

части живота. Киль грудной кости не выделяется. Поверхность мышц слегка влажная, но не липкая. Консистенция плотная, при надавливании пальцем образующая ямка быстро выравнивается. Запах специфический, свойственный свежему мясу птицы. Подкожный и внутренний жир бледно-желтого цвета.

Сухожилия упругие, плотные, поверхность суставов гладкая, блестящая. Клюв глянцевиый, а глазное яблоко выпуклое, роговица блестящая. При проведении пробы варкой бульон во всех случаях был прозрачный, ароматный. Постороннего запаха не выявлено.

Из приведенных данных органолептической оценки видно, что по всем показателям тушки опытных и контрольной групп существенных различий не имели.

Бактериологическое исследование мышечной ткани и паренхиматозных органов проводили по ГОСТ 7702.2-74 "Мясо птицы. Методы бактериологического анализа". Наряду с бактериоскопией мазков-отпечатков проводили посевы на жидкие и плотные питательные среды.

В результате проведенных бактериологических исследований микроорганизмы *E.coli*, *S.aureus*, бактерии рода *Proteus*, *V. cergeus* и сульфитредуцирующие клостридии, сальмонеллы из всех подопытных образцов мяса и внутренних органов не выделены.

Физико-химические исследования проводили согласно ГОСТу 7702.2-74 "Мясо птицы. Методы химического и микроскопического анализа свежести мяса" по следующим показателям: реакция на аммиак и соли аммония, реакция на пероксидазу, кислотное число жира, перекисное число жира, pH.

Для определения биологической ценности и безвредности мяса использовали тест-объект – дрснитчатых инфузорий Тетрахимена пириформис согласно "Методическим указаниям по токсико-биологической оценке мяса, мясных продуктов и молока с использованием инфузорий Тетрахимена пириформис", 1997.

Таблица 5 – Физико-химические показатели мяса птицы и биологической ценности

Показатели	Контроль	Опытная
Реакция на аммиак и соли аммония	отриц	отриц.
Реакция на пероксидазу	полож	полож.
Кислотное число жира, мг КОН	0,8±0,02	0,77±0,01
Перекисное число жира, % йода	0,008±0,002	0,007±0,001
pH	5,92±0,04	6,03±0,02
Относительная биол. ценность, %	100	114±1,7
Токсичность, % патолог. форм клеток	0,1±0,05	0,1±0,03

Как видно из приведенных в таблице данных, физико-химические показатели мяса контрольной и опытной групп достоверных отличий не имели. Биологическая ценность мяса опытной группы выше на 14% по отношению к контролю. Проявлений токсичности для инфузорий не установлено. Следовательно, применение данных препаратов улучшает биологическую ценность и качество продукта.

Заключение. Таким образом, в результате полученных в ходе исследований установлено, что «Хитозан» и «Бацинил» оказывают положительное влияние на сохранность птицы, а их совместное действие повышает среднесуточные приросты птицы. При этом применение препаратов улучшает биологическую ценность и качество продукта.

Литература. 1. Фисинин, В. Природные минералы / В. Фисинин, П. Сурай // [Электронный ресурс]. - Режим доступа: - <http://www.webpticeprom.ru/ru/articles-birdseed.html?pageID=1268495739>. - Дата доступа: 14.03.2010. 2. Kannan, G. Elevated plasma corticosterone concentrations influence the onset of rigor mortis and meat color in broilers / G. Kannan, J.L. Heath, C.J. Wabeck // *Poultry Sci.*. – 1998. – Vol.77, P. 322-326. 3. Хитин и Хитозан. Получение, свойства и применение / Под ред. К.Г. Скрабина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова. – М.: Наука, 2002 – 364 с.

УДК 636.52/58.083:636.085.16

ПРИМЕНЕНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ФИТОЛЕКТИНОВ ПРИ БОЛЕЗНЯХ ТЕЛЯТ, ВЫЗЫВАЕМЫХ УСЛОВНО-ПАТОГЕННОЙ МИКРОФЛОРОЙ

*Красочко П.А., **Канделинская О.Л., *Красочко И.А., *Кабась С.С., **Грищенко Е.Р., *Курбат И.А.

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Беларусь

**ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф.Купревича НАН Беларуси», г. Минск, Беларусь

Исследовано влияние комплексного препарата, содержащего лектины из растений различных систематических групп, на показатели микробиоценоза желудочно-кишечного тракта телят в условиях хозяйства Минской области Республики Беларусь. На примере лектина картофеля показано бактериостатическое действие в отношении условно-патогенной микрофлоры кишечника как при самостоятельном применении, так и в составе комплексного биопрепарата. Установлено, что выздоровление телят, больных энтеритом, ускоряется под влиянием комплексного препарата, содержащего фитолектины, по сравнению с контрольной группой, не получавшей препарат.

It has been studied the influence of complex preparation containing the phytolectins from different plant species on the parameters of microbiocenose of s gastrointestinal tract (GIT) onto the condition of live farming of Minsk region of Belarus republic. It has been shown using of potato lectin as example independently and with complex preparation that it possessed the bacteriostatic action on the opportunistic microorganisms. It was determined that convalescence of animal was accelerated by the use of complex preparation containing the phytolectins than without one.

Введение. Одним из важнейших направлений развития животноводства и условием повышения рентабельности животноводческой отрасли сельского хозяйства в Республике Беларусь является обеспечение

охраны здоровья сельскохозяйственных животных. Известно, что в условиях промышленного содержания, при воздействии различных экстремальных факторов, в том числе алиментарных нарушений, высокой степени обсемененности помещений условно-патогенными бактериями и вирусами, у животных развиваются иммунодефицитные состояния, приводящие к повышению уровня целого ряда патологий, включая заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) различной этиологии. Указанные болезни носят факторный инфекционный характер и часто проявляются в виде ассоциативной инфекции с участием условно-патогенной микрофлоры. При этом отмечено, что наряду с возрастанием заболеваемости животных снижается и эффективность терапевтических мероприятий. Одной из возможных причин этого является широкое применение антибиотиков, что способствует появлению резистентных штаммов микроорганизмов, ухудшению состояния микробиоценоза кишечника, снижению иммунного статуса организма.

В настоящее время для повышения неспецифического иммунитета животных, профилактики и лечения патологии ЖКТ предпринимается тактика комплексного терапевтического подхода, предполагающего, помимо организационных и технических мероприятий, применение средств, способных оказывать как лечебный эффект, так и повышать общую резистентность организма к действию патогенов за счет улучшения микробиоценоза кишечника.

В этом плане все большую актуальность приобретают препараты на основе растительного сырья, содержащего фармакологически значимые компоненты, среди которых лектины изучены менее других. Согласно данным литературы, лектины представляют собой белки, способные обратимо и избирательно связывать углеводы и гликолипиды благодаря наличию в своем составе углеводных доменов. Основным функциональным свойством лектинов является способность агглютинировать клетки – эритроциты, патогенные микроорганизмы, вирусы, споры грибов, опухолевые клетки, определяя противомикробную, противовирусную и противоопухолевую активность данных белков. Важной составляющей действия фитолектинов является индуцированная ими активация углеводспецифических путей биосигнализации в клетках крови и регуляция функциональной активности нейтрофилов и лимфоцитов, что обуславливает иммуномодулирующий эффект данной категории белков [1-7].

Цель работы – исследовать влияние фитолектинов как при самостоятельном применении, так и в составе комплексного лечебно-профилактического препарата, для коррекции микробиоценоза ЖКТ.

Материалы и методы исследований. Сырьем для выделения препаратов лектинов являлись семена сои *Glycine max* (L.) MERR. (сорт Припять), корни эхинацеи пурпурной *Echinacea purpurea* (L.) MOENCH., клубни картофеля *Solanum tuberosum* L. (сорт Орхидея). Для очистки лектинов из семян сои и корней эхинацеи пурпурной использовали методы ацетоновой экстракции [8]; из картофеля – метод кислотной экстракции [9]. Идентификацию гемагглютинирующей активности лектинов осуществляли на иммунологических планшетах с U-образными лунками посредством микротитрования исследуемых белков с последующим добавлением в них 2,5% суспензии эритроцитов кролика [10]. Реакцию проводили при комнатной температуре и результат (гемагглютинацию) регистрировали через 2 часа после начала титрования. Фитогемагглютинирующую активность лектинов (ФГА) выражали в величинах, обратных минимальной концентрации белка, при которой отмечали реакцию гемагглютинации (мкг белка/мл)⁻¹, затем переводили данный показатель в пересчете на сырую массу. Конечный результат выражали в ЕД/мг белка либо в ЕД/г сырой массы. Белок определяли по методу Bradford [11], в качестве стандарта использовали бычий сывороточный альбумин.

Определение бактерицидной и бактериостатической активности комплексного препарата проводили в лабораторных условиях. В качестве тест-объектов были использованы условно патогенные возбудители желудочно-кишечных инфекций телят (*E. coli*, *Salm. tiphimurium*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella oxytoca*, *Staph. aureus*). Бактерицидную активность определяли путем внесения препарата и его компонентов в суспензию, содержащую 500 млн. тест-микроорганизмов. Через три часа определяли концентрацию бактерий на МПА путем последовательных разведений стерильным физраствором по общепринятой методике.

Изучение эффективности использования комплексного препарата, содержащего фитолектины, при энтерите у телят, т.е. его влияние на длительность процесса лечения диареи, до полного исчезновения симптомов заболевания, и на микробиоценоз кишечника, проводили в условиях МТФ «Городище» и «Чики» АФ «Ждановичи» Минской области Республики Беларусь. Телятам вводили экспериментальный образец комплексного препарата *per os* 1 раз в день с 400-500 мл воды или физраствора в течение 3 дней.

Для изучения влияния препарата фитолектина на микробиоценоз кишечника животные были разделены на 5 групп. Телятам опытной группы № 1 выпаивали оптимальный состав комплексного лечебно-профилактического препарата; телятам опытной группы № 2 – без фитолектинов, опытной группы № 3 – только фитолектин; опытной группы № 4 – раствор компонента Б, входящего в состав комплексного лечебно-профилактического препарата; телята опытной группы № 5 – контрольный вариант без комплексного лечебно-профилактического препарата. Затем у животных были взяты фекалии до обработки препаратом, через 4-5 дней, через 9-11 дней и через 17-18 дней. В фекалиях определяли общее количество микроорганизмов путем посева на МПА, лакто- и бифидобактерий – путем посева на тиогликолевую среду, бактерий кишечного-паратифозной группы – путем посева на агар Эндо и висмут-сульфит агар, кокковых бактерий – на солевую среду, бацилл – после прогревания фекалий при 75-80°C и посева на МПА.

Результаты исследований. С помощью разработанной лабораторной технологии выделения препаратов лектинов из растительного сырья были получены препараты лектинов из корней эхинацеи, семян сои и клубней картофеля. Показатели гемагглютинирующей активности полученных препаратов представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Фитогемагглютинирующая активность препаратов фитолектинов из разных источников

Источник	Активность (ЕД/г сыр.массы)
Картофель (клубни)	5688,89
Эхинацея (корни)	136,52
Соя (семена)	993,79

Согласно данным таблицы 1, уровень фитогемагглютинирующей активности препаратов лектинов из различных источников значительно варьировал.

Так, данный показатель находился в диапазоне от 136,5 (эхинацея пурпурная) до 5700 ЕД/г сыр.массы (клубни картофеля).

Далее, для выявления наиболее активного фитолектина, мы предприняли изучение эффективности его применения в контексте оценки их терапевтической эффективности, т.е. сроков выздоровления или длительности лечения животных до полного исчезновения симптомов заболевания (таблица 2).

Таблица 2 – Эффективность использования фитолектинов в составе комплексного лечебно-профилактического препарата

Группа	Фитолектин + компонент А + компонент Б	Кол-во голов	Возраст, дни	Курс лечения	Длительность болезни
ОГ 1	Клубни картофеля, 250 ЕД/мл	3	2-3	3	3,67
ОГ 2	Клубни картофеля, 500 ЕД/мл	4	3-4	3	3,0
ОГ	Клубни картофеля, 1000 ЕД/мл	4	2-4	3	2,5
ОГ	Корни эхинацеи, 10 ЕД/мл	4	2-3	3	4,0
ОГ	Корни эхинацеи, 25 ЕД/мл	4	3-4	3	3,5
ОГ	Корни эхинацеи, 50 ЕД/мл	4	2-4	3	3,0
ОГ	Семена сои, 100 ЕД/мл	3	2-3	3	4,0
ОГ	Семена сои, 250 ЕД/мл	3	3-4	3	3,6
ОГ	Семена сои, 500 ЕД/мл	3	2-3	3	3,3
КГ	Компонент А	4	3-4	3	3,5
КГ	Компонент Б	4	2-3	3	4,0

Примечание: ОГ-опытная группа; КГ-контрольная группа

Согласно данным таблицы 2, наибольшей эффективностью обладал комплексный препарат с фитолектином из клубней картофеля и активностью 1000 ЕД/мл. Длительность лечения составляла при этом 2,5 дня. Сопоставимые данные были получены для препарата фитолектина из корней эхинацеи (активность 50 ЕД/мл). Длительность лечения в этом случае составляла 3 дня.

В дальнейших исследованиях использовали препарат фитолектина из клубней картофеля. Результаты по оценке его бактерицидной активности представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Бактерицидная активность комплексного лечебно-профилактического препарата, содержащего фитолектин картофеля

Соотношение комплексного препарата и микроорганизмов	Концентрация микроорганизмов после 3-часового контакта (тыс. КОЕ)				
	Staph. aureus	E. coli	Salm. Tiphimurium	Proteus mirabilis	Klebsiella oxytoca
1:1	480	490	485	495	480
2:1	450	480	480	485	450
3:1	400	450	460	450	440
1:3	480	495	500	490	500
1:2	450	480	490	475	490
1:5	500	450	480	450	480
5:1	300	250	280	200	250
0:1	500	500	500	500	500

Согласно данным таблицы 3, бактерицидная активность препарата возрастала пропорционально его содержанию в среде. Наибольшая бактерицидная активность была при соотношении препарата и микроорганизмов 5:1. В этом случае по степени чувствительности к нему исследуемые микроорганизмы располагались следующим образом: Proteus mirabilis > E.coli = Klebsiella oxytoca > Salm. Tiphimurium > Staph. Aureus. Снижение содержания препарата в среде почти не сказывалось на концентрации микроорганизмов.

Следовательно, бактерицидная активность комплексного препарата на основе фитолектинов была незначительной.

Данные по анализу бактериостатической активности фитолектина из клубней картофеля представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Бактериостатическая активность комплексного лечебно-профилактического препарата

Вносимый препарат и его компоненты	Диаметр зоны задержки роста (мм)				
	Staph. aureus	E. coli	Salm. tiphimurium	Proteus mirabilis	Klebsiella oxytoca
Препарат	25	22	24	23	20
Компонент А	21	19	10	21	15
Компонент Б	14	13	13	14	12
Фитолектин	16	17	16	18	17

Согласно данным таблицы 4, комплексный препарат оказывал в целом бактериостатическое действие на рост микроорганизмов за счет кумулятивного эффекта его компонентов, особенно компонента А и фитолектина.

В таблице 5 приведены данные по изучению состояния микробиоценоза кишечника телят с диагнозом «энтерит» под влиянием комплексного препарата, содержащего фитолектин картофеля.

Таблица 5 – Влияние комплексного лечебно-профилактического препарата на основе фитолектинов на состоянии микробиоценоза кишечника телят, больных энтеритами

Препарат	Концентрация микроорганизмов (КОЕ/1 г фекалий)				
	Staph. Aureus	E.coli	Proteus mirabilis	Бациллы	Лакто- и бифидобактерии
До лечения					
Препарат	3,9±0,1x10 ³	5,1±0,4x10 ⁷	2,2±0,6x10 ²	3,6±0,3x10 ³	4,1±0,3x10 ³
Компонент А	3,7±0,2x10 ³	5,2±0,5x10 ⁷	2,0±0,5x10 ²	3,9±0,7x10 ³	4,5±0,4x10 ³
Компонент Б	3,5±0,2x10 ³	4,9±0,6x10 ⁷	2,2±0,4x10 ²	4,1±0,1x10 ³	6,1±0,6x10 ³
Фитолектин	4,1±0,4x10 ³	5,0±0,7x10 ⁷	2,7±0,3x10 ²	2,6±0,6x10 ³	7,1±0,8x10 ³
Контроль	4,0±0,9x10 ³	5,4±0,3x10 ⁷	2,0±0,3x10 ²	3,3±0,5x10 ³	3,1±0,4x10 ³
1	2	3	4	5	6
Через 5 дней после лечения					
Препарат	1,9±0,6x10 ¹	6,6±0,9x10 ⁴	1,9±0,7x10 ¹	4,9±0,8x10 ⁴	6,4±0,5x10 ⁵
Компонент А	2,2±0,4x10 ¹	2,6±0,7x10 ⁴	7,1±0,9x10 ¹	5,5±0,3x10 ⁵	4,4±0,2x10 ⁷
Компонент Б	3,0±0,5x10 ³	6,6±0,5x10 ⁵	8,1±0,1x10 ²	4,9±0,1x10 ³	5,4±0,2x10 ⁵
Фитолектин	2,9±0,4x10 ²	6,6±0,3x10 ⁵	9,1±0,6x10 ¹	5,9±0,8x10 ³	3,4±0,1x10 ⁵
Контроль	3,8±0,8x10 ⁴	5,2±0,4x10 ⁸	1,1±0,5x10 ³	4,9±0,6x10 ³	6,0±0,3x10 ³
Через 10 дней после лечения					
Препарат	2,4±0,1x10 ²	2,3±0,6x10 ⁵	1,8±0,7x10 ¹	2,8±0,2x10 ⁴	6,9±0,8x10 ⁵
Компонент А	2,6±0,3x10 ²	6,2±0,8x10 ⁵	2,3±0,2x10 ¹	2,2±0,8x10 ⁴	1,6±0,7x10 ⁵
Компонент Б	3,2±0,8x10 ³	3,2±0,4x10 ⁷	4,6±0,5x10 ²	2,8±0,7x10 ³	2,9±0,8x10 ⁴
Фитолектин	3,0±0,7x10 ²	4,2±0,2x10 ⁶	8,7±0,1x10 ¹	7,8±0,4x10 ³	8,7±0,8x10 ⁵
Контроль	3,9±0,1x10 ⁴	6,2±0,1x10 ⁸	5,5±0,3x10 ²	5,6±0,2x10 ²	4,4±0,8x10 ³

Согласно данным таблицы 5, комплексный лечебно-профилактический препарат, содержащий фитолектин картофеля, позволял значительно улучшить микробиоценоз кишечника телят, больных энтеритами. Так, под действием препарата отмечено снижение количества эшерихий, протей и стафилококков. При этом существенно увеличивается количество бацилл, лакто- и бифидобактерий. Аналогичная картина отмечена в отношении компонента А. Фитолектин оказывает сопоставимое с компонентом А, но менее выраженное благоприятное действие на баланс микрофлоры кишечника по сравнению с контрольным вариантом.

Полученные данные свидетельствуют о позитивном эффекте применения в составе комплексного препарата лектина картофеля, который относится к группе хитинсвязывающих лектинов благодаря высокому родству к N-ацетил-D-глюкозамину (GlcNAc) и олигомерам хитина. Данное обстоятельство, возможно, объясняет отчасти его бактериостатическое действие в отношении условно патогенной микрофлоры кишечника телят, страдающих энтеритами. В целом же, для комплексного препарата характерен более выраженный лечебный кумулятивный эффект, способствующий нормализации микробиоценоза у животных.

Закключение. 1. Комплексный препарат, содержащий фитолектин из клубней картофеля, оказывает позитивное действие на микробиоценоз кишечника телят, страдающих энтеритами.

2. Комплексный препарат, содержащий фитолектин из клубней картофеля, обладает выраженным бактериостатическим, но менее выраженным бактерицидным действием в отношении условно патогенных микроорганизмов ЖКТ молодняка крупного рогатого скота.

3. Комплексный препарат, содержащий фитолектин из клубней картофеля, способствует восстановлению нормальной микрофлоры кишечника телят за счет снижения условно-патогенной микрофлоры, но увеличения доли лакто- и бифидобактерий.

4. Комплексный препарат, содержащий фитолектин из клубней картофеля, ускоряет выздоровление телят, больных энтеритами.

Литература. 1. Essentials of Glycobiology / Edited by Ajit Varki, Richard D. Cummings, Jeffrey D. Esko, Hudson H. Freeze, Pamela Stanley, Carolyn R. Bertozzi, Gerald W. Hart, and Marilyn E. Etzler. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2009. 2nd edition. 2. Луцки М.Д., Панасюк Е.Н., Луцки А.Д. Лектины. Львов: Вища школа, 1981. - 155 С. 3. Тимошенко А.В. Лектины лекарственных растений // Вестник Нацыянальнай Акадэміі навук Беларусі. - 2003. - № 2. - С. 104-113. 4. Тимошенко А.В. Гликобиология и биомедицинское применение лектинов // Матер. 2 съезда Белорусского общества фитобиологов и биофизиков. 25-27 июня 1996 г. Минск, 1996. - С.38-45. 5. Волошин Н.А., Григорьева Е.А. Лектины животного и растительного происхождения: роль в процессах морфогенеза // Журнал АМН Украины. - 2005. Т.11. - № 2. - С.223-237. 6. Шакирова Ф.М., Безрукова М.В. Современные представления о предполагаемых функциях лектинов растений // Журнал общей биологии. - 2007. - Т.68. - № 2. - С.100-125. 7. Корсун В.Ф., Лахтин В.М., Е.В.Корсун, Мицконас А. Фитолектины. М.: Практическая медицина, 2007. - 288 с. 8. Sattangi D., Sattangi S. Acetone precipitation – an improved procedure for the isolation of soybean agglutinin // Preparative biochemistry. - 1984-85. - V.14. - N 5. - P.471-483. 9. Любимова Н.В., Шувалова Е.П., Агафонова Н.В., Жердев А.В., Щербухин В.Д. Иммуноферментный анализ лектина картофеля // Прикладная биохимия и микробиология. - 1991. - Т. 27. - Вып. 4. - С.595 - 605. 10. Бабоша А.В., Ладыгина М.Е. Определение фитогемагглютининов в связи с вирусостойкостью картофеля // Физиолого-биохимические и биофизические методы диагностики степени устойчивости растений к патогенам и другим факторам / Под ред. Ладыгиной М.Е. М.: МГУ, 1992. С.43-52. 11. Bradford M.M. Rapid and Sensitive Method for Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein Dye Binding // Anal.Biochem. 1976. Vol. 8. P.248-254.