СРАВНИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПЕПСИНОВ ПРИ АВТОМАТИЗИРОВАННОМ ПЕПТОЛИЗЕ НА ТРИХИНЕЛЛЕЗ

Сворцова Ф.К., Успенский А.В.
ФГБНУ «Всероссийский НИИ фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К.И. Скрябина»

Введение. Автоматизированный метод трихинеллоскопии предусматривает использование специальных приборов, где совмещены основные процессы, связанные с перевариванием мышечной ткани и выделением личинок трихинелл. Ввиду высокой диагностической эффективности приборы для выделения личинок трихинелл серии АВТ, Гельми и Гастрос широко применяются в ветеринарно-санитарной экспертизе на мясоперерабатывающих предприятиях и в ветеринарных лабораториях.

При автоматизированном пептолизе важное значение имеет использование пепсина с высокой ферментной активностью, которая должна оставаться высокой в течение всего срока годности препарата. Мясо промысловых животных обычно более плотное, жесткое и менее жирное, чем свинина и для его качественного переваривания требуются пепсины с высокой активностью.

Целью наших исследований являлось испытание разных марок пепсинов с повышенным содержанием фермента в составе ИЖС, и стандартизация метода переваривания мышечной ткани различных видов промысловых животных для автоматизированной диагностики трихинеллеза на разных типах приборов для выделения личинок.

Материалы и методы. В работе использовали образцы мышечной ткани от инвазированных трихинеллами белых крыс и свиньи, промысловых животных из охотничьих хозяйств Центральных областей РФ - бурого медведя, волка, лисы, рыси, а также свинины после технологической обработки (горячее копчение). Для исследования преимущественно брали межреберные мышцы или мышцы конечностей.

Активность различных марок пепсина изучали автоматизированным методом пептолиза на разных приборах для выделения личинок трихинелл. С каждым из пепсинов готовили искусственный желудочный сок (ИЖС) по стандартной методике: на 1000 мл воды температурой 39-43ºС, вносили 10 мл соляной кислоты и 3 или 5 г пепсина.

Пробы мышечной ткани измельчали на мясорубке с отверстиями диаметром 4 мм. Навеска составляла 50 г. ИЖС заливали в рабочую емкость прибора, в который затем вносили фарш.

Один цикл пептолиза на приборах типа АВТ и Гельми длится 25 минут активного перемешивания и 10 минут отстаивания осадка при температуре 42-43ºС (всего 35 минут), на приборе Гастрос, соответственно, 40 минут перемешивания и 10 минут отстаивания (50 минут). Для полного переваривания фарша на приборе Гельми проводили два цикла пептолиза.

По окончании каждого цикла проводили фильтрацию «перевара», после чего учитывали массу непереваренного остатка мышечной пробы, а в осадке - число выделившихся личинок трихинелл.

Характеристика пепсинов. Сырье для производства препаратов – слизистая желудка свиней, массовая доля фермента - не менее 35%. Все пепсины представляли собой лиофилизированный кристаллический порошок с высокой ферментной активностью. Срок годности пепсинов - не менее 3 лет.

1. Фирма Акрос (Acros Organics, Бельгия, США) Активность препарата 0,7 Ph.Eur.U/mg.
2. Фирма Сигма (Sigma Aldrich, Германия, США). Активность препарата 600-1200 ед/мг.
3. Фирма Merck, (Германия, США). Активность препарата 0,7 Ph.Eur.U/mg.
4. ООО «Шако», Россия. Пепсин свиной для сыроделия, Активность препарата 100 ед/мг. Массовая доля фермента - 2,5%.

Согласно директиве ЕС №2075/2005, которая определяет правила и стандартную методику экспертизы на трихинеллез в Евросоюзе, для пептолиза в составе ИЖС необходимо использовать пепсины с высоким содержанием ферментов в дозе 5 г/л.

Результаты. После одного цикла переваривания охлажденного фарша крыс и свиньи на аппарате Гельми наилучшей протеолитической способностью обладал ИЖС с пепсином фирмы Акрос - 48-49%, далее в порядке убывания Сигма - 36- 39%, Мерк - 28- 34% и Шако - 17-23%. Число выделенных личинок соответствовало проценту переваренной мышечной массы. При применении пепсинов Акрос и Сигма в осадке наблюдали большое количество трихинелл в капсулах наряду со свободными живыми личинками, что говорит о высокой скорости переваривания фарша.

За два цикла активного переваривания также была отмечена высокая ферментная активность ИЖС с пепсином Акрос - 75-78,0%, несколько меньше - с пепсином Сигма - 67-69% и Мерк - 57-62%. Наименьшая активность отмечена у пепсина Шако - 40-42%.

Количество выделенных личинок за второй цикл работы прибора во всех случаях было меньше и соответствовало проценту переваренного фарша.

При пептолизе фарша из технологически обработанной свинины высокую переваривающую способность показал пепсин фирмы Акрос (52%) в дозе 5 г/л, несколько меньшая активность отмечена у пепсинов фирм Сигма (49%) и Мерк (45%) и в несколько раз слабее пепсин Шако (9%). Количество выделенных личинок соответствовало массе перевара фарша.

При пептолизе на приборе Гастрос охлажденного фарша крыс и дефростированного фарша свиньи использовали пепсин Акрос в рекомендованной дозе 5 г/л, показавший лучшую протеолитическую активность на аппарате Гельми в дозе 3 г/л.

В этом случае фарш крыс и свиньи переварился на 70-72% за один цикл работы Гастрос, что определилось более длительным периодом активной работы прибора. Однако в осадке наряду с живыми или погибшими личинками наблюдали большое количество капсул с трихинеллами.

При снижении дозы пепсина до 3 г/л в составе ИЖС переваривание фарша крыс и свиньи происходило постепенно, поэтому в осадке наблюдали только единичные капсулы с личинками. Тем не менее, фарш переварился на 68-70%.

При пептолизе с 3 г/л пепсина Акрос дефростированного фарша из промысловых животных - бурого медведя, волка и лисицы, фарш переварился на 68-70%, рыси - на 73%. Непереваренный остаток составлял 27-32%. Во всех случаях за один цикл пептолиза на Гастрос выделялась основная масса личинок трихинелл.

Следовательно, для полного и качественного пептолиза охлажденного и дефростированного фарша разных домашних и промысловых животных при использовании пепсина Акрос возможно снижение дозы до 3 г/л на один цикл работы прибора Гастрос или два цикла работы Гельми.

Сравнивая результаты пептолиза мышечной ткани животных на этих приборах можно отметить, что качественный пептолиз зависит от используемого пепсина и его дозы, а также времени активного перемешивания. Соответственно объему переваренного фарша выделяется и крличество личинок трихинелл.

Выводы. При проведении диагностического исследования на трихинеллез охлажденного, дефростированного и технологически обработанного фарша животных пепсины фирм Акрос, Сигма и Мерк показали, что они обладают высокой переваривающей способностью в дозе 3-5 г/л и пригодны для автоматизированного пептолиза.

Результат автоматизированного пептолиза зависит от ферментной активности используемого пепсина и его дозы, и в меньшей степени от вида мышечной ткани образца.

Литература: 1.Успенский А.В., Скворцова Ф.К. //Сб. мат. научн. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями» М.- 2012.- Вып..13.-С.430-433. 2. Скворцова Ф. К., Андреянов О. Н. //Ветеринария.- 2014.-№10.-С.- 49-52.

Comparative activities of pepsins at automatic peptolysis in respect of Trichinella. Skvorcova F.K., Uspensky A.V. All-Russian K.I. Skryabin Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants.

Summary. The results of the diagnostic examination of cooled, defrosted and technologically preparedforce-meat in respect of Trichinella at devices for recovery of Trichinella larvae Gelmy and Gastros showed that pepsin manufactured by Akros, Sigma and Merck had the high digesting ability at dose level of 3-5 g/l and could be applied for automatized peptolysis. The efficacy

outcome depended on enzymatic activity of applied pepsin and it’s dose and in less degree on species of muscle tissue sample.