

На правах рукописи

Мас

МАКАВЧИК СВЕТЛАНА АНАТОЛЬЕВНА



**Колибактериоз птиц: особенности экспресс -
диагностики, профилактики и лечения**

16.00.03 – ветеринарная микробиология, вирусология,
эпизоотология, микология с микотоксикологией
и иммунология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

06 МАР 2008

Санкт-Петербург 2007

Работа выполнена в Федеральном государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Научный руководитель: доктор биологических наук
Сухинин Александр Александрович

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, профессор,
заслуженный деятель науки РФ
Борисенкова Адель Наумовна

кандидат ветеринарных наук, доцент
Щепеткина Светлана Владимировна

Ведущая организация: Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Донской государственный аграрный университет»

Защита состоится "21" февраля 2008 г в 13 часов на заседании диссертационного совета Д 220 059 03 при ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины (196084, Санкт-Петербург, Черниговская, 5)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Автореферат разослан "16" января 2008 года и размещён на сайте [http // srbgavm.ru](http://srbgavm.ru) "16" января 2008 г

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук



Белова Л. М.

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В настоящее время в России, как и в мире вообще, остается актуальной проблема острых кишечных инфекций, характеризующихся полиэтиологичностью, значительной вариабельностью антигенного состава возбудителей, длительной антигенной и токсической стимуляцией иммунокомпетентных клеток хозяина. При этом одно из ведущих мест в инфекционной патологии по своей значимости занимает колибактериоз, на долю которого приходится около 50 – 60 % падежа птиц, вызванных условно-патогенной микрофлорой (Яременко Н А , Яковлев С С , 1998, Яковлев С С , 2000, Виноходов В О , 2000, Венгеренко Л А , 2003, Борисенкова А Н с соавт , 2004, Галазин Н М и др , 2007 г)

Причинами этого является широкое, повсеместное распространение возбудителя болезни, высокий уровень заболеваемости, а также появление антибиотикоустойчивых штаммов из-за бесконтрольного применения антибиотиков, и, как следствие, изменение взаимоотношений микроорганизма с макроорганизмом, нарушение микробиоценоза, повышенная заболеваемость птиц, снижение продуктивности (Никитин В Я с соавт , 1999, Тараканов Б В , Николичева Т А , 2000, Малик Н.И , Панин А Н , 2007)

Поэтому постоянный контроль бактериального фона, качества кормов и дезинфекции объектов внешней среды, своевременное проведение лечебных и профилактических мероприятий – это необходимость и залог успеха в получении доброкачественной и безопасной продукции (Борисенкова А Н , 2001)

Несмотря на широкое внедрение в бактериологическую практику методов генодиагностики и геноиндикации, классический бактериологический метод остается "золотым стандартом" при диагностике большинства инфекционных болезней. Основной его недостаток – длительность исследования

По этой причине общепринятые методы бактериологического контроля не всегда удовлетворяют запросам производства. Поэтому разработка метода экспресс-диагностики, являющегося экономичным и в то же время достаточно информативным, возможным для применения в условиях птицеводств, представляет несомненный интерес, как для науки, так и для практики.

Для лечения колибактериоза широко используются антибиотики. В то же время, как показывает мировой опыт их применения, они не всегда обладают должной эффективностью (Тараканов Б В , Николичева Т А , 2000, Тулемисова Ж К , 2003). Поэтому не случаен интерес к использованию с целью профилактики и лечения болезни пробиотиков – препаратов, содержащих естественную микрофлору кишечника (Тараканов Б В , Николичева Т А , 2000, Поспелова В В , 2002, Шевелева С А с соавт , 2002, Панин А Н , 2007 и др). Однако, несмотря на перспективность их применения, отказаться от антибактериальных средств сложно. Поэтому наилучшим выходом, по нашему мнению, является разработка таких пробиотических препаратов, которые устойчивы к применяемым в хозяйстве антибиотикам. При этом необходимо производить подбор как пробиотических, так и антибактериальных средств, исходя из их совокупного действия друг на друга и на организм хозяина.

Учитывая вышесказанное, **цель работы** – разработка метода экспресс - диагностики колибактериоза птиц, профилактики и лечения с использованием лактобактерий в сочетании с антибиотиком фторхинолонового ряда.

Для реализации цели были поставлены следующие задачи:

- 1 Провести ретроспективный анализ условно патогенной микрофлоры, выделенной от птиц
- 2 Разработать технологию приготовления питательной среды для экспресс - диагностики энтеробактерий
- 3 Провести биологические испытания среды и изучить возможность использования для выделения, идентификации доминирующих видов микроорганизмов от птиц разных видов и возрастов на птицефабриках различного технологического направления
- 4 Разработать эффективное средство лечения и профилактики колибактериоза птиц
- 5 Провести комиссионные испытания новой питательной среды «АВМ» и препарата «Лактофторхин»

Научная новизна. Предложен метод экспресс-диагностики колибактериоза птиц с использованием новой универсальной питательной среды, которая позво-

ляет проводить бактериологический контроль микрофлоры воздуха птицеводческих помещений и патологического материала. Получено положительное решение о выдаче патента на изобретение «Диагностическая питательная среда «АВМ»» № 2006139845/13(043446) (приоритет 03.11.2006г.)

Проведены биологические испытания питательной среды. Изучены ростовые свойства, чувствительность к разным видам микроорганизмов, эффективность для роста микроорганизмов, влияние среды на типичность микроорганизмов, на их морфологию, характер окраски по Граму, форму роста, сахаролитическую способность микроорганизмов.

Разработан и апробирован эффективный метод профилактики и лечения колибактериоза с использованием нового препарата «Лактофторхин». Получено положительное решение формальной экспертизы по заявке на патент «Препарат для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта «Лактофторхин»» № 2006137178 (040477) от 23.10.2006г.

Практическая значимость. Предложенный метод экспресс-диагностики колибактериоза позволяет ветеринарным специалистам в короткие сроки определить спектр микрофлоры и своевременно проводить необходимые ветеринарно-санитарные мероприятия.

Разработаны нормативно-технические документы

- технические условия «Питательная среда для экспресс-диагностики энтеробактерий»,
- «Методические рекомендации по выделению и идентификации энтеробактерий с использованием новой питательной среды», которые утверждены на методическом совете ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» (протокол №2 от 08.11.2007г.) и используются в работе врачами-бактериологами лабораторий птицефабрик и бактериологических отделов ветеринарных лабораторий,
- технические условия «Препарат «Лактофторхин» для лечения бактериальных болезней и профилактики дисбактериоза»;
- «Методические рекомендации по использованию препарата «Лактофторхин» для лечения бактериальных болезней и профилактики дисбактериоза»,

которые утверждены на методическом совете ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» (протокол №2 от 08.11.2007г) и используются в работе ветеринарными специалистами птицефабрик

Основные положения диссертации используются в учебном процессе, в преподавании микробиологии, вирусологии и иммунологии студентам по специальностям 110501 Ветеринарная санитарная экспертиза, 310800 – Ветеринария в ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская академия ветеринарной медицины»

Апробация работы Основные положения и результаты исследований заслушаны и обсуждены на научных конференциях профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ (Санкт-Петербург 2004, 2005, 2006, 2007г) на международной юбилейной научно-практической конференции «Новое в эпизоотологии, диагностике и профилактике инфекционных и незаразных болезней птиц в промышленном птицеводстве» (Санкт-Петербург, Ломоносов, 2004г), на международной научно-производственной конференции «Актуальные проблемы эпизоотологии на современном этапе» (Санкт-Петербург, 2004 г), на II Всероссийской конференции молодых ученых и специалистов аграрных образовательных и научных учреждений «Инновации молодых ученых – сельскому хозяйству России» (Москва, 2005 г)

Основные положения, выносимые на защиту

- 1 Экспресс диагностика колибактериоза птиц с использованием предлагаемой новой питательной среды «АВМ»
- 2 Лечение и профилактика колибактериоза с использованием препарата «Лактофторлин»

Публикация результатов исследований. По теме диссертации опубликовано 8 научных работ

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 156 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, библиографического списка использованной литературы, приложения. Работа иллюстрирована 29 таблицами, 2 диаграммами, 4 гистограммами, 4 рисунками,

схемой и графиком. Список использованной литературы включает 237 источника, в том числе 71 иностранных авторов

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы исследований

Работа выполнена в период с 2003 по 2007 год в ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Биологические испытания питательной среды проведены согласно ГОСТ Р 51758-2001

Культуры тест-штаммов микроорганизмов *Enterococcus faecium* ATCC 6057 DCM 2146, *Escherichia coli* ATCC 11229 DCM 787, *Proteus mirabilis* ATCC 14153 DCM 788, *Salmonella typhimurium* ATCC 13531 DCM 1386 получены из музея Всероссийского научно-исследовательского института антибиотиков и ферментных препаратов медицинского назначения (г. Санкт-Петербург), штамм *Escherichia coli* №389 (078) из ФГУ «ВГНКИ»

В экспериментальных исследованиях были использованы цыплята – бройлеры кросса Иза Уайт и кросса Иза Флекс. Птиц содержали в виварии, в клеточных батареях типа БКМ-3Б. Кормление осуществляли согласно "Рекомендациям по нормативному кормлению сельскохозяйственной птицы" (МСХ СССР, 1983)

Для экспериментальных и производственных испытаний подопытные и контрольные группы формировали по принципу аналогов

Материалом для исследований служили пораженные органы павших и вынужденно убитых птиц разных видов и возрастов, групповые пробы помета, смывы с тушек и пробы воды из инкубационных залов

Антагонистическую активность штаммов Д-75 и Д-76 живых молочнокислых бактерий *Lactobacillus acidophilus*, входящих в состав «Лактофторхин», в опытах *in vitro* изучали методом штриховых посевов в соответствии с фармакологической статьей 42-252 ВС-89 в отношении тест-штаммов *Escherichia coli* O78 и по отношению к культурам микроорганизмов, выделенных от павшей и вынужденно убитой птицы

Выделение, видовую и родовую идентификацию культур микроорганизмов проводили в соответствии с регламентирующими документами

Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам проводили методом диффузии антимикробного вещества из диска в засеянную питательную среду («метод дисков») или методом серийных разведений (Сбойчаков В Б и соавт., 2000)

Эффективность применения «Лактоферхин» оценивали по следующим микробиологическим показателям: состояние микробиоценоза кишечника цыплят, выделение и идентификация микроорганизмов из внутренних органов павшей и вынужденно-убитой птицы, клиническому состоянию птицы, производственным показателям (сохранность, прирост массы тела, расход корма, срок откорма, масса одной головы при убое)

Изучение микробиоценоза кишечника проводили по методике Р В Эпштейн-Литвак (1982). О количественном и качественном составе микрофлоры кишечника птиц судили по бактериологическим исследованиям фекалий

Для выделения различных групп микроорганизмов из фекалий птиц использовали среду Блаурокка для рода *Bifidobacterium*, МРС - 4 для рода *Lactobacillus*, элективную среду для рода *Enterococcus*, среду Эндо для бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, агар с мочевиной для рода *Proteus*, мясо - пептонный агар для аэробных бацилл рода *Bacillus*, желточно - солевой агар, кровяной агар для рода *Staphylococcus*, агар Сабуро для дрожжеподобных грибов рода *Candida*

В процессе выполнения диссертационной работы проведены бактериологические исследования 171 групповой пробы помета от птицы 3-50 - дневного возраста, бактериологические исследования 257 проб органов от павшей и вынужденно убитой птицы, сделано 628 посевов и выделено 640 культур 14 видов микроорганизмов

Экономическую эффективность рассчитывали в соответствии с «Методикой определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий», утвержденной Департаментом ветеринарии РФ (1997 год)

Результаты экспериментальных исследований обрабатывали статистически с использованием критерия Стьюдента, придерживаясь правил вариационной статистики (Лакин Г Ф , 1990) и электронных таблиц Microsoft Excel for Windows

Пользуясь случаем, автор сердечно благодарит кандидата ветеринарных наук Виноходова В О , старшего научного сотрудника ГНИИ ОЧБ, кандидата биологических наук Вербицкую Н Б , старшего научного сотрудника ГНИИ ОЧБ Батарина В И за неоценимую помощь при выполнении диссертации и всех, кто оказал помощь в организации и проведении исследований по теме работы, а также сотрудников, которые перечислены в качестве соавторов в списке публикаций по теме диссертации

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Характеристика новой питательной среды

С целью экспресс-диагностики нами разработана и предложена новая питательная среда «АВМ» для выделения энтеробактерий Она отличается от ранее применяемых сред универсальным набором индикаторов нейтральным красным, бромтимоловым синим и метиловым красным Индикаторы имеют различную окраску в кислой и щелочной среде, четко улавливают незначительные изменения рН среды, обладают хорошо выраженными переходными тонами, широким диапазоном чувствительности, поэтому их мы и использовали в нашей среде

Использование среды «АВМ» позволяет выделить энтеробактерии из различных объектов из пораженных внутренних органов павших птиц, из помета живых клинически здоровых кур, из воздуха животноводческих помещений, среда может использоваться для проведения бактериологического контроля качества дезинфекции

В предварительных экспериментальных исследованиях нами был отработан оптимальный состав среды, содержащий в 1л 7,5 – 9,5 г минеральных солей, 8 – 12 г лактозы, 0,3-0,7 г маннита, красителей 0,03-0,05 г нейтрального красного, 0,01-

0,02 г метилового красного и 0,01-0,03 г. бромтимолового синего, 5-10 г агар-агара (таблица 1)

Таблица 1 – Состав новой экспериментальной питательной среды «АВМ»

Реагент		На 1 литр (г)	На 1 набор (г)
NaCl	чда	3,64	1,1
Na ₂ HPO ₄ ×12H ₂ O	хч	1,36 (0,54 б/в)	0,41 (0,16 б/в)
(NH ₄) ₂ SO ₄	чда	1	0,3
K ₂ SO ₄	чда	2	0,6
MgSO ₄ ×7H ₂ O	чда	0,5	0,15
Na ₂ CO ₃ б/в	хч	0,45	0,135
Na ₂ SO ₃ б/в	чда	0,2	0,06
Лактоза	чда	20	6
Маннит	чда	1	0,3
Пептон из мяса фермент	Фарм	15	4,5
Дрожжевой экстракт	ICN	1	0,3
Метилловый красный	чда	0,017	0,0051
Нейтральный красный	чда	0,036	0,011 (0,022)
Бромтимоловый синий	чда	0,027	0,0081 (0,0162)
Агар-агар (порошок)	Difco	10	3
ИТОГО		56,23 (55,41)	16,87(16,623)

Примечание в скобках приведены количество индикаторов для среды с усиленным визуальным эффектом

Указанные количества компонентов являются оптимальными. Изменение их в сторону увеличения или уменьшения снижает эффективность роста микроорга-

низмов, ухудшает эксплуатационные характеристики среды, что влияет на плотность и прозрачность

Все компоненты, входящие в состав питательной среды «АВМ», соответствуют потребностям изучаемых штаммов *Enterococcus faecium* ATCC 6057 DCM 2146, *Escherichia coli* ATCC 11229 DCM 787, *Proteus mirabilis* ATCC 14153 DCM 788, *Salmonella typhimurium* ATCC 13531 DCM 1386, *Escherichia coli* №389 (078)

Внешний вид, цвет наличие механических примесей определяли по ГОСТ 19618-0-78 визуально, запах – органолептически Порошок (концентрат) среды просматривали в проходящем и отраженном свете, встряхивая его

Качественные характеристики порошка среды приведены в таблице 2

Таблица 2 – Органолептические показатели сухого концентрата среды (порошка)

№ п/п	Наименование показателя	Характеристика и норма
1	Внешний вид	Мелкодисперсный, однородный порошок
2	Цвет	Фиолетовый
3	Запах	Специфический пептона
4	Наличие технических примесей	Не допускается

Срок годности среды при температуре хранения +2 до +20° С в течение 12 месяцев

Необходимо избегать влажности, так как увлажнение приводит к изменению внешнего вида (более темная окраска, комкование и т д) и свойств, а часто к порче

Нами установлено, что концентрация сахаров (лактозы от 8 г/л до 12 г/л и маннита от 0,5 до 0,8 г/л) и индикаторов (нейтральный красный от 0,03 г/л до 0,05 г/л, бромтимоловый синий от 0,01 г/л до 0,032 г/л и метиловый красный от 0,01 г/л до

0,022 г/л) оказывали влияние на идентификацию колоний по цвету. Изменения цвета среды зависели от образования кислоты или щелочи при ферментативной деятельности микробов.

В зависимости от вида и особенностей микроорганизмов цвет среды был красным (*Escherichia*), оранжевым (*Citrobacter*), или не изменялся (*Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*).

Колонии микроорганизмов также изменяли окраску *Escherichia coli* приобрета-ли малиново-красный, *Salmonella enteritidis* – лимонно-зеленый, *Klebsiella pneumoniae* – серо-розовый, *Citrobacter freundii* – оранжевый (таблица 3)

Таблица 3 – Видовой состав тест-штаммов

Среда	Цвет среды до посева	Индикатор	Цвет колонии и среды в зависимости от ферментации лактозы	
Новая питательная среда «АВМ»	Коричневая с зеленоватым оттенком (бурая)	Нейтральный красный, бромтимоловый синий, метиловый красный	<i>Escherichia coli</i>	Красный
			<i>Salmonella enteritidis</i>	Цвет среды красный
				Лимонно-зеленый
			<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Цвет среды не изменяется
				Серо-розовый
<i>Citrobacter freundii</i>	Цвет среды не изменяется			
			Оранжевый	
			Цвет среды	оранжевый

Установили, что испытываемая питательная среда соответствует требованиям ГОСТ Р 51758-2001 по ростовым свойствам, чувствительности питательной среды к разным видам микроорганизмов, эффективности для роста микроорганизмов и влиянию на типичность микроорганизмов – соответствие совокупности свойств микроорганизма, выросшего на испытываемой среде, установленным свойствам типа, вида и штамма: тип дыхания, морфология, окраска по Граму, формы роста в питательных средах и биохимические свойства.

В сравнительном аспекте изучены экспресс - методы диагностики колибактериоза, которые использовались нами дополнительно для более точной видовой идентификации

3.2. Характеристика нового препарата «Лактофторхин» для лечения и профилактики колибактериоза

Нами впервые для лечения и профилактики колибактериоза предложен новый препарат «Лактофторхин», включающий в себя пробиотик и антибиотик. Такое сочетание нами выбрано не случайно, так как полностью отказаться от применения антибиотиков в настоящее время не представляется возможным. Не смотря на широкий выбор пробиотиков ветеринарным специалистам не всегда удается сделать оптимальный их выбор из-за отсутствия в наличии антибиотикограммы пробиотиков.

Эффективность препарата «Лактофторхин» достигается при одновременном заселении полезными микроорганизмами желудочно-кишечного тракта птиц и подавлении развития патогенных и условно патогенных бактерий антибиотиком фторхинолонового ряда.

При выборе молочно - кислых бактерий, мы предъявляли к ним следующие требования: интенсивное развитие на различных питательных средах, проявление антагонизма к патогенным и условно - патогенным для птиц микроорганизмам, обладание адгезивностью к слизистой кишечника, что определяет длительность лекарственного действия препарата, обладание устойчивостью к максимально широкому кругу антибиотиков, не содержание плазмид.

Такие свойства обнаружены у молочнокислых бактерий *Lactobacillus acidophilus* штаммов Д-75 и Д-76, которые использовали в качестве пробиотика.

Живые молочнокислые бактерии *Lactobacillus acidophilus* штаммов Д-75 и Д-76 обладают природной резистентностью к широкому спектру антибиотиков (энрофлоксацину, канамицину, тобрамицину, полимиксину). Природная резистентность является постоянным видовым признаком микроорганизмов.

Применяя *Lactobacillus acidophilus* совместно с антибиотиками мы с одной стороны предупреждаем гибель биокультуры, что позволяет лактобактериям проявлять свое положительное воздействие, а с другой – компенсировать побочное действие антибиотиков на организм животного при лечении и профилактике

При выборе антибиотика мы остановили свой выбор на широко применяемом в птицеводстве энрофлоксацине, обладающим широким антибактериальным спектром против грамположительных и грамотрицательных бактерий и микоплазм, действующим на патогенную и условно-патогенную микрофлору, но не влияющим на штаммы лактобактерий, входящие в состав «Лактофторхин»

Установлено, что 11,77% микроорганизмов, выделенных от птиц были малочувствительны к энрофлоксацину из группы фторхинолонов, а 88,23% - были чувствительны и высокочувствительны В то же время наблюдали более низкий процент *E coli*, резистентных к энрофлоксацину

Препарат «Лактофторхин» имеет вид гомогенной взвеси желтовато-белого цвета, без паличия плесени и не разбивающихся комочков, с кисломолочным запахом Хорошо ресуспензируется в воде при pH 7,2-7,5 в виде гомогенной взвеси Не содержит посторонней микрофлоры, безвреден и обладает высокой антагонистической активностью по отношению к тест-штаммам *Escherichia coli* O78,O02, *Salmonella enteritidis* Наряду с этим препарат проявляет выраженный антагонизм в отношении клинических изолятов *E coli*, *S aureus*, *K pneumonia*, *C freundii*, *B subtilis*

Срок годности препарата «Лактофторхин» 6 месяцев при температуре хранения в холодильнике +4 °С Количество жизнеспособных клеток *Lactobacillus acidophilus* снижается незначительно и составляет 2,8-3,0 x 10⁶ в 1г препарата, что является нормой

3.3. Комиссионные и производственные испытания питательной среды

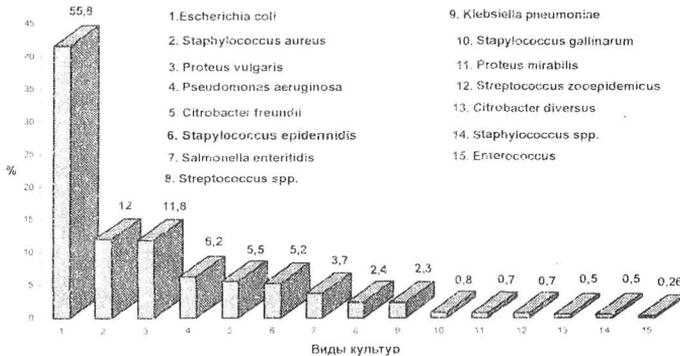
По окончании экспериментальных исследований с положительным результатом были проведены комиссионные испытания среды для выделения и идентификации

энтеробактерий в ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» в соответствии с программой, утверждённой ректором.

После этого питательная среда была испытана в условиях птицеводств, где объектами исследований были трупы цыплят и кур всех возрастов, групповые пробы помёта, смывы с оборудования на различных этапах технологического процесса птицефабрик.

Из всех объектов было выделено 928 культур микроорганизмов 15 видов, среди которых наибольший удельный вес приходился на *E. coli* - 55,8%. Значительный процент составили микроорганизмы родов *Staphylococcus*, *Streptococcus* – 21,8%. *Proteus* и *Pseudomonas* составили соответственно 12,5% и 6,2%. В 3,7% случаев была выделена - *Salmonella enteritidis*. Спектр микрофлоры, выделенной в птицеводствах представлен на гистограмме 1.

Гистограмма 1 - Спектр микрофлоры, выделенной
в птицеводствах



При бактериологическом исследовании трупов нами было выделено 640 культур 14 видов. *Escherichia coli* определялась в 45,1% случаев, *Staphylococcus aureus* в 14,1% и *Proteus vulgaris* в 11,7%.

Спектр микрофлоры, выделяемой из помёта, в каждом отдельном хозяйстве различен и зависит от эпизоотической ситуации на данной птицефабрике. Нами ис-

следовано 288 культур 9 видов микроорганизмов Доминирующими являются *Escherichia coli*, удельный вес которой составил 48%, *Proteus vulgaris* - 19%, *Citrobacter freundii* - 15% и *Staphylococcus aureus* - 2,7% В 2,7% случаев была выделена - *Salmonella enteritidis*

3.4. Производственные испытания «Лактофторхина»

Установлено, что «Лактофторхин» позволяет в течение 3 дней восстановить уровень бифидофлоры с $6,90 \pm 0,36$ lg КОЕ/г до $9,45 \pm 0,55$ lg КОЕ/г ($P < 0,001$), увеличить количество молочнокислых бактерий на 0,98 lg КОЕ/г ($P < 0,001$), уменьшить численность бактерий группы кишечной палочки на 2,5 lg КОЕ/г ($P < 0,001$) и стафилококков на 1,94 lg КОЕ/г ($P < 0,001$), а также полностью исключить из организма лактозонегативные энтеробактерии Использование препарата способствовало с одной стороны восстановлению микробиоценоза в короткие сроки, с другой - повышало сохранность за счет снижения падежа от бактериальных болезней

Действие препарата не ограничивается влиянием только на микробиоценоз кишечника Применение «Лактофторхин» цыплятам-бройлерам в дозе $2,8-3 \times 10^6$ микробных тел на голову в сутки, ежедневно, один раз в день, с 5 по 8 день выращивания, повышало среднесуточный прирост массы тела на 2,1 г или 5% ($P < 0,01$), массу одной головы при убое на 131 г или 7,3% ($P < 0,01$) по сравнению с контрольной птицей

Таким образом, в ходе исследований нами получены данные, подтверждающие ростостимулирующее действие препарата «Лактофторхин» Точный механизм его действия до конца не выяснен Мы придерживаемся мнения, высказанного некоторыми авторами (Зинченко Е В, Панин А В, Тараканов Б В, 2000, Jin L et al, 2000, Sindhu S C et al, 2002), считающими, что подобный эффект связан со способностью лактобацилл вырабатывать пищеварительные ферменты, улучшающими переваримость корма.

Эффективность действия «Лактофторхин» оценивали по сохранности поголовья, среднесуточному приросту массы тела, массе одной головы при убое, проценту выбраковки, выходу продукции

В подопытной группе процент сохранности был на 2,9% ($P < 0,05$) выше по сравнению с контролем, процент выбраковки птицы, получавшей «Лактофторхин», меньше на 1,4% ($P < 0,05$) Применение препарата позволило увеличить среднесуточный прирост массы на 2,1 г или 5% ($P < 0,01$), а массу одной головы при убое на 131 г или 7,3% ($P < 0,01$) по сравнению с контрольной группой

Результаты наших экспериментов, проведенные в птицеводствах, свидетельствуют о положительном влиянии «Лактофторхин» на производственные показатели

Экономический эффект от применения «Лактофторхин» составляет 3,66 руб на рубль затрат

4. ВЫВОДЫ

1 Спектр микрофлоры, выделяемой от разных видов птиц на птицефабриках различного технологического направления достаточно широк и включает в себя 15 видов микроорганизмов Доминирующим является *Escherichia coli*, удельный вес которой составляет 55,8%

2 Для ускоренного выделения и идентификации энтеробактерий разработана новая питательная среда «АВМ», отличающаяся от известных питательных сред набором компонентов, что позволяет в течение 24 часов проводить не только качественный, но и количественный анализ

3 Питательная среда «АВМ» соответствует требованиям ГОСТ Р 51758-2001 по ростовым свойствам, чувствительности к разным видам микроорганизмов, эффективности для роста микроорганизмов, влиянию на типичность микроорганизмов

4 Разработан новый комбинированный препарат «Лактофторхин», для лечения и профилактики колибактериоза

Его эффективность достигается при одновременном заселении полезными микроорганизмами желудочно-кишечного тракта птиц и подавлении развития патогенных и условно патогенных бактерий с помощью антибиотика

5 Назначение препарата «Лактофторхин» в дозе 2,8-3,0 x 10⁶ КОЕ *Lactobacillus acidophilus* и 3 мг/кг энрофлоксацина в течение 3 дней при колибактериозе восстанавливает микрофлору кишечника (молочнокислые бактерии, бифидобактерии, энтерококки, энтеробактерии), позволяет снизить частоту выделения кишечной палочки

6 Препарат «Лактофторхин» повышает среднесуточный прирост цыплят – на 5% (P<0,01), убойную массу на 7,3% (P<0,01), сохранность на 2,9% (P< 0,05)

7 Экономический эффект от применения «Лактофторхин» составляет 3,66 руб на рубль затрат

5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для оценки эпизоотической ситуации в отношении бактериальных болезней птиц рекомендуем новую питательную среду «АВМ» для экспресс-диагностики как эффективный метод контроля эпидемиологически опасных и условно-патогенных микроорганизмов, выделяемых от птиц, что даёт возможность быстрого выбора средств для нормализации микрофлоры кишечника и профилактики болезней бактериальной этиологии

2 Разработаны технические условия «Питательная среда для экспресс-диагностики энтеробактерий»; «Методические рекомендации по выделению и идентификации энтеробактерий с использованием новой питательной среды», которые используются в работе врачами-бактериологами лабораторий птицефабрик и бактериологических отделов ветеринарных лабораторий

3 Предложен научно обоснованный, экономически эффективный препарат «Лактофторхин» и разработаны технические условия «Препарат «Лактофторхин» для лечения бактериальных болезней и профилактики дисбактериоза», «Методические рекомендации по применению «Лактофторхин» для лечения бактериальных болезней и профилактики дисбактериоза»

4 Материалы, изложенные в диссертации, используются в учебном процессе на кафедрах микробиологии, вирусологии и иммунологии, эпизоотологии и болезней птиц.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1 Виноходов В О , Сухинин А А , Виноходова Е М , Макавчик С А Новая питательная среда для ускоренного определения энтеробактерий Материалы межвузовской научной конференции проф - преподавателей состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ., СПб, 2003 - С 58-59

2 Виноходов В О , Беряльцева Н И , Сухинин А А., Макавчик С А Дифференциальная диагностика аспергиллеза и легочной формы *S enteritidis* – инфекции у цыплят первого возраста // Ветеринария в птицеводстве, 2004 - №4 - С 4-6

3 Евглевский А А , Пашкова Л П , Макавчик С А Среда для выделения и культивирования кишечной палочки и сальмонелл // Ветеринарный консультант - 2004 - № 22 – с 19

4 Сухинин А А , Виноходов В О , Макавчик С А Экспресс-диагностика энтеробактерий Материалы международной юбилейной научно-практической конференции ВНИВИП-СПб изд-во СПбГАВМ, 2004 - С 128-129

5 Сухинин А А , Виноходов В О , Макавчик С А Фторхинолоны анализ результатов широкого изучения и применения в отечественном птицеводстве // Ветеринария в птицеводстве, 2005 - №3 (6) - С 9-18

6. Сухинин А А , Виноходов В О , Макавчик С А Изучение спектра энтеробактерий с использованием новой питательной среды на птицефабриках // Ветеринарная патология, 2006 - №1 (20) - С 169-173

7 Макавчик С А Новая питательная среда для диагностики энтеробактерий Инновации молодых учёных – сельскому хозяйству России // Сб материалов Всероссийской конф – М : ФГНУ «Росинформагротех», 2006 – С. 52-54

8 Сухинин А.А , Макавчик С А Изучение энтеробактерий у птиц с использованием новой питательной среды для быстрого выделения и экспресс-идентификации // Ветеринария в птицеводстве, 2007. - №3 (32) - С 27-30

Тиражирование и брошюровка выполнены в учреждении
«Университетские телекоммуникации»
197101, Санкт-Петербург, Саблинская ул , 14
Тел (812) 233 4669 объем 1 п л
Тираж 100 экз