

16. Gil G., del Monaco S., Cerrutti P. e.a. Selective antimicrobial activity of chitosan on beer spoilage bacteria and brewing yeasts. // *Biotec. Let.*- 2004. – 26. –P. 569-574.
17. Smith J., Wood E., Dornish M. Effect of chitosan on epithelial cell tight junctions. *Pharmac // Res.*- 2004. - 21(1). –P. 43-49.
18. Uchida Y. Antibacterial activity by chitin and chitosan// *Food Chemical.* – 1998. – 2. –P. 22-29.

ПРИМЕНЕНИЕ ХИТОЗАНА В СОСТАВЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ КОРМОВЫХ ДОБАВОК ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ МОЛОДНЯКА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

¹А.И. Албулов, ¹М.А. Фролова, ¹О.В. Буханцев, ¹А.В. Гринь,
¹М.В. Плотников, ²П.А. Красочко, ³Е.В. Крапивина

¹Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности, Щелково, Московской обл.

e-mail: vnitibp@mail.ru;

²Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского, Республика Беларусь, Минск

e-mail: krasochko@mail.ru;

³Брянская ГСХА, Брянск

e-mail: krapivina_E_v@mail.ru

Введение. Микробиоценоз кишечника - чрезвычайно важная система организма, выполняющая или регулирующая его функции по поддержанию гомеостаза (1). Широкое применение в ветеринарии антибиотиков привело к селекции и распространению в природе антибиотикорезистентных и атипичных штаммов микроорганизмов, в том числе и с повышенным патогенным потенциалом, нарушению колонизационной резистентности кишечника и росту числа условно-патогенных инфекций (2).

Для профилактики негативных процессов в организме животных применяют про- и пребиотики. Большой интерес представляют бактерии рода *Bacillus*, которые рассматриваются как транзиторные формы микроорганизмов в кишечнике, и, тем не менее, применяются во многих кормовых пробиотических препаратах, оказывая положительное влияние на здоровье и продуктивность животных. В частности, установлено, что использование пробиотика с *Bacillus subtilis* при выращивании молодняка свиней вызывало повышение среднесуточных приростов живой массы животных более чем на 20% (3,4,5).

Для создания оптимальных условий для жизнедеятельности полезной микрофлоры целесообразно использовать пребиотики - вещества, которые, достигая толстой кишки, образуют питательную среду для нормальной флоры (6,7). К числу пребиотиков может быть отнесен и природный полисахарид хитозан, который, в отличие от широко используемых пробиотических препаратов, помимо стимулирующего действия на нормальную кишечную микрофлору, проявляет и антибактериальную активность по отношению к широкому спектру видов патогенной микрофлоры (*Staphylococcus* sp., *Peptococcus* sp., *Enterococcus* sp., *Candida* sp., *Bacillus* sp.) (7,8).

Исследования гелевой формы и растворов хитозана различной молекулярной массы показали, что он в силу структурных особенностей может создавать защитную подложку на слизистой оболочке кишечника, способен адсорбировать липополисахариды и останавливать рост патогенных микроорганизмов (9), паразитов, в частности, церкарий (10), проявляя и бактерицидные свойства (11).

Материалы и методы. Изучение влияния кислоторастворимого хитозана (м.м. 500 кДа) в составе пробиотика «Проваген» при выращивании молодняка крупного рогатого скота на микробиоценоз толстого кишечника, морфобиохимические параметры крови и динамику живой массы проводили на теллятах черно-пестрой породы 4-х недельного возраста в СПК Агрофирма «Культура» Брянского района Брянской ГСХА.

Пребиотическая кормовая добавка «Проваген» относится к спорообразующим пробиотикам нового поколения. В его состав входят пробиотические штаммы сапрофитных бактерий *B. subtilis* ВКМ В-2287 и *B.licheniformis* ВКМ В-2414, которые обладают высокими антагонистическими свойствами и эффективностью в отношении почти 90% условно-патогенных кишечных бактерий и грибковой флоры, вырабатывая до 70 видов антибиотических веществ, безвредных для макроорганизма и полезной микрофлоры.

Для проведения эксперимента были сформированы по методу парных аналогов 3 группы телят черно-пестрой породы 4-х недельного возраста ($\pm 3-4$ суток) со средней живой массой $46,2 \pm 0,1$ кг. Животные 1 группы (контрольные, 10 гол.); телята 2 группы (опытные, 10 гол.) получали с молоком один раз в сутки комплекс пробиотика «Проваген» (14 г/гол.) с хитозаном (0,2 г/гол.) в течение 30 суток; телята 3 группы (опытные, 10 голов) получали с молоком один раз в сутки комплекс пробиотика «Проваген» (14 г/гол.) с хитозаном (0,6 г/гол.) с 4-х недельного возраста в течение 30 суток. Телята содержались в соответствующих ветеринарно-зоогигиеническом требованиям условиях, получали хозяйственный рацион (молоко цельное – 6 л, мука ячменная-1 кг, сено-прикормка) в соответствии с общепринятыми нормами.

Перед началом опыта, после 7 дней выпаивания препаратов, за месяц выпаивания препаратов и через 1 месяц после окончания выпаивания препаратов определяли живую массу телят и у 5 телят из каждой группы брали пробы крови для анализов. Перед выпаиванием препаратов и после окончания выпаивания препаратов у 3 телят из каждой группы брали пробы фекалий (при вынужденной дефекации) для анализа микробиоценоза толстого кишечника.

Живую массу определяли измерительной лентой.

Анализ качественного и количественного состава микробиоты толстого кишечника телят проводился в ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Брянской области».

Для характеристики морфо-биохимических показателей гомеостаза у телят количество лейкоцитов и эритроцитов в крови подсчитывали в камере Горяева, гемоглобин определяли гемоглобинцианидным методом, концентрацию глюкозы глюкозооксидазным методом.

Изучение эффективности влияния кормового пробиотика «Муцинол», содержащего лиофильно высушенную биомассу бактерий *B.subtilis*, *B.licheniformis* и хитозан, совместно с комплексной витаминно-минеральной добавкой для новорожденных телят на зоотехнические и экономические показатели телят проводили в ПКУП «Совхоз Сморгинский» Сморгинского района Гродненской области республики Беларусь на телятах 0-30-ти дневного возраста совместно со специалистами института экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышелесского и ПКУП «Совхоз Сморгинский».

Телята опытной группы (16 гол.) получали витаминно-минеральную добавку с пробиотиком «Муцинол» вместе с основным кормом в количестве 10 г/гол. 1 раз в сутки в течение 30 дней. Телята контрольной группы (15 гол.) получали только витаминно-минеральную добавку с основным рационом в количестве 10 г/гол. 1 раз в сутки в течение 30 дней.

Изучение эффективности влияния витаминно-минеральной добавки с кормовыми пробиотиками «Муцинол» и «Иммунофлор» на зоотехнические и экономические показатели телят 20-60-ти дневного возраста проводили в ПКУП «Совхоз Сморгинский» Сморгинского района Гродненской области совместно со специалистами института экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышелесского» РБ и ПКУП «Совхоз Сморгинский» РБ.

Телята опытной группы I (20 гол.) получали с основным рационом витаминно-минеральную добавку с кормовым пробиотиком «Муцинол» в дозе 30 г/гол. в сутки в течение 30 дней; опытной группы II (22 гол.) - основной рацион и витаминно-минеральную добавку с кормовым пробиотиком «Иммунофлор» в дозе 30 г/гол. в сутки в течение 30 дней; телята контрольной группы (20 гол.) получали только основной рацион с витаминно-минеральной добавкой в дозе 30 г/голову в сутки в течение 30 дней.

Результаты исследований. Выпаивание в течение 30 суток телятам пробиотика «Проваген» (14 г/гол/сутки) и пребиотика хитозана (0,2 и 0,6 г/гол/сутки) способствовало более интенсивному росту телят (см.табл.1).

Живая масса телят подопытных групп перед началом опыта и в последующие периоды исследования не имела достоверно значимых межгрупповых различий. При этом отмечена тенденция к увеличению валового и среднесуточного приростов живой массы у телят 2 и 3 групп через 7 суток скармливания препаратов на 16,00 и 4,00 %, соответственно, по сравнению с животными контрольной группы, то есть более выраженное повышение этих показателей было у телят, получавших вместе с 14 г/гол/сутки пробиотика «Провагена» 0,2 г/гол/сутки пребиотика хитозан.

Таблица 1

Динамика живой массы и среднесуточных приростов живой массы подопытных телят

Показатели	1 группа, n=10	2 группа, n=10	3 группа, n=10
Живая масса перед началом опыта, кг	46,00±2,56	46,3±2,10	46,30±1,71
Живая масса через 7 суток выпаивания препаратов, кг	51,00±2,84	52,10±1,99	51,50±1,64
Валовой прирост живой массы через 7 суток выпаивания препаратов, кг	5,00±0,65	5,80±0,77	5,20±0,57
Среднесуточный прирост живой массы за 7 суток выпаивания препаратов, кг	714,28±92,83	828,57±110,25	742,85±81,93
Живая масса за месяц выпаивания препаратов, кг	63,50±3,26	64,80±2,38	63,80±2,19
Валовой прирост живой массы за месяц выпаивания препаратов, кг	17,50±1,65	17,50±0,97	18,50±1,43
Среднесуточный прирост живой массы за месяц выпаивания препаратов, кг	583,33±55,17	583,33±32,30	616,50±47,73
Живая масса через 1 месяц после окончания выпаивания препаратов, кг	85,90±4,37	87,60±4,97	87,70±3,32
Валовый прирост за месяц после окончания выпаивания препаратов, кг	22,40±1,91	22,80±3,27	23,90±2,64
Среднесуточный прирост за месяц после окончания выпаивания препаратов, г	746,66±63,67	760±108,96	796,66±87,97
Валовой прирост живой массы за опытный период, кг	39,90±2,83	41,30±3,98	41,40±2,69
Среднесуточный прирост живой массы за опытный период, г	665,00±47,17	688,33±70,58	689,96±42,63

За месяц выпаивания препаратов валовой и среднесуточный прирост живой массы у телят практически не отличался от аналогичных значений у животных контрольной группы. У телят 3 группы установлена тенденция к более высокому валовому и среднесуточному приросту живой массы за этот период (на 5,70% по сравнению с животными 1 и 2 групп, соответственно).

Через месяц после окончания выпаивания препаратов также отмечена тенденция к более высокому валовому и среднесуточному приросту живой массы у телят 3 группы (на 6,70 и 4,82% по сравнению с животными 1 и 2 групп, соответственно).

Следовательно, пребиотик хитозан в дозе 0,6 г/гол/сутки, добавленный к пробиотику «Проваген», обусловил тенденцию к более интенсивному росту телят, в большей степени выраженную через месяц после 30-ти суточного выпаивания препаратов.

Выпаивание пробиотика «Проваген» с хитозаном способствовало повышению обменных процессов в организме животных, при этом более полное усвоение углеводов из корма отмечено при использовании композиции препаратов 14 г/гол/сутки пробиотика «Провагена» и 0,6 г/гол/сутки пребиотика хитозана, о чем свидетельствует повышение содержания эритроцитов в крови животных 2 и 3 группы (см.табл.2), которое перед началом опыта соответствовало нормативным значениям, но у телят 2 группы было ниже, чем у животных 3 группы на 24,96 % ($p < 0,05$). Через 7 суток опытного периода у животных 1 и 3 групп отмечена тенденция к снижению содержания эритроцитов в крови на 12,36 и 14,05 %, соответственно, а у животных 2 группы, напротив, к повышению на 21,82 %. Через месяц выпаивания препаратов содержание эритроцитов в крови у телят 1 группы существенно не изменилось, а у животных 2 и 3 групп достоверно увеличилось на 24,78 и 27,62 %, соответственно, по сравнению с предыдущим периодом, что указывает на активизацию обменных процессов.

При изучении морфо-биохимических показателей крови животных подопытных групп установлено, что содержание лейкоцитов в их крови в иссле-

дованные периоды времени существенно не различалось, находилось в пределах нормативных значений, достоверно значимых межгрупповых различий не обнаружено.

Таблица 2

Морфо-биохимические показатели крови подопытных телят

Показатели	Группы	Перед началом опыта	Через 7 суток выпаивания препаратов	Через месяц выпаивания препаратов
Лейкоциты, 10^9 /л	1, n=5	7,00±0,62	6,30±0,90	7,04±0,96
	2, n=5	9,07±1,83	6,83±0,41	7,79±0,73
	3, n=5	8,53±0,73	6,24±0,80	7,08±0,90
Эритроциты, 10^{12} /л	1, n=5	7,04±0,56	6,13±0,45	7,42±0,53
	2, n=5	5,50±0,34	6,70±0,55	8,36±0,44♦
	3, n=5	7,33±0,32 •	6,30±0,39	8,04±0,48♦
Гемоглобин, г/л	1, n=5	98,46±6,44	103,76±9,51	126,33±7,62
	2, n=5	73,96±5,70	97,76±6,91	123,70±8,17
	3, n=5	100,36±17,92	90,00±5,79	108,99±5,82
Гематокрит, %	1, n=5	36,40±1,36	36,00±1,92	35,80±2,20
	2, n=5	33,80±1,39	35,40±2,25	36,40±1,86
	3, n=5	37,20±0,92	30,60±1,69 ♦	32,80±1,28

Примечания: * $p < 0,05$ к 1 группе; • $p < 0,05$ ко 2 группе; ♦ $p < 0,05$ к предыдущему исследованию.

Уровень гемоглобина в крови у животных подопытных групп в исследованные периоды времени существенно не различался, находился в пределах нормативных значений, достоверно значимых межгрупповых различий не обнаружено.

Гематокрит у животных подопытных групп перед началом опыта соответствовал нормативным значениям без существенной межгрупповой разницы. У телят 1 и 2 групп в последующие периоды исследования величина гематокрита существенно не изменялась, а у животных 3 группы его величина через 7 суток выпаивания препаратов достоверно снижалась на 13,35% по сравнению с началом опыта, а затем, через 30 суток использования препаратов несколько повышалась (на 7,19%).

Выпаивание пробиотика «Проваген» с хитозаном обусловило оптимизацию микробиоценоза кишечника, на что указывает отсутствие в содержимом толстого кишечника стафилококка золотистого, который был обнаружен у теленка контрольной группы, и тенденция к повышению числа энтерококков. При этом установлено, что доза хитозана в комбинированном препарате

0,6 г/гол/сутки была более эффективна в оптимизации микробиоценоза кишечника, чем 0,2 г/гол/сутки, так как способствовала более низкому содержанию в кишечнике условно-патогенных энтеробактерий рода Клебсиелла на 35,27 % и созданию условий, предотвращающих размножение клостридий и грибов рода Кандида.

Изучение эффективности влияния кормового пробиотика «Муцинол», содержащего лиофильно высушенную биомассу бактерий *B.subtilis*, *B.licheniformis* и хитозан совместно с комплексной витаминно-минеральной добавкой для новоржденных телят показало, что экономический эффект от применения препаратов составил на голову 292607 руб., окупаемость на 1 рубль затрат-11,82 руб. Экономический эффект от применения совместно с основным рационом и витаминно-минеральной добавкой кормового пробиотика «Иммунофлор» составил 379996 руб. на голову, окупаемость на 1 рубль затрат - 57,31 руб.

Выводы. В результате проведенных исследований получены данные, свидетельствующие о положительном влиянии скармливания композиций препаратов хитозана и пробиотических кормовых добавок «Провагена» и «Муцинола» на уровень обменных процессов в организме молодняка сельскохозяйственных животных, оптимизации микробиоценоза и гомеостаза телят.

Литература

1. Чахава О.В., Горская Е.Н. Изучение механизма действия бактериальных биологических препаратов с использованием модели безмикробных крыс //Бюллетень ВИЭВ, «Теоретические и практические основы гнотобиологии». - М., 1984.-Вып. 53.-С. 7-10.
2. Бовкун Г.Ф., Ващекин Е.П., Малик Е.В., Микробиоценоз кишечника в норме и патологии у молодняка птиц, крупного рогатого скота и целесообразность пробиотической и пребиотической коррекции. – Брянск: изд-во ФГОУ ВПО «Брянская ГСХА», 2005. - 80 с.
3. Некрасов Р.В., Кирилов М.П., Ушакова Н.А. Использование пробиотиков нового поколения в кормлении свиней //Проблемы биологии продуктивных животных. - 2010. – № 3. - С. 64-75.
4. Константинов В.А., Краснокутский Р.С. Новый отечественный пробиотик проваген //Свиноводство. - 2009. - N 5. - С. 30-31.
5. Ашихмин Д. Пробиотик «Проваген» - решение многих проблем при выращивании поросят //Свиноводство. - 2010. - № 3. - С. 46-47.

6. Бондаренко В.М. Пребиотическое и противомикробное действие лактулозо-содержащих препаратов //Фарматека. - 2004. - № 11. - С.1-5.
7. Петухов В.А. Нарушение функций печени и дисбиоз при липидном дистресс-синдроме Савельева и их коррекция пробиотиком Хилак-форте //РМЖ. -2002. - Т.10, № 4.- С. 77-89.
8. Kirilenko Y.K., Dushkova Z.G., Cherkashova E.J. et al. Chitosan oligomer and acid salt in compensation of deficiency of some micronutrients //Advances in chitin science. -2007. - Vol.10. - P. 487-491.
9. Большаков, И.Н., Насибов С.М. Связывание бактериального липополисахарида хитозаном при энтеросорбции в эксперименте: Мат.Пятой Межд.конф. «Новые перспективы в исследовании хитина и хитозана». - М.: Изд-во ВНИРО, 1999. - С. 120-122.
10. Албулов А.И., Фролова М.А., Бараковский И.А., Курченко В.П. Влияние хитозана на жизнеспособность церкарий семейства Schistosomatidae и создание на его основе защитных средств от церкариоза: мат.межд. научн.-практ.конф., посвященной 49-летию ВНИТИБП « Научные основы производства ветеринарных препаратов». - 2009. - С. 475-481.
11. Комаров Б.А., Трескунов К.А., Албулов А.И., Фоменко А.С. Применение хитозана и фитохитозидов в клинической практике: мат.Пятой конф. «Новые перспективы в исследовании хитина и хитозана». - М.: Изд-во ВНИРО, 1999. - С. 148-151.

ИССЛЕДОВАНИЕ АНИОННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ХИТОЗАНА ДЛЯ ДОСТАВКИ ДОКСОРУБИЦИНА К ОПУХОЛЕВЫМ КЛЕТКАМ

¹ А.А. Зубарева, ² А.В.Прохоров, ³ И.Г.Меерович, ¹ А.В.Ильина,
² Е.В. Свирицкая, ¹ В.П. Варламов

¹ ФГБУН Центр «Биоинженерия» РАН, Москва;

²ФГБУН ИБХ РАН, Москва;

³ФГБУН Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН, Москва

Доставка противоопухолевых препаратов на наноразмерных носителях является широко используемым подходом в терапии солидных опухолей. Это связано со способностью таких носителей к более избирательному накоплению в опухолевой ткани благодаря эффекту повышенной проницаемости сосудов опухоли (EPR- эффект). Природные полисахариды являются подходящими соединениями для создания таких наноразмерных структур. Хитозан и его производные привлекают ученых в последние годы и являются весьма перспективными для решения проблем адресной доставки лекарств.

Целью нашей работы было исследование биораспределения наноразмерной системы доставки доксорубицина (ДОКС) на основе наночастиц сукциноил- хитозана (НЧСХ-ДОКС). Для этого на первом этапе исследования