфицирования сальмонеллами в преимуществе обеспечивает клеточный иммунитет [3, 17]. Наиболее часто применяемым средством профилактики сальмонеллеза молодняка в неблагополучных по сальмонеллезу хозяйствах является вакцинация коров на последних сроках стельности. Применяемые в нашей стране инактивированные моно- и поливакцины, ассоциированные инактивированные, живые аттенуированные вакцины способны индуцировать иммунитет у животных со средней продолжительностью не менее 6 месяцев [18, 19, 29, 32, 33, 34, 41].

Возбудителями сальмонеллеза свиней являются серовары *S. Choleraesuis, S. Typhisuis,* реже *S. Typhimurium, S. Dublin*. Для формирования активного иммунитета на свиноводческих фермах применяют в основном инактивированные ассоциированные поливакцины на основе штаммов и корпускулярных антигенов возбудителей, а также живые аттенуированные вакцины, обеспечивающие индукцию иммунитета против сальмонеллеза у поголовья свиней в среднем в течение полугода [20-25, 35-40].

Для специфической профилактики сальмонеллеза лошадей ГНУ «Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства Сибирского отделения Россельхозакадемии» рекомендует применять инактивированную моновакцину против сальмонеллезного аборта лошадей, введение которой стимулирует иммунобиологическую реактивность у иммунизированных животных. В результате повышается показатель воспроизводства лошадей до 38,0 % [27]. Кроме того, против сальмонеллеза лошадей, производится инактивированная бивалентная вакцина «EQUISALM». Применение перечисленных вакцин способствует формированию иммунитета у лошадей продолжительностью не менее 7 месяцев [28].

Опасность заражения человека через употребление мяса птицы и яйца делает вопрос вакцинопрофилактики сальмонеллеза у птиц особенно важным. Болеют

преимущественно цыплята, а также взрослые куры, особенно в период яйцекладки [1]. Сельскохозяйственная птица чаще всего является источником *S. Enteritidis, S. Typhimurium, S. Galinarum, S. Pullorum.* Так, *S. Typhimurium* вызывает сальмонеллез у водоплавающей птицы, *S. Galinarum-pullorum* - пуллороз-тиф кур, индеек, перепелов, фазанов и цесарок. *S. Enteritidis* выделяется из организма инфицированных кур, реже – от индеек, гусят и др. [14]. На птицеводческих фабриках и хозяйствах успешно применяют инактивированные вакцины против сальмонеллеза. Тем не менее, применение живых вакцин против сальмонеллеза птиц считается наиболее эффективным, поскольку такие препараты обеспечивают защиту у молодняка птицы с первых дней жизни, активируя не только гуморальный, но и клеточный иммунитет [6]. Для лечения и специфической профилактики сальмонеллеза кур применяют живую вакцину «Сальмофаг энтеритидис» из фагоустойчивых штаммов *S. Enteritidis* R-6 и *S. Typhimurium* K-5, и фаголизат культур *S. Enteritidis*, *S. Gallinarum-pullorum*, *S. Typhimurium*. При этом фаговые компоненты вакцины начинают проявлять специфическое лизирующее действие к патогенным сероварам сальмонелл непосредственно после введения препарата [11]. Иммунитет у птиц после введения перечисленных вакцин сохраняется не менее 12 месяцев [11, 12, 29, 31, 32].

Таким образом, для поддержания эпизоотического благополучия по сальмонеллезу у поголовья СХЖ и птицы, а также получения безопасной животноводческой продукции, крайне важным является применение препаратов для специфической профилактики сальмонеллеза в виде инактивированных и живых вакцин, которые позволяют добиться напряженного иммунитета в поголовье для предупреждения заболеваемости животных и птиц, что, в свою очередь, является одним из определяющих факторов дальнейшего благополучия здоровья населения при употреблении продуктов животноводства. Наряду с этим, необходимо также своевременное соблюдение ветеринарно-санитарных и профилактических мероприятий как на животноводческих и птицеводческих комплексах, так и на предприятиях по их переработке.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 22-16-00165.

Список источников

1. Ахтямзянова А.В., Дроздова Л.И., Никитин А.П. Паратиф (сальмонеллез) птицы // Болезни птиц: сборник статей. Екатеринбург: Уральский государственный аграрный университет, 2020. С. 146-147.
2. Байсарова З.Т. Сальмонеллы: классификация, антигенная структура и факторы патогенности // Вестник Медицинского института, 2021. Т. 1, № 19. С. 88-92.
3. Глотов А.Г., Глотова Т.И. Сальмонеллез крупного рогатого скота на молочных комплексах (Обзор. Часть 1) // Ветеринария, 2020. № 2. С. 3-7.
4. Донченко А.С., Неустроев М.П., Тарабукина Н.П. Ветеринарное обеспечение табунного коневодства: проблемы и пути решения //Сибирский вестник сельскохозяйственной науки, 2023. Т.53. Ч.6. С. 43-50.

5. Козак С.С. Заболеваемость сельскохозяйственных животных и птицы сальмонеллезом / С. С. Козак, Е. С. Баранович, Ю. А. Козак // Тимирязевский биологический журнал. 2023. № 3. С. 71-77.
6. Кузьмин В.А. Сальмонеллезная инфекция в условиях птицефабрик, методы профилактики и оздоровления: автореф. дис. … канд. ветер. наук. СПб., 1995. 31 с.
7. Липакова С.В., Черкасова В.Л., Коршунова Н.И. Сальмонеллез и его профилактика // Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации: Сборник материалов X Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Электрогорск; Орехово-Зуево, 2023. С. 85-86.
8. Литусов Н.В. Противобактериальные вакцины, сыворотки и иммуноглобулины. Учебное электронное пособие. Екатеринбург: Издво УГМУ, 2020. 124 с.
9. Мельников В.Л., Митрофанова Н.Н. Вакцины, вакцинопрофилактика: учеб. пособие. Пенза: Изд-во ПГУ,2015. 76 с.
10. Обласова А. Справочник по вакцинам Delta-V/ Санкт-Петербург: АНО «Коллективный иммунитет», 2023. 34 с.
11. Пименов Н.В. Сальмонеллез птиц: перспективные направления в лечебно-оздоровительных мероприятиях // Ветеринария и кормление. 2010. № 3. С. 24–25.
12. Рождественская Т.Н. Специфическая профилактика *Salmonella Enteritidis* – инфекции птиц // Научно-производственное предприятие «Авивак» – 20 лет на службе птицеводства России. 2010. С. 93-96.
13. Роспотребнадзор: заболеваемость сальмонеллёзом в РФ за 30 лет сократилась в 4,7 раза // Роспотребназдзор. ру URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=26570&sphrase_id=5229366
14. Степонавичус В.Ю. Сальмонеллез сельскохозяйственных птиц как причина пищевых токсикоинфекций// Сборник трудов Международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов. Тюмень, 2022. Т.1. С. 386-395.
15. Dione M.M., Ikumapayi U.N., Saha D., Mohammed N.I., Geerts S., Ieven M., et al. Clonal differences between non-typhoidal Salmonella (NTS) recovered from children and animals living in close contact in the Gambia// PLoS Neglected tropical Diseases, 2011. V. 5, N. 5, e1148.
16. Pimenov N. V., Laishevtcev A. I., Kolesnikova Y. N. Prophylaxis of salmonellosis of farm animals and poultry: the main directions and means //Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences, 2016. V.60. N12. P. 247-254.
17. Popoff M.Y. WHO Collaborating Center for Reference Research on Salmonella: Antigenic Formulas of the Salmonella Serovars. Paris: Pasteur Institute, 1997. P. 56-87.
18. https://www.vidal.ru/veterinar/vaccine-okz-27922
19. https://www.pettown.ru/catalog/veterinarnaya-apteka/vaktsiny-syvorotki-immunoglobuliny/vaktsina-protiv-kolibakterioza-salmonellyeza-klebsiellyeza-i-proteynoy-infektsii-assotsiirovannaya-i/
20. https://www.stavbio.ru/products/suigard/
21. https://www.vetlek.ru/shop/?gid=38583&id=7178]/
22. https://new.uralbiovet.ru/vaktsina-protiv-sal-monelleza-pasterelleza-i-streptokokkoza-porosyat-verres-sps/

23. https://armbio.bio/catalog/veterinary/inactivated_vaccines/salmonellosis_piglets
24. https://www.vidal.ru/veterinar/vaccine-28122
25. https://www.vidal.ru/veterinar/vaktsina-protiv-salmonelleza-svinei-zhivaya-sukhaya-30295
26. https://www.vidal.ru/veterinar/vaktsina-zhivaya-sukhaya-protiv-salmonelleza-paratifa-svinei-iz-shtamma-ts-177-30331
27. https://vetsnab.info/vetpreparaty/vakczina-protiv-salmonelleznogo-aborta-loshadej-inaktivirovannaya/
28. https://antigen.kz/kk/node/26
29. https://www.stavbio.ru/products/salmonellez/
30. https://new.uralbiovet.ru/avipro-salmonella-duo/
31. https://www.vidal.ru/veterinar/salmokron-28170
32. https://www.pettown.ru/catalog/veterinarnaya-apteka/vaktsiny-syvorotki-immunoglobuliny/vaktsina-virosalm-ot-salmonelleza-nyukasla-golubey-assotsiirovannaya-inakt-20-doz-1flakon-10ml/
33. https://new.uralbiovet.ru/vakcina-protiv-salmonelleza-paratifa-telyat-formolkvascovaya/
34. https://www.vettorg.ru/catalog/item-635.html
35. https://www.stavbio.ru/products/suigard/https://chelzvs.ru/produkt/vaccine/vaccine_2444.html
36. https://www.stavbio.ru/products/suigard/ https://chelzvs.ru/produkt/vaccine/vaccine_2444.html
37. https://armbio.bio/catalog/veterinary/inactivated_vaccines/salmonellosis_pasteurellosis_streptococcosis_piglets
38. https://www.vettorg.ru/catalog/item-638.html
39. https://www.vettorg.ru/catalog/item-576.html
40. https://biocombinat.ru/catalog/10/82/
41. https://antigen.kz/ru/produkciya/zdorovje-zhivotnyh/vakcina-bovisalmr-bivalentnaya-inaktivirovannaya-protiv-salmonellyoza

© Чупинина В.А., Кичемазова Н. В., Ларионова О. С., Федорова В. А., 2024

Научная статья
УДК 582.912.42:631.53.031

Выбор азотного удобрения используемого для подкормки сеянцев рододендрона японского (*Rhododendron japonicum* (A. Gray) suring.), с целью оптимизации кислотности субстрата на основе перегнивающей по типу белой гнили древесины березы.

Сергей Валерьевич Шевчук
Ботанический Институт им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия,
shevchuksv62@rambler.ru

Аннотация. Принципиальная возможность использования перегнивающей древесины березы вместо верхового торфа для выращивания рододендрона японского (*Rhododendron japonicum* (A.Gray) Suring.) уже представлена в предыдущих работах.

Однако, в дальнейшем оказалось, что кислотность образцов перегнивающей по типу белой гнили древесины березы, может иметь весьма различные показатели кислотности pH. Причем, порой некоторые образцы способны создавать даже не нейтральную, а щелочную среду прикорневого раствора, что весьма угнетающе действует на растения из рода Рододендрон. Поэтому, помимо обязательного мониторинга за кислотностью конкретного образца перегнивающей по типу белой гнили древесины березы, следует искать оптимальные способы корректировки этого важного показателя.

В настоящих исследованиях рассматривается принципиальная возможность корректировки кислотности субстрата с помощью сульфата аммония, как наиболее физиологически кислого из распространенных азотных удобрений в процессе подкормки посевов рододендрона японского. Для усиления подкисляющего действия в начальный период была произведена проверка целесообразности дополнительно добавки лимонной кислоты.

Применение сульфата аммония в качестве подкормок выявил однозначную положительную эффективность этого удобрения. Дополнительная добавка лимонной кислоты оказалась не только нецелесообразной, но даже нежелательной.

Ключевые слова: рододендрон, контейнер, субстрат

Selection of nitrogen fertilizer used for feeding seedlings of Japanese rhododendron (*Rhododendron japonicum* (A. Gray) suring.), in order to optimize the acidity of the substrate based on birch wood rotting like white rot

Shevchuk S. V.
Komarov Botanical Institute of RAS, St. Petersburg, Russia

Abstract. The fundamental possibility of using rotting birch wood instead of high-moor peat for growing Rhododendron japonicum (A.Gray) Suring. has already been presented in previous works.

However, it later turned out that the acidity of samples of birch wood rotting like white rot could have very different pH values. Moreover, sometimes some samples are capable of creating not even a neutral, but an alkaline environment of the root solution, which has a very depressing effect on plants from the Rhododendron genus. Therefore, in addition to mandatory monitoring of the acidity of a specific sample of birch wood rotting like white rot, one should look for optimal ways to adjust this important indicator.

This research examines the fundamental possibility of adjusting the acidity of the substrate using ammonium sulfate, as the most physiologically acidic of the common nitrogen fertilizers in the process of feeding Rhododendron japanicum crops. To enhance the acidifying effect in the initial period, the feasibility of additionally adding citric acid was checked.

The use of ammonium sulfate as a fertilizer has revealed the clear positive effectiveness of this fertilizer. The additional addition of citric acid turned out to be not only impractical, but even undesirable.

Key words: rhododendron, container, substrate

В предыдущих работах было выявлено, что использование перегнивающей древесины березы (спонтанный гибрид *Betula pubescens* Ehrh. x *B. pendula* Roth.) вполне перспективно для приготовления субстрата при выращивании сеянцев рододендрона японского (*Rhododendron japonicum* (A. Gray) Suring.) (Шевчук, 2015, 2016).

Таким образом, принципиально было установлено, что субстрат на основе перегнивающей древесины может быть в ряде случаев альтернативой торфу при выращивании посадочного материала рододендронов. Это поможет, в случае возникновения проблем с закупкой и доставкой верхового торфа перейти на данный альтернативный вид сырья.

Но в дальнейшем оказалось, что перегнивающая древесина березы имеет различную кислотность, в зависимости от видов грибов участвующих в ее разрушении, а значит и разную степень пригодности в качестве субстрата. Так перегнивающая древесина березы с признаками белой гнили часто имеет кислотность не соответствующую оптимальным границам. Причем, порой некоторые образцы способны создавать даже не нейтральную, а щелочную среду прикорневого раствора, а это весьма угнетающе действует на растения из рода Рододендрон. При этом, следует отметить, что при процессе гниения древесины березы, когда разрушается целлюлоза и остается лигнин (бурая гниль) субстрат по наблюдениям получался всегда в достаточной мере кислый. Не наблюдалось случая, когда образец с признаками бурой гнили имел кислотность, выходящую за пределы оптимальных границ.

В прошлых работах исследовалась возможность добавки в субстрат кислого опада хвои сосны обыкновенной в случае использования в качестве субстрата перегнивающей древесины березы с признаками белой гнили (Шевчук, 2022), но это не привело к положительному результату. В дальнейшем также рассматривалась возможность смешения древесин березы с признаками белой и бурой гнили вместе (Шевчук, 2023). Однако ни в каком соотношении это, и в этом случае также, не привело к положительным конечным результатам.

В связи с этим следующим шагом в поиске путей приведения кислотности субстрата на основе древесины березы с признаками белой гнили, было решено проверить для этих целей сульфат аммония. Обоснованием такого выбора является то, что сульфат аммония является наиболее физиологически кислым удобрением, применяемым в сельском хозяйстве. При этом сульфат аммония, являясь солью сильной кислоты и слабого основания, с самого начала имеет pH в водном растворе меньше 7. Использование с этой целью карбамида в качестве подкормок заведомо неперспективно, так как, с одной стороны pH его раствора изначально равно 7, но вскоре в результате преобразования в карбонат аммония она еще больше увеличивается, приближаясь к 8. Только в дальнейшем, в результате микробиологической деятельности с образованием азотной кислоты pH будет снижаться и приближаться к более оптимальным. Но в промежуток времени, когда корневая система прорастающих рододендронов будет находится в условиях щелочной среды, она может получить необратимые повреждения. О том, что некоторое отклонение в сторону кислой реакции растения переносят лучше, чем щелочность раствора известно уже давно (Прянишников, 1940). И с этим лично мне уже приходилось уже приходилось сталкиваться в своей практике при выращивании сеянцев рододендрона на ранней стадии их развития. Визуально это проявляется в том, что прорастающие сеянцы вскоре вываливаются из субстрата, по причине отсутствия развития нормальной корневой системы. Это явление также отмечает известный белорусский специалист по рододендронам Иван Ефимович Ботяновский. Он отметает, что при поливе сеянцев рододендрона жесткой водой (pH 7 и выше) отмирают молодые корни, а затем погибает и растение (Ботяновский, 2007). Следует отметить, что в случае традиционно используемого кислого торфа или перегнивающей древесины березы с признаками бурой гнили использование карбамида не представляет в этом отношении опасности, так как прикорневая среда все равно всегда останется кислой. Перегнивающая древесина березы с признаками белой гнили, как показали многие предыдущие исследования, напомним, изначально часто имеет слабощелочные свойства. Сам же карбамид в случае отсутствия противопоказаний в его применении является идеальным для внекорневой подкормки, так как не обжигает листья у растений, даже при относительно высокой концентрации в водном растворе. Использование в планируемых опытных работах нитрата аммония также не рационально. Это удобрение, хотя и является физиологически кислым, но его подкисляющее действие существенно ниже, чем сульфата аммония. При этом срочная кислотность на момент приготовления 0,1 % раствора с использованием местной

водопроводной (достаточно мягкой) местной воды у сульфата аммония и нитрата аммония практически одинаковы. Так, при использовании сульфата аммония pH подкармливающего раствора оказался близким к 6,7, а, соответственно, при использовании нитрата аммония этот показатель был близок к 6,6. Так, что даже на начальной стадии преимущества в подкисляющих свойствах у нитрата аммония перед сульфатом аммония нет. Остальные известные азотные удобрения, где катионами являются натрий, калий и кальций являются уже физиологически щелочными и тем самым также исключались из планируемого эксперимента.

Далее, было интересно рассмотреть вариант с дополнительным подкислением 0,1 % раствора сульфата аммония применяемого при подкормке. Это позволило бы уже иметь подкормочный раствор, имеющий оптимальный для сеянцев рододендрона pH. Использование в этом качестве раствора серной кислоты не очень перспективно, так как работа с этим достаточно опасным и агрессивным веществом без строгого соблюдения всех требований техники безопасности может привести к ожогам и травмам. В литературе по агротехнике выращивания рододендронов часто рекомендуются значительно более безопасные, чем серная кислота ряд органических кислот. Так известный белорусский специалист в этой области Иван Казимирович Володько рекомендовал, в случае необходимости, для поддержания необходимого уровня кислотности почвы, полить 3-4 раза в течение сезона посадки рододендронов водой подкисленной, например, лимонной кислотой (3-4 г. на 10 л. воды). Такая добавка к сульфату аммония лимонной кислоты не требует строгого соблюдения техники безопасности и, что не маловажно, доступна и относительно недорога.

Именно проверка этого легла в основу небольшого эксперимента в 2024 году. При этом была поставлена основная цель: выяснить принципиальную и эффективность использования в качестве подкормки физиологически кислого удобрения сульфата аммония с целью приведения в норму кислотности субстрата на основе перегнивающей древесины березы с признаками белой гнили, имеющего недопустимо высокий показатель кислотности pH. Дополнительно, рассматривалась целесообразность добавки при подкормке, помимо сульфата аммония, также лимонной кислоты, как средства приведения в норму кислотности субстрата с самого начала проведения опыта.

При этом были поставлены отдельные задачи для этих двух вариантов опытад:

1. Установить динамику прорастания семян и дальнейшей сохранности живых проростков сеянцев рододендрона японского;
2. Выявить интенсивность роста сеянцев в вариантах опыта;
3. Оценить внешнее состояние сеянцев на наличие хлороза листьев;
4. Выявить кислотность субстрата в конце опыта

Методика опытов была следующей:

В процессе поиска была обнаружен образец перегнивающей древесины березы (спонтанный гибрид Betula pubescens Ehrh. x B. pendula Roth.): с

признаками белой гнили, имевший показатель кислотности $pH_{(H2O)}$ равный 7,2 что говорит о слабо щелочных свойствах.

Для опытных работ было решено выращивать сеянцы в малообъемном контейнере с объемом ячейки 6 $см^3$. Семена высевались поштучно в каждую ячейку (по 25 ячеек на один вариант). Срок посева 5 декабря 2023 г. Посев осуществлялся поверхностным с мульчированием тонкого слоя песка через 2 недели.

Субстрат готовился одинакового состава для всех вариантов. На 10 л. перегнивающей древесины березы добавлялось 20 г. комплексного удобрения «Растворин, марки «А»» и 2 г. сульфата железа (железо не заявлено производителем в используемом комплексном удобрении) и 1 л. песка.

Посевы в контейнерах малого объема были размещены в условиях субтропической оранжереи в дополнительном культивационном сооружении, покрытом стеклом. На высоте 10 см от поверхности была установлена дополнительная подсветка из 2-х ламп ЛБ-40, автоматически отключаемых в ночное время.

Подкорка осуществлялась один раз в неделю подкисляющим азот содержащим раствором в количестве 1 $см^3$ на ячейку контейнера. В зависимости от подкормочного раствора выделялись варианты:

Вариант 1 – использовался только 0,1 % сульфат аммония;

Вариант 2 – использовалась смесь (1:1) 0,1 % сульфат аммония и 0,1 % лимонной кислоты.

Кислотность образцов перегнивающей древесины березы и субстрата определялась по методу Е. В. Аринушкиной (Аринушкина, 1962).

По мере роста проводились наблюдения за динамикой прорастания семян и сохранностью проростков, а также проводились замеры биометрических показателей сеянцев, и анализировалось их состояние на наличие хлороза листьев.

Окончательное снятие результатов опыта производилось 5 марта 2024 г. Определение средних значений биометрических показателей определялось с использованием алгоритмов Н. А. Плохинского (Плохинский, 1967).

Следует отметить, что прорастание во всех вариантах было довольно протяженным по времени и заняло около трех недель (Табл. 1). Однако, период за который проросло подавляющее количество семян в этих же двух вариантах был коротким и составил около одной недели. Характерно, что после достижения максимума проростков дальнейшего отпада не наблюдалось до окончания опыта. Процент проростков оказался одинаковым вне зависимости от состава подкормочного раствора.

Протяженность периода прорастания семян, скорее всего, было связано с достаточно низкой температурой в субтропической оранжерее на то время не достигающей оптимальных значений. Отсутствие выпада после полного прорастания свидетельствует о достаточно удовлетворительных условиях развития сеянцев и их корневых систем. Дополнительная добавка в

подкормочный раствор лимонной кислоты не увеличила процент живых проростков от числа высеянных семян.

Таблица 1 – Динамика прорастания семян рододендрона японского и сохранность его проростков выращиваемых в субстрате на основе перегнивающей древесины березы с признаками белой гнили, в зависимости от состава подкормочного раствора (посев 05.12.23., объем ячейки 6 $см^3$)

Вариант	Число проростков от высеянных семян,% по датам										
	2023, XII	2024, I					II				III
	25	1	9	15	22	29	5	12	91	26	5
№1 (сульфат аммония)	4	20	32	32	36	36	36	36	36	36	36
№2 (сульфат аммония + лимонная кислота)	0	20	32	32	36	36	36	36	36	36	36

При анализе динамики биометрических показателей сеянцев в различных вариантах, можно выявить хороший темп развития сеянцев при использовании в качестве подкормки сульфата аммония (Табл. 2). Сеянцы с такими биометрическими показателями в конце опыта уже вполне пригодны для перевалки в стандартные контейнеры с объемом 120 $см^3$.

Весьма неожиданно оказалось то, что дополнительная добавка лимонной кислоты не только не улучшила рост сеянцев, но напротив, даже несколько его ухудшила. Это проявляется не только в высоте, но и в меньшем количестве побегов на них, пока, однако без подтверждения статистической достоверностью различия. Возможно, что лимонная кислота, являясь достаточно эффективным биологическим консервантом, угнетающе подействовала на микробиоту субстрата, принимающую участие в биохимических процессах, а также на микоризообразующие грибы. Это свидетельствует о том, что добавка лимонной кислоты не целесообразна.

Таблица 2 - Биометрические показатели сеянцев рододендрона японского выращиваемых в субстрате на основе перегнивающей древесины березы с признаками белой гнили, в зависимости от состава подкормочного раствора (посев 05.12.23., объем ячейки 6 $см^3$)

Вариант	Высота сеянцев по датам, мм		число побегов на сеянце на 5 марта, шт
	21 февраля	5 марта	
№1 (сульфат аммония)	31,1+3,3	42,6+4,6	2,4+0,6
№2 (сульфат аммония + лимонная кислота)	22,4+4,5	29,7+4,4	1,6+0,3

Теперь же обратим внимание на показатели кислотности субстрата и такой важный показатель состояния сеянцев, как хлороз листьев в различных вариантах. Можно отметить, что количество сеянцев с признаками хлороза не превышает 11 %, причем, этот показатель одинаков в рассматриваемых двух вариантах (Табл. 3). Положительно, что кислотность субстрата pH (H_2O) в конце опыта вплотную приблизилась к верхней границе оптимальных значений для рододендронов, составляющих, по мнению латвийского специалиста Р. Я. Кондратовича от 4,5 до 5,5 (Кондратович, 1981). При этом, достаточно большая продолжительность периода с посева до начала прорастания семян, который составил около трех недель, сыграла положительную роль, так как позволила создать удовлетворительную кислотность субстрата на момент развития корневой системы сеянцев.

При этом, не выявлено реального дополнительного подкисляющего эффекта лимонной кислоты. При этом интересно следующее. Если 0,1 % водный раствор сульфата аммония имел кислотность pH – 6,7, то его смесь (1:1) с водным раствором 0.1 % лимонной кислоты имела этот показатель существенно ниже, а именно – 4,5, что гораздо ближе к указанному ранее оптимальному интервалу границ pH для рододендронов. Отсутствие же действенного подкисляющего эффекта в отношении субстрата со стороны лимонной кислоты, возможно, объясняется тем, что она, являясь по своей природе весьма слабой, не смогла преодолеть выраженные буферные свойства богатого органикой субстрата. Это дополнительно свидетельствует о нецелесообразности использования лимонной кислоты для подкисления данного субстрата.

Таблица 3 – Зависимость наличия хлороза у сеянцев рододендрона японского выращиваемых в субстрате на основе перегнивающей древесины березы с признаками белой гнили и кислотности этого субстрата, в зависимости от состава подкормочного раствора (посев 05.12.23., объем ячейки 6 $см^3$)

Показатели проявления свойств субстрата	Варианты:	
	№1 (сульфат аммония)	№2 (сульфат аммония + лимонная кислота)
Признаки хлороза в вариантах, %	11	11
кислотность $pH_{(H2O)}$	5,6	5,5

На основании полученных данных просматривается, основной вывод говорящий о том, что подкормка раствором сульфата аммония способна исправить в итоге на благоприятную для развития сеянцев кислотность субстрата на основе перегнивающей древесины березы с признаками белой гнили изначально имеющего слабощелочную среду.

Добавка же лимонной кислоты к данному субстрату (да, скорее всего, и других органических кислот, которые также являются слабыми) не только не целесообразна, но, скорее всего, нежелательна.

Окончательные технологические рекомендации для их широкого применения сейчас давать еще преждевременно. В агрономической науке поиск оптимального решения не является простым и прямым.

Данные выводы, тем не менее, представляют ценность в том отношении, что в принципе, дают реальные предпосылки унифицировать использование перегнивающей древесины березы при приготовлении субстрата, как с признаками бурой, так и белой гнили. Однако для этого следует провести соответствующие исследовательские работы в будущем.

Список источников

1. Аринушкина Е. В. Руководство по химическому анализу почв.- М., - 1962.- 490 с.
2. Ботяновский И. Е. Рододендроны. – Минск, 2007.- 64 с.
3. Володько И. К., Рупасова Ж. А., Титок В. В. Эколого-биологические основы интродукции рододендронов (Rhododendron L.) в условиях Беларуси. – Минск, 2015.- 269 с.
4. Кондратович Р. Я. Рододендроны – Рига, 1981. – 231 с.
5. Плохинский Н. А. Алгоритмы биометрии – М., 1967.- 80 с.
6. Прянишников Д. Н. Агрохимия – М., 1940. – 644 с.
7. Шевчук С. В. Испытание в качестве субстрата для выращивания сеянцев рододендрона японского (*Rhododendron japonicum* (A. Gray) Suring.) перегнивающей древесины лесных пород// Проблемы изучения растительного покрова Сибири. – Томск, 2015. – С.353-355.

8. Шевчук С. В. Испытание в качестве субстрата для выращивания контейнеризированных сеянцев рододендронов перегнивающей древесины лесных пород// Цветоводство: История, теория, практика = Floriculture: history, theory, practice. – Минск, 2016. – С 383-384.
9. Шевчук С. В. Выявление целесообразности внесения хвои сосны обыкновенной при приготовлении субстрата на основе перегнивающей древесины березы для выращивания сеянцев рододендрона японского (*Rhododendron japonicum* (A. Gray) Suring.).// сборник «Научные труды Чебоксарского филиала Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН» / Под общ. редакцией К. В. Самохвалова – Чебоксары, 2022. – Вып. 18. – С. 84-87.
10. Шевчук С. В. Существенное различие кислотности у образцов перегнивающей по типу разрушения лигнина древесины березы (белая гниль) как проблема при ее использовании в качестве основы субстрата для выращивания сеянцев рододендрона японского (*Rhododendron japonicum* (A. Gray) Suring.)// Научные труды Чебоксарского филиала Главного ботанического сада им. Н. В. Цицина РАН, Выпуск №19. – Чебоксары, 2023. – С. 73-77.

Статья написана в соответствии с темой НИР отдела Ботанический сад Петра Великого на 2024-2028 гг.: «История создания, состояние, потенциал развития живых коллекций растений Ботанического сада Петра Великого БИН РАН».

© Шевчук С. В., 2024

Научная статья
УДК 579:63311:658.58:577.114

Изучение развития проростков яровой и озимой пшеницы при обработке семян экзополисахаридом *Xanthomonas campestris*

Арина Александровна Шьюрова[1], Светлана Витальевна Лящева[2], Лидия Владимировна Карпунина[1], Анна Владимировна Мельникова[1], Гульнара Адиятовна Бекетова[2]
[1]Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова, г. Саратов
[2]Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока, г. Саратов

Аннотация. Изучали влияние экзополисахарида (ЭПС) *Xanthomonas campestris* В–610/1 в виде пленочного покрытия семян на рост и развитие проростков яровой мягкой (Саратовская 68 и Саратовская 70) и озимой мягкой пшеницы (Анастасия и Жемчужина Поволжья). Определяли длину проростков и корешков обработанных и не обработанных ЭПС семян. Было установлено положительное влияние ЭПС на ранних этапах развития растений, что выражалось в увеличении длины ростка и максимальной длины корня. Наиболее отзывчивыми оказались сорта озимой пшеницы (Анастасия, Жемчужина Поволжья) и сорт яровой пшеницы Саратовская 68.

Ключевые слова: полисахарид, пленочное покрытие, бактерии, *Xanthomonas campestris,* пшеница

Study of the development of spring and winter wheat seedlings when seeds are treated with *Xanthomonas campestris* exopolysaccharide

Arina A. Shyurova[1], Svetlana V. Lyashcheva[2], Lidia V. Karpunina[1], Anna V. Melnikova[1], Gulnara A. Beketova[2]
[1]Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, Saratov
[2]Federal Agrarian Research Center of the South-East, Saratov

Abstract. We studied the effect of exopolysaccharide (EPS) *Xanthomonas campestris* B-610/1 in the form of a film coating of seeds on the growth and development of seedlings of spring soft wheat (Saratovskaya 68 and Saratovskaya 70) and winter soft wheat (Anastasia and Zhemchuzhina Povolzhye). The length of seedlings and roots of seeds treated and not treated with EPS was determined.
A positive effect of EPS was established in the early stages of plant development, which was expressed in an increase in sprout length and maximum root length. The most responsive varieties turned out to be winter wheat varieties (Anastasia, Zhemchuzhina Povolzhye) and spring wheat variety Saratovskaya 68.

Key words: polysaccharide, film coating, bacteria, *Xanthomonas campestris*,wheat

Введение. Экзополисахариды микроорганизмов в последние годы находят все большее применение в различных областях народного хозяйства. Их уникальные способности к загущению, эмульгированию, студнеобразованию, а также антиоксидантные свойства и умение подавлять некоторых вредителей и болезни растений в последнее время всё больше привлекают внимание различных исследователей [1]. Включение полисахаридов в биопрепараты для сельскохозяйственных растений помогает обработанным семенам на ранних стадиях онтогенеза, как в роли дополнительного запаса энергии, так и как влагоудерживающая пленка, что, как следствие, инициирует более раннюю фотосинтетическую активность проростков укорачивая цикл созревания урожая [2, 3]. При этом, не каждая форма использования препаратов на основе ЭПС одинаково эффективна. Так, было установлено, что жидкие препараты не редко уступают гельным формам по ряду показателей [2, 4]. Покрытие семян воздухо- и водорегулирующей пленкой способствует повышению устойчивости растений к стрессам и фитопатогенам в ранних фазах онтогенеза, а также защищает интродуцируемые и аборигенные почвенные микроорганизмы от повреждающего действия экстремальных факторов (температуры, высушивания, УФ-радиации) [5]. Однако, таких работ в литературе не так много.

Цель работы: оценить влияние ЭПС *X. campestris* B-610/1 в виде пленочного покрытия на рост и развитие проростков яровой и озимой мягкой пшеницы.

Объект и методы исследований. Объектом для исследований явились следующие сорта пшеницы: Саратовская 68, Саратовская 70 (яровая форма) и Анастасия, Жемчужина Поволжья (озимая форма).

Пленочное покрытие на основе бактериального ЭПС *X. campestris* B-610/1 создавали по методу [6]. В результате получали однородный, прозрачный, студнеобразный раствор (гель), который, застывая, образовывал пленку.

Для обработки семян пшеницы пленочным покрытием, созданным на основе ЭПС *X. campestris* B-610/1, опытные образцы (125 штук каждого сорта) выдерживали 15 минут в студнеобразном растворе (геле), затем высушивали при комнатной температуре (+24°C), предотвращая слипание, и помещали в стерильные чашки Петри с дисками из фильтровальной бумаги, смоченными 4 мл дистиллированной воды. Измерение длины проростков и максимальной длины корня проводили на 7 сутки.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли по стандартным методам [7] с использованием параметрического t-критерия Стьюдента (достоверными считали различия при вероятности ошибки $P<0,05$) и программы Microsoft Exel.

Результаты исследований и их обсуждение

Анализ полученных данных показал, что сорт яровой пшеницы Саратовская 68 продемонстрировал лучшие показатели после обработки пленкой в отношении контроля (необработанные семена) (Таблица). Так, длина ростка была выше на 19 %, а максимальная длина корня на 3 %.

У сорта Саратовская 70 наблюдалась иная ситуация. Семена, подвергшиеся обработке пленочным покрытием на основе ЭПС *X. campestris* В-610/1, не показали значительных изменений относительно контроля по учитывавшимся показателям, а в некоторых случаях, даже уступали контролю.

Таблица 1 – Влияние полисахаридной пленки *X. campestris* В-610/1 на рост и развитие семян яровой и озимой пшеницы

Название сорта	Длина ростка			Максимальная длина корня		
	Контроль	Опыт		Контроль	Опыт	
	M±m	M±m	P	M±m	M±m	P
Саратовская 68	61,37±0,44	75,28±0,94*	<0,001	93,55±0,76	96,13±0,52*	<0,05
Саратовская 70	63,28±1,13	63,89±0,59	>0,5	98,72±0,97	92,33±1,14*	<0,01
Анастасия	71,65±2,58	79,25±1,05*	<0,05	109,14±1,5	117,97±0,68*	<0,001
Жемчужина Поволжья	63,72±1,8	78,61±0,74*	<0,01	88,84±1,57	99,18±0,61*	<0,01

Примечание – <0,05* относительно контроля.

Показатели опытных растений сорта озимой пшеницы Анастасия оказались выше, чем у контроля и в случае длины ростка, и максимальной длины корня. Длина ростка превышала контроль на 10 %, а максимальная длина корня – на 8 %.

В отношении сорта Жемчужина Поволжья было показано, что длина ростка и максимальная длина корня в опыте (обработанные семена ЭПС *X. campestris* В-610/1) превысили контроль на 19 % и 10 % соответственно.

Заключение. Установлено положительное влияние ЭПС *X. campestris* В-610/1 на длину ростка и максимальную длину корня в разной степени у озимых и яровых сортов пшеницы. Наиболее отзывчивыми оказались сорта: озимой пшеницы (Анастасия, Жемчужина Поволжья) и яровой пшеницы Саратовская 68.

Список источников

1. Елинов, Н.П. Химия микробных полисахаридов / Н.П. Елинов. – М.: Высш. шк., 1984. – 156 с.
2. Dutton, G.G.S. The capsular polysaccharide from *Klebsiella serotype* K-54; location of the O – acetyl groups and a revised structure / G.G.S. Dutton, E.H. Merrifield // Carbohydr. Res. – 1982. – Vol.105, №2. – P. 189–203.
3. Kenne, L. Bacterial polysaccharides. The Polysaccharides / L. Kenne, B. Lindberg. – New York: Academic Press, 1983. – Vol.2. – P. 287–363.
4. Clegg, S. *Klebsiella pneumoniae.* In: Sussman M, edr. Molecular Medical Microbiology / S. Clegg, T.A. Sebghati. – California: Academic Press, 2001. – P. 1655–1680.
5. Влияние экзополисахарида *Streptococcus thermophilus* на стрессоустойчивость сорго / Л.В. Карпунина, Н.В. Калмыков, В.В. Бычкова [и др.] // Аграрный научный журнал. – 2022. – № 5. – С. 27–30.

6. Белоглазова, К.Е. Разработка пленочных покрытий на основе полисахаридов и перспективы их использования / К.Е. Белоглазова // дисс. … канд. с.-х. наук. – Саратов, 2020. – 24 с.
7. Воробьев, В.Я. Теория и эксперимент / В.Я. Воробьев, А.И. Елсуков. – Минск: Высшая школа, 1989. – 109 с.

© Шьюрова А. А., Лящева С. В., Карпунина Л. В., Мельникова А. В., Бекетова Г. А., 2024

СОДЕРЖАНИЕ

Аленькина С.А. Участие флавоноидов в реализации стресс-протекторного действия лектинов азоспирилл на корни проростков пшеницы при гипо- и гипертермии…….3

Бабичева О.О., Карпунина Л.В., Петерсон А.М., Голубев А.М. Грибы, входящие в состав микокомплексов побегов абрикоса при их усыхании на территории г. Саратова……...8

Баслакова К.С., Густова П.М., Степанова Ю.В., Семенова И.М., Иванищев К.А. Комплексные вакцины для собак отечественного производства……...…...12

Бахтеева К.Р., Калиничев Е.А. Перспективы использования биотехнологий в переработке молока……...18

Бенцлер В.А., Холматов К.И., Вахрушина Н.И., Антонычева М.В., Астафьева С.В., Спиряхина Т.В. Сравнительный анализ физико-химических показателей качества гидролизата из эритроцитарной массы и традиционных основ питательных сред……..22

Быченков М.П., Калиничев Е.А. Перспективы использования биотехнологий в мясоперерабатывающей промышленности……27

Воробьева С.А., Авдеева Н.Г., Щелканова Е.Ю., Орлова А.Д., Белякова Н.И., Шамина О.А., Волох О.А. Оценка возможности хранения производственных штаммов Vibrio cholerae в условиях низкотемпературного замораживания……31

Галиева Ч.Р., Шарипов А.Р., Компонентная терапия при лечении мелких домашних животных……38

Генералов С.В., Комиссаров А.В., Абрамова Е.Г., Бадарин С.А., Бибиков Д.Н., Синицына Н.В., Глазкова Е.А., Гиненко Г.Н., Никифоров А.К. Лиофилизация производственных штаммов фиксированного вируса бешенства……42

Глазкова Е.А., Гумаюнова К.С., Комиссаров А.В., Овчинникова М.В. Исследование влияния различных энтеросорбентов на бактериофаг при конструировании комплексного препарата для лечения и профилактики холеры……48

Гулий О.И., Караваева О.А., Дыкман Л.А. Иммуноанализ и фаговые антитела для индикации антибиотиков……..53

Гулий О.И., Староверов С.А., Вырщиков Р.Д., Дыкман Л.А. Молекулярные шапероны как маркеры заболеваний……57

Гулий О.И., Староверов С.А., Вырщиков Р.Д., Дыкман Л.А. Перспективы использования фаговых антител, специфичных к белкам теплового шока, для онкодиагностики……60

Гумаюнова К.С., Синягина Ю.В., Зинина О.С., Овчинникова М.В., Глазкова Е.А., Комиссаров А.В., Антонычева М.В. Защитные среды высушивания для лиофилизации маточных культур бактериофагов……..……63

Густова П.М., Баслакова К.С., Степанова Ю.В., Семенова И.М., Иванищев К.А. Особенности производства антирабической вакцины……..….70

Демьяновская П.Д., Древко Я.Б., Горшунова С.В., Древко Б.И. Синтез наночастиц селена, стабилизированных мальтодекстрином с этиленгликолем……..74

Демьяновская П.Д., Древко Я.Б., Горшунова С.В., Древко Б.И. Создание геля на основе метилурацила с использованием альгината натрия……78

Демьяновская П.Д., Кузнецова В.В., Горшунова С.В., Древко Б.И., Древко Я.Б. Определение антимикробной активности наночастиц селена……...81

Дыдыкина У.А., Зыкина Е.А. Способ оценки состояние пасеки по поведению пчел……85

Зыкина Е.А. Биотехнологические способы осеменения свиней……...89

Иващенко С.В., Саньков Н.А. Антитела к дезинтегрированным мембранам *Yersinia pseudotuberculosis* в дот-иммуноанализе с золотыми наночастицами…93

Канина К.А., Жижин Н.А., Ададуров И.А. Использование вкусоароматических добавок в технологии производства сыров «Белпер Кнолле»……98

Кузнецова В.В., Горшунова С.В., Древко Б.И., Древко Я.Б. Синтез наночастиц селена, стабилизированных мальтодекстрином……102

Кулаков В. В. Синдром диспепсии у телят в ранний постнатальный период. Способы профилактики и лечение……107

Ловцова Л.Г., Майоров А.В., Соловьева В.О., Мухамедова Д.Ф. Влияние pH среды на эффективность связывания ионов металлов с ХтГК плодовых тел грибов вешенка……112

Ловцова Л.Г., Майоров А.В., Соловьева В.О., Мухамедова Д.Ф. Изучение влияния состава субстрата на продуктивность гриба вешенка штамм АГРО Р-8022….119

Манушина Д.В., Горшунова С.В., Древко Я.Б. Синтез наночастиц селена с использованием амиака стабилизированым ТВИН-80……..……126

Писаревская Е.В., Горшунова С.В., Древко Я.Б. Исследование антимикробной активности наночастиц селена размером 1-2 нм……..129

Романова Л.Р., Спиряхина Т.В., Хапцев З.Ю., Иващенко С.В. Испытание новой препаративной формы биопрепарата «РИЗО – С» на злаковых культурах……133

Саак Д.Р., Белоглазова К.Е., Рысмухамбетова Г.Е., Умарханов Р.У., Кучменко Т.А. Сравнительный анализ ароматов овощей, высушенных в дегидраторе «Ezidri Ultra FD1000 Digital»……..…….143

Сиваева А.Ю., Нечаева К.Ю. Определение свежести и микробиологический контроль молока, полученного от коров, содержащихся в частных подворьях.149

Соловьева А.А., Спиряхина Т.В., Хапцев З.Ю., Сержантов В.Г., Иващенко С.В. Разработка новой препаративной формы биоудобрения на основе Azospirillum brasilense……...155

Топурия Л.Ю., Топурия Г.М. Содержание иммунокомпетентных клеток в крови животных при использовании пробиотика……..….160

Топурия Л.Ю., Топурия Г.М., Ступина М.Ю. Влияние пробиотического препарата на клеточные факторы естественной резистентности животных….164

Урядова Г.Т., Фокина Н.А., Карпунина Л.В. Применение бактериальных экзополисахаридов в животноводстве……..….168

Феськова А.С., Шульгина И.В., Лобовикова О.А., Овчинникова М.В., Савенкова А.А., Галетова С.С. Система менеджмента качества в производстве медицинских изделий для in vitro диагностики особо опасных инфекций…….171

Федорец А.С. , Хапцев З.Ю., Спиряхина Т.В., Иващенко С.В. Разработка кисломолочного продукта «Курт» с добавлением соевой муки и шпината……175

Хапцев З.Ю. Спиряхина Т.В., Краснов А. А, Круглова О.А. К вопросу о перспективах применения аутовакцин в ветеринарии……..184

Холматов К.И., Вахрушина Н.И., Зинина О.С., Бенцлер В.А., Астафьева С.В., Гумаюнова К.С., Чалбушев М.М., Овчинникова М.В., Комиссаров А.В. Применение пептона фибрина в производстве препаратов для фагодиагностики чумы…….…….192

Чалбушев М.М., Белоусов А.Д., Антонычева М.В., Вахрушина Н.В., Астафьева С.В. Алгоритм выбора оборудования для обеззараживания отходов иммунобиологического производства……...……196

Чинова Е. А., Каширина Л. Г. Гематологические показатели цыплят-бройлеров под влиянием белково - кормовой добавки……200

Чупинина В.А., Кичемазова Н.В., Ларионова О.С., Федорова В.А. Российские ветеринарные вакцины для профилактики сальмонеллеза……..206

Шевчук С.В. Выбор азотного удобрения используемого для подкормки сеянцев рододендрона японского (*Rhododendron japonicum* (A. Gray) suring.), с целью оптимизации кислотности субстрата на основе перегнивающей по типу белой гнили древесины березы……..212

Шьюрова А.А., Лящева С.В., Карпунина Л.В., Мельникова А.В., Гульнара А.Б. Изучение развития проростков яровой и озимой пшеницы при обработке семян экзополисахаридом *Xanthomonas campestris*…….....……221

Научное издание

ЗЫКИНСКИЕ ЧТЕНИЯ

Материалы

Национальной научно-практической конференции, посвященной памяти доктора медицинских наук, профессора Леонида Федоровича Зыкина

30.10.2024

Электронное издание

Адрес размещения: https://www.vavilovsar.ru/nauka/konferencii-saratovskogo-gau/2024-g
Размещено 31.10.2024 г.

ISBN 978-5-7011-0862-0

Компьютерная верстка ***Т. В. Спиряхиной, С.В. Горшунова***

Объем данных: 40,6 Мбайт. Аналог печ. л. 14,3
Формат 60×84 1/16. Заказ №862/2024
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии им. Н.И. Вавилова»
Тел.: 8(8452)26-27-83, email: nir@vavilovsar.ru

410012, г. Саратов, пр-кт им. Петра Столыпина зд. 4, стр. 3.