



УДК 619:579.62:616.9-036.22+636.5

В.Ю. КОПТЕВ, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник,
Н.А. ШКИЛЬ, доктор ветеринарных наук, заведующий лабораторией,
М.А. ТИТОВА, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник,
И.С. ОНИЩЕНКО, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник,
Н.Ю. БАЛЫБИНА, лаборант,
А.Л. БЫЧКОВ*, кандидат химических наук, научный сотрудник

ГНУ Институт экспериментальной ветеринарии Сибири
и Дальнего Востока Россельхозакадемии,

* Учреждение Российской академии наук СО РАН

Институт химии твердого тела и механохимии

e-mail: kastrolog@mail.ru

СОРБЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ МАННАНОЛИГОСАХАРИДОВ В ОТНОШЕНИИ МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА *SALMONELLA* В ОПЫТАХ *IN VITRO* И *IN VIVO*

Представлены исследования по использованию кормового средства, содержащего маннанолигосахариды, для обеспечения биологической чистоты продуктов птицеводства. Маннанолигосахариды (МОС) – это природные химические соединения, входящие в состав клеточных стенок дрожжей рода *Saccharomyces*. Изучение сорбционной активности кормового средства, содержащего маннанолигосахариды, проведено *in vitro* на музейных штаммах и полевых изолятах микроорганизмов рода *Salmonella*. Полученные данные свидетельствуют, что данный препарат обладает выраженной сорбционной активностью в отношении микроорганизмов *Salmonella* spp. (63,98 %). Для изучения влияния МОС на уровень контаминации мышц и внутренних органов микроорганизмами *Salmonella* spp. по принципу аналогов было сформировано 5 групп суточных цыплят яичного направления по 15 особей в каждой. Цыплятам опытных групп в рацион вводили кормовое средство, содержащее маннанолигосахариды в концентрациях 0,1; 0,5; 1 и 2 % от массы корма. Контрольным цыплятам МОС не давали, заменяя их антибиотиками. Для определения уровня контаминации мышц и внутренних органов цыплят микроорганизмами рода *Salmonella* на 30-е сутки опыта производили послеубойное вскрытие и отбор проб грудных мышц и внутренних органов: печени, содержимого тонкого и толстого отделов кишечника. Установлено, что ежедневное применение кормового средства цыплятам в концентрации 2 % от массы корма снижает уровень бактериальной обсемененности тушек и внутренних органов микроорганизмами рода *Salmonella* на 76,6 % по сравнению с контролем. Применение маннанолигосахаридов позволяет повысить биологическую безопасность продуктов птицеводства за счет уменьшения в рационе доли кормовых антибиотиков и снижения уровня контаминации мышц и внутренних органов птицы микроорганизмами рода *Salmonella*.

Ключевые слова: маннанолигосахариды, цыплята, микроорганизмы рода *Salmonella*, антибиотики.

Биологическая безопасность продукции – определяющий критерий ее качества. Среди основных факторов, влияющих на чистоту птицеводческой продукции, выделяют наличие в яйцах и мясе птицы остатков антибактериальных препаратов и обсемененность продуктов птицеводства патогенными бактериями, в том числе микроорганизмами рода *Salmonella* [1–3].

Один из вариантов решения данной проблемы – применение препаратов, обладающих избирательной сорбционной активностью в отношении патогенных бактерий. Наиболее перспективны в настоящее время кормовые средства, содержащие маннанолигосахариды.

Маннанолигосахариды – это природные химические соединения, входящие в состав клеточных стенок дрожжей рода *Saccharomyces*. В основе патогенеза сальмонеллеза лежит адгезия микробной клетки к поверхности слизистой оболочки кишечника. Закрепление происходит посредством связи бактериальных маннанзависимых лектинов с маннозными остатками на поверхности слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта. МОС, являясь альтернативной мишенью для адгезии, вступает во взаимодействие с лектинами бактериальных клеток и выводит их из организма [4].

Цель нашей работы – изучить сорбционную активность маннанолигосахаридов в отношении микроорганизмов рода *Salmonella* в опытах *in vitro* и *in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работу выполняли в 2013 г. в лаборатории болезней молодняка Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока Россельхозакадемии. В качестве источника МОС использован продукт механоферментативного гидролиза, разработанный в Институте химии твердого тела и механохимии СО РАН и полученный по методике [5] из биомассы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

Для изучения сорбционной активности кормового средства, содержащего МОС, *in vitro* использованы музейные штаммы и полевые изоляты микроорганизмов рода *Salmonella*, выделенные из патологического материала от больных животных.

Навески МОС помещали в стерильные пробирки с 0,9%-м раствором NaCl, в которые затем вносили 100 мкл микробной взвеси тестовых микроорганизмов в концентрации 1 млрд КОЕ/мл. Через 1 ч производили посев надосадочной жидкости на чашки Петри с висмут-сульфит агаром (ВСА). Посевы инкубировали в термостате 24 ч при температуре 37 °С. Учет результатов производили путем подсчета выросших на поверхности среды колоний и сравнения с результатами контрольных посевов.

В опыте по изучению влияния маннанолигосахаридов на уровень контаминации мышц и внутренних органов микроорганизмами рода *Salmonella* использовали 75 суточных цыплят яичного направления, из которых по принципу аналогов сформировали 5 групп ($n = 15$). Цыплятам опытных групп в рацион ввели кормовое средство, содержащее МОС в различных дозировках. Цыплята, получавшие антибиотики согласно наставлению по их применению, служили контролем (табл. 1).

Для моделирования заражения сальмонеллезом всем цыплятам ежедневно орально вводили суточные культуры *Salmonella enterica* и *Salmonella infantis* из расчета 1 млрд КОЕ/1 кг массы тела.

За цыплятами в течение 30 сут вели наблюдение, учитывали изменение общего клинического состояния.

Для определения уровня контаминации мышц и внутренних органов цыплят микроорганизмами рода *Salmonella* производили бактериологиче-

Таблица 1

Схема опыта	
Группа	Содержание МОС в корме, %
Опытная:	
1-я	0,1
2-я	0,5
3-я	1
4-я	2
Контрольная (антибиотики)	1–5-е сутки – норфлоксацин 11–15-е сутки – доксициклин 22–27-е сутки – амоксилав

ские исследования туш и внутренних органов птиц. Для этого на 30-е сутки опыта производили послеубойное вскрытие и отбор проб грудных мышц и внутренних органов: печени, содержимого тонкого и толстого отделов кишечника.

Выделение из патологического материала микроорганизмов рода *Salmonella* проводили с помощью питательных сред: мясо-пептонного бульона (МПБ), висмут-сульфит агара (ВСА), среды Раппопорта – Вассилиадиса (RVS-бульон). Для окончательной идентификации выделенных изолятов использовали набор ПБДЭ производства ООО НПО «Диагностические системы» и комплексные агглютинирующие сыворотки с сальмонеллезным О-антигеном [6]. Полученные данные математически обрабатывались программой «Free-matrix».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В опыте *in vitro* установлено, что кормовое средство, содержащее МОС, обладает выраженной сорбционной активностью в отношении микроорганизмов рода *Salmonella* (табл. 2). Данный показатель варьировал в зависимости от вида сальмонелл от 98 (*Salmonella pullorum*) до 29,42 % в отношении *Salmonella infantis*. В среднем сорбционная активность кормового средства, содержащего МОС, составила $63,98 \pm 7,8$ %.

Таблица 2

Сорбционная активность кормового средства, содержащего МОС в отношении микроорганизмов рода *Salmonella*, %

Вид микроорганизмов	Сорбционная активность
<i>S. enteritidis</i>	47,83
<i>S. mun A</i>	66,67
<i>S. infantis</i>	29,42
<i>S. enterica</i>	68
<i>S. virhov</i>	50
<i>S. pullorum</i>	98
<i>S. birobijani</i>	88
Среднее...	$63,98 \pm 7,8$

Таблица 3

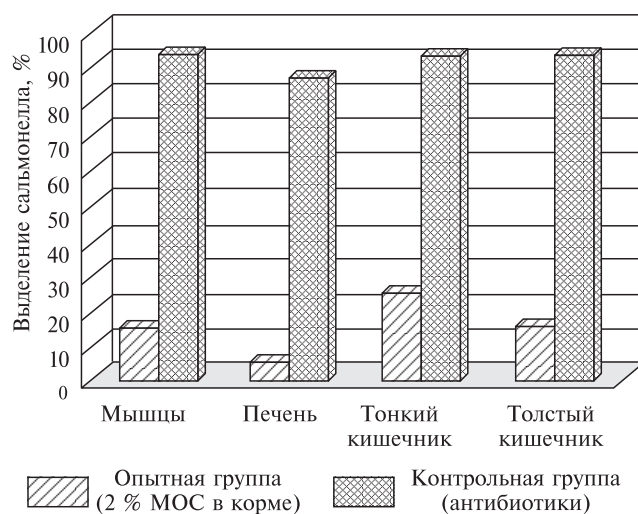
Выделение микроорганизмов рода *Salmonella* из внутренних органов цыплят, %

Группа	Мышцы	Печень	Тонкий кишечник	Толстый кишечник
Опытная:				
1-я	60	80	86,67	73,34
2-я	73,34	80	86,67	86,67
3-я	80	73,34	100	73,34
4-я	15	5	25	15
Контрольная	93,34	86,67	93,34	93,34

При изучении влияния маннанолигосахаридов на уровень контаминации мышц и внутренних органов цыплят микроорганизмами рода *Salmonella* изменений клинического состояния и падежа не происходило. Нарушений аппетита и поведенческих реакций также не наблюдалось.

В табл. 3 приведены результаты изучения влияния кормового средства, содержащего МОС, на уровень контаминации мышц и внутренних органов цыплят микроорганизмами рода *Salmonella*.

У цыплят опытных групп к 30-суточному возрасту уровень контаминации внутренних органов и тканей микроорганизмами рода *Salmonella* был ниже аналогичного показателя контрольной группы. Анализ полученных данных позволяет проследить выраженную зависимость между дозой МОС, вводимых в корм, и уровнем бактерионосительства сальмонелл. У цыплят, получавших кормовое средство, содержащее МОС в дозах от 0,1 до 1 % от массы корма (1–3-я опытные группы), наблюдалось незначительное снижение уровня бактерионосительства по сравнению с показателями контрольной группы. Максимальная разница прослеживается в пробах мышц цыплят 1-й группы – 33,34 % по сравнению с контролем. Оптимальные результаты влияния МОС на уровень контаминации мышц и внутренних органов цыплят отмечены в 4-й



Выделение микроорганизмов рода *Salmonella* из внутренних органов цыплят

группе, получавшей МОС в дозе 2 % от массы корма. Так, из печени цыплят 4-й опытной группы *Salmonella* выделялась в 5 % проб, в то время как в контрольной данный показатель составил 86,67 %. В содержимом толстого кишечника цыплят опытной группы *Salmonella* присутствовала в 15 % проб (93,34 % в контроле). Аналогичный уровень контаминации микроорганизмами рода *Salmonella* отмечен и в пробах мышц (4-я опытная группа – 15 %, контрольная – 93,34 %). Несколько повышенными оказались показатели бактерионосительства в пробах содержимого тонкого кишечника – разница между опытной и контрольной группами составила 68,34 % (см. рисунок).

Полученные результаты позволяют рекомендовать кормовое средство, содержащее МОС в дозе 2 % от массы корма, для снижения уровня бактериальной обсеменности тушек птиц эпидемиологически значимыми штаммами микроорганизмов рода *Salmonella*.

ВЫВОДЫ

1. Кормовое средство, содержащее маннанолигосахариды, обладает выраженной сорбционной активностью в отношении микроорганизмов рода *Salmonella* – от 98 % в отношении *Salmonella pullorum* до 29,42 % – *Salmonella infantis*.

2. Применение кормового средства, содержащего маннанолигосахариды, новорожденным цыплятам ежедневно в дозе 2 % от массы корма, позволяет снизить уровень бактериальной обсеменности тушек и внутренних органов птиц эпидемиологически значимыми штаммами микроорганизмов рода *Salmonella* на 76,6 % по сравнению с контролем.

3. Применение маннанолигосахаридов позволяет повысить биологическую безопасность продуктов птицеводства за счет уменьшения в рационе доли кормовых антибиотиков и снижения уровня контаминации мышц и внутренних органов птицы микроорганизмами рода *Salmonella*.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Бакулин В.А. Болезни птиц. – СПб., 2006. – С. 285–295.
2. Болезни домашних и сельскохозяйственных птиц / под ред. Кэлнека и др. – М.: Аквариум Бук, 2003. – С. 119–147.
3. Куриленко А.Н., Крупальник В.Л., Пименов Н.В. Бактериальные и вирусные болезни молодняка сельскохозяйственных животных. – М.: КолосС, 2005. – С. 28–44.
4. Белоусова Н.И., Гордиенко С.В., Ерошин В.К. и др. Получение смесей аминокислот на основе автолизатов дрожжей *Saccharomyces*, выращенных на эталоне или сахарах // Биотехнология. – 1990. – № 3. – С. 6–9.
5. Bychkov A.L., Korolev K.G., Lomovsky O.I. Obtaining mannanoligosaccharide preparations by means of the mechanoenzymatic hydrolysis of yeast biomass // Applied Biochemistry and Biotechnology. – 2010. – Vol. 162. – P. 2008–2014.
6. Скородумов и др. Микробиологическая диагностика бактериальных болезней животных. – М.: ИзографЪ, 2005. – С. 388–413.

Поступила в редакцию 20.03.2014

V.YU. KOPTEV, Candidate of Science in Veterinary Medicine, Senior Researcher,
N.A. SHKIL, Doctor of Science in Veterinary Medicine, Laboratory Head,
M.A. TITOVA, Candidate of Science in Veterinary Medicine, Senior Researcher,
I.S. ONISHCHENKO, Candidate of Science in Veterinary Medicine, Senior Researcher,
N.YU. BALYBINA, Laboratory Assistant,
A.L. BYCHKOV*, Candidate of Science in Chemistry, Researcher

*Institute of Experimental Veterinary Science of Siberia and the Far East,
Russian Academy of Agricultural Sciences,*

**Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry,
Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
e-mail: kastrolog@mail.ru*

SORPTION ACTIVITY OF MANNAN OLIGOSACCHARIDES AGAINST MICROORGANISMS OF THE GENUS SALMONELLA IN EXPERIMENTS IN VITRO AND IN VIVO

There are presented studies on using a feed additive containing mannan oligosaccharides to ensure the biological purity of poultry products. Mannan oligosaccharides (MOS) are natural chemical compounds derived from cell walls of the yeast *Saccharomyces*. In vitro studies of the sorption activity of the feed additive containing mannan oligosaccharides were conducted on museum strains and field isolates of microorganisms of the genus *Salmonella*. Data resulting from research indicate that the feed additive has pronounced sorption activity against microorganisms *Salmonella* spp. (63.98 percent). To study the effect of mannan oligosaccharides on the contamination of the muscles and internal organs by microorganisms *Salmonella* spp., 5 groups in 15 of day-old egg-type chicks were formed. The chicks of the experimental groups were fed a diet with MOS at concentrations of 0.1; 0.5; 1 and 2 percent of feed weight. The chicks of the control group were fed a diet with antibiotics instead of MOS. To determine a contamination level in the muscles and internal organs of chicks by microorganisms *Salmonella* spp., on the 30th day of the experiment was made a post-slaughter examination and sampling of muscles, liver, small and large intestinal contents. It has been established that the daily application of the feed additive, containing MOS at the concentration of 2 percent of the feed weight, reduces the bacterial contamination of chicks' carcasses and internal organs by microorganisms of the genus *Salmonella* by 76.6 percent, as compared with the control. The use of MOS allow us to improve the biological safety of poultry products owing to decreased part of feed antibiotics in a diet and reduction in contamination level in the muscles and internal organs of chicks.

Keywords: mannan oligosaccharides, chicks, microorganisms of the genus *Salmonella*, antibiotics.
