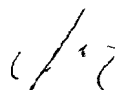


На правах рукописи



ДОРОНИН ЕВГЕНИЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ

**ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
ПРИМЕНЕНИЯ ПРОБИОТИКОВ В РАННИЙ
ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД У ТЕЛЯТ**

16.00 01- диагностика болезней и терапия животных

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Санкт Петербург - 2005

Работа выполнена на кафедре анатомии и внутренних незаразных болезней животных ФГОУ ВПО «Пермская государственная сельскохозяйственная академия им. академика Д.Н. Прянишникова».

Научный руководитель

доктор ветеринарных наук,
профессор Егорова Галина
Геннадьевна

Официальные оппоненты:

заслуженный деятель науки РФ
заслуженный деятель науки РТ
доктор ветеринарных наук,
профессор Папуниди
Константин Христофорович

доктор ветеринарных наук,
доцент Ковалев Сергей
Павлович

Ведущая организация - ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет»

Защита состоится «31» марта 2005 г. в «13 » часов на заседании диссертационного совета Д 220.059.01 в ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» по адресу: 196084 г. Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины

Автореферат разослан «26» февраля 2005 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета, доцент

Никишина И.В.

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Незаразные болезни молодняка сельскохозяйственных животных в первые дни жизни широко распространены в животноводстве и являются одной из основных проблем ветеринарной практики. Они носят массовый характер и вызывают значительный экономический ущерб.

Из незаразных заболеваний молодняка наиболее часто регистрируют диспепсию новорожденных, удельный вес которой составляет 60-90%, а падеж — 15-70% от числа заболевших. Причинами диспепсии являются нарушение технологии содержания и кормления животных, а также несовершенство естественной защиты организма к воздействию факторов внешней среды [Сапожников А.Ф., 2000, Яшин А.В, 2000, Ashar M.N., 1999].

Ущерб от диспепсии складывается из падежа, затрат на лечебные мероприятия, снижения продуктивных качеств и племенной ценности животных. Заболевание имеет сложную этиологию, что создает трудности в лечении и профилактике. Это вызывает необходимость поиска и разработки, новых лечебно-профилактических средств, способных повысить эффективность ветеринарных мероприятий [Щербаков Г.Г. 1999, Полушин Г.В., 1999, Жирков И.Н, 2001, Кондрахин И.П.,2003].

Для профилактики диспепсии телят, повышения жизнеспособности, сохранности и продуктивности важно своевременно сформировать иммунный статус, начиная с молозивного периода. Для этих целей в настоящее время используется большое количество биологически активных препаратов, позволяющих целенаправленно и эффективно влиять на различные звенья иммунной системы организма [Середа А.Д., 2001, Бухарин О.В. 2003, Воробьев А.А. 2003, Dutta R.C., 2002, Bin Hafeez B. 2003].

Многочисленными исследованиями доказано профилактическое и лечебное действие пробиотиков на организм человека, сельскохозяйственных животных и птицы. Данные препараты представляют собой культуры микроорганизмов - симбионтов желудочно-кишечного тракта и их метаболиты, которые улучшают кишечный микробный баланс у животных, активизируют неспецифическую резистентность организма и иммунный статус животных. Пробиотики хорошо сочетаются с другими лекарственными средствами, они стимулируют рост животных, и в отличие от антибиотиков, могут применяться длительными курсами, не вызывая побочных эффектов [Шайдулина Р.Г. 2000, Аликин Ю.С., 2002, Панин А.Н., 2002, Bengmark S., 2000, Holo H., 2001, Chermesh I., 2002].

Использование пробиотиков, направленное на снижение заболеваемости молодняка животных желудочно-кишечными болезнями и риска контаминации животноводческой продукции возбудителями пищевых токсикоинфекций, следует рассматривать как альтернативу антибиотикотерапии. Остаточные количества антибиотиков, которые находят в продукции сельского хозяйства, ухудшают ее санитарные качества,

технологические свойства (подавляют развитие молочнокислых бактерий, применяемых при производстве кисломолочных продуктов, нарушают сычужное свертывание молока при производстве сыра и творога) и отрицательно влияют на здоровье человека, вызывая развитие аллергических реакций, дисбактериоза, развитие токсического, тератогенного и мутагенного действия. Более широкое применение пробиотиков в комплексной терапии и профилактике дисбиотических состояний у животных позволяет исключить использование антибиотиков или снизить негативные последствия их применения [Тараканов Б.В. 1999, Шайдулина Р.Г. 2000, Середа А.Д., 2001].

Однако широкому применению ветеринарных пробиотиков препятствует их высокая стоимость. Не каждое животноводческое хозяйство в современных экономических условиях может позволить себе их использование. В качестве альтернативных и дополнительных средств бактериотерапии можно рассматривать более дешевые, обогащенные полезной микрофлорой корма, в том числе и молочные продукты [Шувариков А., 1996, Калоев 2003, Арутюнян А.А., 2004].

В связи с этим разработка способа приготовления и применения пробиотического продукта на основе молозива, которое и само по себе является биологически ценным продуктом для телят в первые дни жизни, приобретает особую актуальность.

Цель и задачи исследования. Цель - повышение эффективности лечебно - профилактических мероприятий при заболеваниях органов пищеварения у телят в ранний постэмбриональный период на основе применения пробиотических . продуктов и препаратов, содержащих лактобактерии. Для реализации этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить и проанализировать причины желудочно-кишечных заболеваний у телят.
2. Определить физиологическое состояние, в том числе напряженность колострального иммунитета у новорожденных телят по клиническим, биохимическим и иммунологическим показателям.
3. Разработать способ получения заквашенного молозива, определить его физико-химические, иммунологические и микробиологические показатели, сроки и режимы хранения.
4. Определить влияние лактобактерина и заквашенного им молозива на естественную резистентность, иммунный статус, клиническое состояние и биохимические показатели новорожденных телят при желудочно-кишечных заболеваниях.
5. Разработать и внедрить в производство схемы лечения и профилактики диспепсии у телят с использованием полученного пробиотического продукта.

Научная новизна. Выявлена способность лактобактерий (штамм *Lactobacillus plantarum* 8P-A3) сквашивать молозиво, обогащать его биологически-активными веществами, способствовать деконтаминации от патогенной и условно-патогенной микрофлоры и сохранять его полезные свойства, что является своеобразным способом биоконсервации.

Впервые получен пробиотический кисломолочный продукт путем сквашивания лактобактерином (штамм *Lactobacillus plantarum* 8P-A3) молозива, обладающий высокой кормовой ценностью и не уступающий по биологической активности пробиотическим препаратам и лечебным кисломолочным продуктам, содержащим лактобактерии. Представлена его иммунобиологическая характеристика, определена дозировка и схема применения полученного продукта.

Проведено сравнительное изучение профилактической и терапевтической эффективности лактобактерина сухого и заквашенного им молозива при диспепсии новорожденных телят. Исследовано влияние данных пробиотиков на неспецифическую резистентность, биохимические, гематологические показатели крови и энергию роста телят.

Практическая значимость. Разработан способ получения пробиотического продукта на основе молозива с учетом производственных условий животноводческого хозяйства, определены сроки и режимы его хранения, дозировка и схема применения для профилактики и лечения диспепсии новорожденных телят.

Показана более высокая лечебно-профилактическая и экономическая эффективность заквашенного молозива по сравнению с лактобактерином сухим и традиционным методом лечения желудочно-кишечных заболеваний у молодняка.

Результаты исследований позволяют рекомендовать животноводческим хозяйствам использовать пробиотические продукты и препараты на основе лактобактерии в технологическом процессе при выращивании телят, начиная с первых дней жизни. Это повысит уровень неспецифической резистентности, сохранность телят и прирост живой массы.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на: областной научной конференции молодых ученых, студентов и аспирантов «Молодежная наука Прикамья- 2002» (Пермь, 2002); международной научно-производственной конференции по актуальным проблемам Агропромышленного комплекса (Казань, 2003); научно-производственном семинаре «Профилактика болезней молодняка» (Карагай, Пермской обл., 2003); Российской научно-практической конференции «Новые пробиотические и иммуностропные препараты в ветеринарии» (Новосибирск, 2003); II международной межвузовской научно-практической конференции аспирантов и соискателей «Предпосылки и эксперимент в науке» (Санкт-Петербург, 2004).

Публикации. Материалы диссертации опубликованы в пяти работах.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Получение пробиотического продукта путем сквашивания молозива с помощью лактобактерий и его иммунобиологическая характеристика.
2. Влияние лактобактерина сухого и сквашенного молозива на биохимические, иммунологические, гематологические показатели, клиническую картину и динамику роста при диспепсии телят.
3. Схемы лечения и профилактики при диспепсии телят с использованием лактобактерина сухого и сквашенного им молозива.

Благодарности. Считаю своим приятным долгом выразить признательность научному руководителю д.в.н. Егоровой Г.Г., а также к.м.н., ведущему научному сотруднику «Пермское НПО «Биомед» Несчислаеву Валерию Александровичу за консультации, непосредственное участие в разработке способа получения пробиотического продукта на основе молозива и выполнение части исследований.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 167 страницах и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, выводов, предложений, списка литературы, который включает 254 источников, в том числе 92 зарубежных и приложение. Работа содержит 29 таблиц и 28 рисунков.

2 . МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводились в период 2002-2004 г на базе лабораторий кафедр внутренних незаразных болезней и анатомии Пермской ГСХА, в лаборатории пробиотиков филиала ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ «Пермское НПО «Биомед» и в условиях ФГУП «Верхнемуллинский» ВСП «Красава» Пермского района Пермской области.

Объектом исследований служили глубокостельные коровы, телята черно-пестрой породы с момента рождения до 6-ти месячного возраста, цельное молозиво 1-2-го удоев и сквашенное лактобактерином молозиво. В научно-производственных опытах было использовано 100 коров и 150 телят в зимне-весенний период.

За 10-12 часов до отела коров переводили в родильные боксы, где их содержали вместе с приплодом 24 часа. После этого телят помещали в отдельные клетки и разделили на 3 группы по 50 голов в каждой, по принципу аналогов с учетом массы и физиологического состояния.

При заболевании диспепсией, контрольных животных лечили по схеме, традиционно применяемой в хозяйстве, им назначали голодную диету с применением отваров лекарственных трав (зверобой, кора дуба), антибиотиков (левомицетин, стрептомицин) и регидратационных средств (внутривенно растворы глюкозы, кальция хлорида, аскорбиновой кислоты). Животным 1-й опытной группы, со второго дня жизни 3 раза в сутки выпаивали одну ампулу

(5 доз) лактобактерина. При заболевании диспепсией лечили как телят контрольной группы, исключая антибиотики. Животных Н-й опытной группы, кормили 3 раза в сутки смесью из материнского молозива с заквашенным молозивом в пропорции (1:1). При развитии диареи дачу сквашенного молозива сокращали до 0,5 литров, разбавляя 1 л отвара риса или лекарственных трав.

Лечебно-профилактическую эффективность лактобактерина и сквашенного им молозива оценивали по результатам клинических исследований (температура тела, пульс, дыхание, наличие диареи, течение заболевания) и приросту живой массы животных. У 28-ти телят (9 - в контроле, 10 - в 1-й опытной и 9- во Н-й опытной) были проанализированы гематологические, биохимические и иммунологические показатели крови.

В работе был использован препарат лактобактерин сухой - представляющий собой пористую массу желто-коричневого цвета, при растворении образующий гомогенную взвесь. Лактобактерин - это микробная масса бактерий производственного штамма *Lactobacillus plantarum* 8P-A3. В одной дозе препарата содержится не менее 2-х млрд антагонистически активных клеток [ФС 42-0054-00 лактобактерин сухой].

У телят кровь брали на 2, 10 и 20-е сутки жизни, у коров за 1-2 недели до отела. В цельной крови у телят определяли: количество эритроцитов и лейкоцитов в камере Горяева; выведение лейкограммы крови, цитологический анализ цельного и сквашенного молозива в мазках по Романовского-Гимза; гемоглобин — по Сали; относительное и абсолютное число лимфоцитов в реакциях Е- и Е АС - розеткообразования, фагоцитарную активность лейкоцитов по Ю.И. Шилову с соавт. (1997).

• Концентрацию IgG, IgM, IgA в сыворотке крови телят, цельном и сквашенном молозиве - методом радикальной иммунодиффузии (РИД) по G. Mancini, модифицированным Р.П. Петровым (1984); у коров и телят в сыворотке крови определяли биохимические показатели: фосфор - по В.Ф. Коромыслову и Л.А. Кудрявцевой, каротин- фотометрически, щелочной резерв- диффузионным методом по И.П. Кондрахину (1971), кальций-реакцией с мурексидом и пропиленгликолем, общий белок-рефрактометрическим способом, магний- по Сперу [Антонов Б.И., 1991], глюкозу- глюкозооксидазным по Н.И. Журавлевой и В.Н. Титову (2001).

В нормальном и сквашенном молозиве определяли: рН-потенциометрически с помощью иономера И-160; кислотность и активность кислотообразования - титриметрическим методом; количество живых клеток в дозе пробиотического продукта — методом серийных разведений; антагонистическую активность - методом перпендикулярных штрихов в тесте отсроченного антагонизма [ФС 42-3874-99 Физико-химические, химические, физические и иммунохимические методы контроля медицинских иммунобиологических препаратов].

Цифровой материал обрабатывали статистически, методом предложенным Е.В. Монцевичюте-Эрингене (1979).

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Этиология диспепсии новорожденных телят.

В хозяйстве принята поточно-цеховая система производства молока. Содержание коров привязное, с круглогодичной стойлово-выгульной системой. Причинами развития диспепсии новорожденных телят служили нарушения в кормлении и содержании стельных коров. Было установлено, что рационы сухостойных коров в стойловый период не сбалансированы по переваримому протеину, сахару, каротину. Нарушено сахаро-протеиновое отношение.

Биохимические исследования сыворотки крови коров показали низкое содержание кальция $2,55 \pm 0,07$ ммоль/л (норма- $2,8-3,15$), глюкозы $0,683 \pm 0,12$ ммоль/л (норма- $2,25-3,63$), повышенное - фосфора $2,465 \pm 0,02$ ммоль/л (норма- $1,36-1,52$). Уровень щелочного резерва ($49,19 \pm 2,4$ об. % CO_2), белка ($75,96 \pm 1,9$ г/л) каротина ($12,36 \pm 0,91$ мкмоль/л), витамина Е ($16,9 \pm 2,76$ мкмоль/л), магния ($0,85 \pm 0,02$ ммоль/л) находились в пределах нормы [Васильева Е.А., 1974].

Таким образом, у коров наблюдались изменения в составе крови, свидетельствующие о нарушении кислотно-щелочного равновесия, углеводного и минерального обменов.

3.2. Получение пробиотического продукта на основе молозива.

Одной из задач нашей работы было сохранение и повышение биологической ценности молозива, предотвращение его быстрой порчи и массивной контаминации посторонней микрофлорой. Данная задача была реализована с помощью сквашивания молозива лактобактерином (штамм *Lactobacillus plantarum* 8P-A3). Молозиво брали от здоровых (по маститу, метриту) коров. Скваженное молозиво получали с использованием 2-х технологических схем. I-я схема - предусматривала внесение лактобактерина сухого в весь объем молозива. В свежесвыдоенное, подогретое до $37 \pm 3^\circ\text{C}$ молозиво вносили лактобактерин (4-5 флаконов на 1 л), перемешивали и инкубировали при температуре $30-37^\circ\text{C}$ в течение 48 ± 8 ч до образования сгустка. II-я схема - включала получение рабочей закваски путем предварительного сквашивания 1 л молока, что позволяло снизить расход лактобактерина в 10 раз. Для приготовления 1 л закваски использовали аналогичное количество лактобактерина (4-5 флаконов). Время инкубации составляло 18 ± 2 ч. Полученную закваску вносили в свежесвыдоенное, подогретое до $37 \pm 3^\circ\text{C}$ молозиво в количестве 10% от его объема. Далее процесс сквашивания был аналогичным I-й схеме.

Способ сквашивания молозива отличается простотой выполнения, не требует дорогостоящего оборудования, что позволяет получать данный продукт на животноводческих комплексах. Кисломолочный продукт сочетает пищевую ценность молозива и биологическую активность пробиотика, что повышает эффективность кормления телят и является лечебно-профилактическим средством при диспепсии.

3.3. Физико-химические, иммунобиологические и микробиологические параметры цельного и сквашенного молозива.

Сквашенное молозиво представляет собой однородную массу беловато-желтого цвета со специфическим горьковато-кислым вкусом и кислым запахом. Срок его годности был установлен исходя из известных сроков хранения кисломолочных продуктов на основе лактобактерий.

Физико-химические параметры цельного и сквашенного молозива представлены на рис. 1 и 2. Кислотность исходного смешанного молозива составляла $37,0 \pm 2,67$ °Т, рН $6,21 \pm 0,49$. В готовом продукте в 1-е сутки отмечали повышение уровня кислотности в 2,8 раза ($P < 0,001$) и снижение рН в 1,2 раза ($P < 0,01$). В последующие дни наблюдалась стабилизация данных показателей, в течение всего срока хранения (7 сут) полученного продукта.

Таким образом, сквашенное молозиво сохраняет кислотность на уровне $100-110$ °Т, рН $4,9-5,2$ в течение 7-и сут.

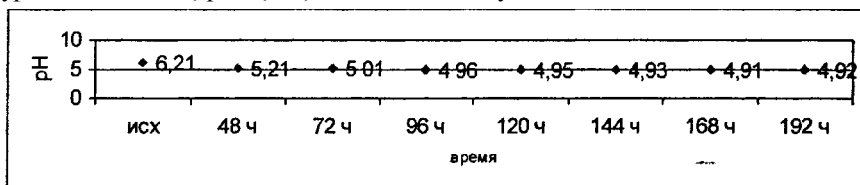


Рис. 1. Динамика pH сквашенного молозива

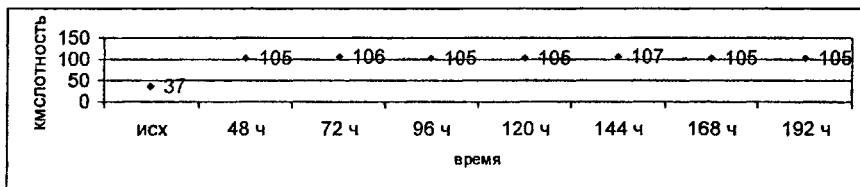


Рис. 2. Динамика кислотности сквашенного молозива

Иммунологические параметры в исходном смешанном (1 и 2 удоев) молозиве и сквашенном молозиве представлены в табл. 1.

В цельном молозиве цитологический состав представлен: сегментоядерными нейтрофилами (61%), лимфоцитами (33%) и эпителиоцитами (6%). Достоверное снижение уровня иммуноглобулинов в готовом продукте наблюдалось только на 3-е сутки хранения, по содержанию IgG - в 1,15, IgM - в 1,3, IgA - в 1,36 раза ($P < 0,05$). К концу срока хранения на 7-е сутки количество IgG снизилось в 2,5 раза, IgM — в 3 раза, IgA - в 5,4 раза (PO,OOI), нейтрофилов - в 2,5 раза ($P < 0,001$), лимфоцитов - в 2 раза ($P < 0,01$), эпителиоцитов - в 4,5 раз (PO,OOI) по сравнению с исходными показателями.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что в процессе сквашивания (2 сут) и хранения (7 сут) молозива наблюдается снижение количества клеточных и гуморальных факторов, однако достоверные

различия, по содержанию иммуноглобулинов регистрировались на 3-е, гранулоцитов и эпителиоцитов на 4-е, а лимфоцитов на 5-е сутки.

Таблица 1 Иммунологические параметры цельного и сквашенного молозива

С у т	Показатели n= 10					
	IgG, г/л	Ig M, г/л	Ig A, г/л	Н. с/я, $\times 10^9$ /л	Лф, $\times 10^9$ /л	Эпит., $\times 10^9$ /л
Цельное смешанное молозиво 1 и 2 удоев						
	2,13 $\pm$ 0,09	1,56 $\pm$ 0,1	1,24 $\pm$ 0,1	7,81 $\pm$ 0,52	4,22 $\pm$ 0,36	0,77 $\pm$ 0,04
Сквашенное молозиво						
1	1,97 $\pm$ 0,14	1,42 $\pm$ 0,17	1,18 $\pm$ 0,19	7,56 $\pm$ 0,48	4,17 $\pm$ 0,23	0,73 $\pm$ 0,1
2	1,91 $\pm$ 0,11	1,36 $\pm$ 0,15	1,06 $\pm$ 0,08	6,49 $\pm$ 0,63	4,03 $\pm$ 0,31	0,65 $\pm$ 0,09
3	1,85 $\pm$ 0,07*	1,23 $\pm$ 0,11*	0,91 $\pm$ 0,11*	6,21 $\pm$ 0,55	3,88 $\pm$ 0,25	0,61 $\pm$ 0,06
4	1,62 $\pm$ 0,09**	1,08 $\pm$ 0,12*	0,77 $\pm$ 0,14*	5,77 $\pm$ 0,51*	3,62 $\pm$ 0,29	0,54 $\pm$ 0,05**
5	1,34 $\pm$ 0,15**	0,83 $\pm$ 0,15**	0,54 $\pm$ 0,07***	4,05 $\pm$ 0,4***	3,17 $\pm$ 0,17*	0,37 $\pm$ 0,05***
6	1,12 $\pm$ 0,19***	0,69 $\pm$ 0,13***	0,38 $\pm$ 0,1***	3,52 $\pm$ 0,4***	2,43 $\pm$ 0,20**	0,21 $\pm$ 0,04***
7	0,86 $\pm$ 0,07***	0,54 $\pm$ 0,09***	0,23 $\pm$ 0,06***	3,12 $\pm$ 0,6***	2,04 $\pm$ 0,32**	0,17 $\pm$ 0,02***

Примечание: *P<0,05**P<0,01***P<0,001 по сравнению с исходными показателями

Результаты микробиологических исследований показали, что полученный продукт обладает высокими и стабильными показателями специфической активности. По уровню антагонистической активности (зона подавления тест-штаммов более 20 мм) и активности кислотообразования (более 250 °Т) полученный продукт не уступает лактобактерину сухому. Количество живых клеток лактобактерий в приготовленном продукте по окончании сквашивания составляло 10^7 - 10^8 КОЕ/мл. Хранение сквашенного молозива при температуре 6-8°C в течение 7-и суток не приводило к снижению количества жизнеспособных лактобацилл.

3.4. Влияние сухого лактобактерина и заквашенного им молозива на клиническое состояние, живую массу и сохранность телят

Профилактическая эффективность лактобактерина сухого составила 22%, сквашенного им молозива - 58%. Продолжительность заболевания у телят контрольной, 1-й и II-й опытных групп составляла 12,3; 8,7 и 4,8 дня соответственно.

Температура тела больных телят контрольной группы была снижена на 10-е сутки и составляла 37,1 $\pm$ 0,3°C, у телят I-й опытной - 38,0 $\pm$ 0,3°C (P<0,05), II-й опытной группы - 38,5 $\pm$ 0,6°C (P<0,05). С нарастанием картины болезни

развивалась сердечно-сосудистая недостаточность и нарушение функции дыхания. Пульс у телят в контрольной группе на 10-е сутки был учащенным, слабым и составлял $107,6 \pm 2,1$, у животных опытных групп $102,4 \pm 2,3$ и $96,7 \pm 1,6$ ($P < 0,05$) ударов в минуту соответственно. Частота дыхательных движений у телят контрольной группы составляла $57,1 \pm 2,8$ раз в минуту, у телят I-й опытной группы $52,1 \pm 1,9$ и II-й опытной - $49,6 \pm 2,4$ движений в минуту ($P < 0,05$). В на 20-е сутки и в более поздние сроки у телят разных групп температура тела, пульс и частота дыхания не имели различий.

Развитие у новорожденных телят диспепсии, в зависимости от продолжительности заболевания отражается на интенсивности их роста. Рис. 3 отражает изменение среднесуточного прироста у телят.

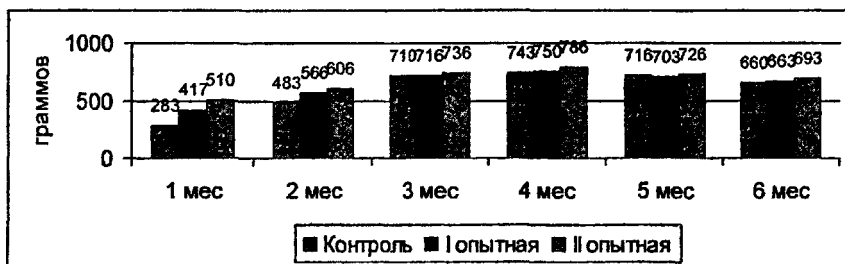


Рис. 3. Динамика среднесуточного прироста живой массы телят

Среднесуточный прирост живой массы в возрасте 1 месяца у телят, получавших лактобактерин, был выше на $32,1\%$ ($P < 0,05$), а сквашенное молозиво на $44,5\%$ ($P < 0,01$), по сравнению с контрольными животными. С возрастом приросты массы тела у телят всех групп увеличивались, но в контроле они были ниже, чем у опытных животных. Данная закономерность прослеживалась в течение всего периода наблюдения, однако с 4-го месяца жизни различия были незначительны. Таким образом, введение в рацион телят опытных групп пробиотиков позволило профилактировать диспепсию и тем самым оказать влияние на динамику их роста.

3.5. Влияние сухого лактобактерина и заквашенного им молозива на биохимические показатели крови телят.

Обмен веществ у молодняка напрямую зависит от уровня и организации кормления в первые часы жизни, что находит отражение в биохимических показателях крови [Яшин А.В., 2000], представленных в табл. 2.

На 2-е сутки после рождения у животных всех групп биохимические параметры находились в пределах нормы [Васильева Е.А., 1974]. Содержание белка в среднем у всех телят составляло $63\text{--}67$ г/л (норма- $51\text{--}80$ г/л), магния $1,26\text{--}1,41$ ммоль/л (норма- $0,82\text{--}1,23$ ммоль/л), сахара $4,1\text{--}4,6$ ммоль/л (норма- $3,4\text{--}4,8$ ммоль/л). Показатели щелочного резерва, кальция, витамина Е находились ниже пределов нормы, однако эти различия были незначительны. Уровень щелочного резерва составил $39\text{--}43$ Об. % CO_2 (норма- $45\text{--}55$ Об. % CO_2),

кальций 2,49-2,81 ммоль/л (норма-2,85-3,07 ммоль/л), витамина Е 2,75-2,9 (норма-3,45-30 мкмоль/л). Содержание фосфора напротив превышало справочные данные и составляло 2,71-2,97 ммоль/л (норма 2,03-2,23 ммоль/л).

Таким образом, телята в течение первых суток жизни получали все необходимые питательные вещества из молозива матери. Незначительные отклонения от нормы некоторых параметров свидетельствуют об их тесной взаимосвязи с аналогичными у коров перед отелом.

Таблица 2 Биохимические показатели сыворотки крови телят (М+м) n= 28

Гр	Общий белок, г/л	Щелоч. рез. Об %СО ₂	Кальций, ммоль/л	Фосфор, ммоль/л	Магний, ммоль/л	Сахар, ммоль/л	Витамин Е мкмоль/л
В возрасте двух суток							
1	64,8±1,87	39,8±4,1	2,49±0,08	2,97±0,09	1,29±0,08	4,61±0,28	2,75±0,15
2	66,8±4,26	42,7±5,2	2,65±0,13	2,83±0,19	1,41±0,09	4,1±0,24	2,9±0,22
3	63,3±3,06	40,8±3,42	2,81±0,15	2,71±0,22	1,26±0,09	4,28±0,3	2,84±0,18
В возрасте десяти суток							
1	51,1±2,03	49,3±2,55	2,45±0,13	2,3±0,1	1,03±0,03	1,75±0,14	3,7±0,25
2	54,3±1,8	46,6±2,3	2,3±0,07	2,42±0,09	1,09±0,04	1,34±0,09**	3,54±0,31
3	60,7±2,4**	41,1±3,1	3,02±0,1**	2,89±0,1**	1,17±0,05*	1,11±0,1**	5,66±0,46*
В возрасте двадцати суток							
1	58,4±2,1	57,1±2,2	2,43±0,07	2,41±0,05	1,03±0,04	3,2±0,07	3,15±0,23
2	60,7±1,8	59,5±4,2	2,37±0,05	2,35±0,04	1,05±0,02	3,03±0,05	3,27±0,19
3	67,6±2,3**	54,8±1,3	2,76±0,11	2,7±0,09*	1,16±0,02	2,95±0,09*	4,35±0,38*

Примечание: в этой таблице и далее *P<0,05**P<0,01***P<0,001-относительно контрольной группы

На 10-е сутки после рождения биохимические показатели у телят 1-й опытной и контрольной групп не имели существенных различий, за исключением уровня сахара. Применение заквашенного молозива телятам И-й опытной группы оказало выраженное влияние на основные биохимические параметры по сравнению с животными контрольной и 1-й опытной групп.

Содержание общего белка у телят И-й опытной группы было выше на 15,8% (РО,ОІ), у животных 1-й опытной группы на 10,5% (P>0,05), чем у животных контрольной группы. У телят получавших заквашенное молозиво по сравнению с контрольной группой содержание кальция было выше на 18,9%, фосфора - на 20,4%, магния - на 12%, витамина Е - на 34,6% (P<0,05-<0,01). Содержание сахара у телят контрольной группы было на более

высоком уровне, чем у телят, получавших пробиотические препараты и продукты, на 23,4 и 36,6% соответственно ($P<0,01$).

В возрасте 20-и суток у животных всех групп показатель щелочного резерва и количество магния не имели различий. Уровень белка у телят И-й опытной группы был выше на 13,6% ($P<0,01$), по сравнению с контролем и 10,2% ($P<0,05$) относительно животных 1-й опытной группы. Содержание кальция выше на 12% и 14,1%, фосфора на 10,7% и 13% соответственно ($P<0,05$). Количество витамина Е у телят И-й опытной превышало аналогичный показатель в контроле на 27,6%, телят 1-й опытной группы на 24,8% ($P<0,05$).

3.6. Влияние сухого лактобактерина и заквашенного им молозива на гематологические показатели крови телят.

Данные гематологических исследований представлены в таблице 3.

Таблица 3 Гематологические показатели крови телят (М+м), n= 28

Г Р	Показатели						
	Эритроц. $\times 10^{12}/л$	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, $\times 10^9/л$	Нейтроф п/я, %	Нейтроф. с/я, %	Лимфоциты %	Моноциты %
В возрасте 2 суток							
1	5,02 $\pm$ 0,3	112,4 $\pm$ 3,7	8,2 $\pm$ 0,5	1,5 $\pm$ 0,2	60,0 $\pm$ 3,2	32,1 $\pm$ 3,3	4,0 $\pm$ 0,4
2	5,8 $\pm$ 0,1	114,4 $\pm$ 2,9	7,45 $\pm$ 0,7	1,4 $\pm$ 0,3	60,6 $\pm$ 3,1	30,8 $\pm$ 3,4	3,9 $\pm$ 0,5
3	5,36 $\pm$ 0,2	111,2 $\pm$ 2,6	8,12 $\pm$ 0,4	1,5 $\pm$ 0,3	62,7 $\pm$ 1,9	29,5 $\pm$ 2,9	4,2 $\pm$ 0,7
В возрасте 10 суток							
1	7,9 $\pm$ 0,6	121,5 $\pm$ 3,1	6,3 $\pm$ 0,5	2,3 $\pm$ 0,4	49,4 $\pm$ 3,65	44,2 $\pm$ 3,5	2,8 $\pm$ 0,4
2	6,3 $\pm$ 0,4*	116,1 $\pm$ 3,5	7,12 $\pm$ 0,3	1,3 $\pm$ 0,3	53,4 $\pm$ 2,44	47,3 $\pm$ 4,84	3,1 $\pm$ 0,5
3	5,8 $\pm$ 0,4**	112,7 $\pm$ 2,7*	7,95 $\pm$ 0,45*	1,1 $\pm$ 0,3*	52,4 $\pm$ 3,1	46,2 $\pm$ 3,6	3,4 $\pm$ 0,3
В возрасте 20 суток							
1	6,2 $\pm$ 0,5	113,5 $\pm$ 2,2	6,8 $\pm$ 0,3	5,6 $\pm$ 0,7	42,5 $\pm$ 2,44	46,4 $\pm$ 1,55	2,9 $\pm$ 0,4
2	6,1 $\pm$ 0,3	110,3 $\pm$ 1,5	7,35 $\pm$ 0,3	4,2 $\pm$ 0,4	37,3 $\pm$ 1,95	51,2 $\pm$ 1,59*	3,3 $\pm$ 0,3
3	5,9 $\pm$ 0,5	111,7 $\pm$ 1,9	8,1 $\pm$ 0,5*	3,4 $\pm$ 0,5	35,0 $\pm$ 3,1	54,6 $\pm$ 2,86*	3,6 $\pm$ 0,7

У телят всех групп в возрасте 2-х суток достоверных различий не установлено. В возрасте 10-ти суток содержание эритроцитов у животных контрольной группы было выше на 20,3% ($P<0,05$) по сравнению с телятами 1-й опытной группы и на 26,6% ($P<0,01$) по сравнению с телятами И-й опытной группы. Уровень гемоглобина в контроле был выше на 7,3%

($P<0,05$), чем у животных П-й опытной группы. Содержание лейкоцитов у животных опытных групп находилось на более высоком уровне, по сравнению с контрольными животными, у телят, получавших заквашенное молоко, разница составляла 20,7% ($P<0,05$).

Удельный вес форменных элементов «белой» крови на 10-е сутки жизни у всех животных не имел существенных различий, но у телят П-й опытной группы процент палочкоядерных нейтрофилов был ниже на 52,2% ($P<0,05$) по сравнению с контролем. Сравнивая данные показатели телят с исходными, наблюдалось снижение процента сегментоядерных нейтрофилов и увеличение числа лимфоцитов.

В возрасте 20-ти суток количество эритроцитов и гемоглобина у телят всех групп находились на одном уровне. Однако содержание лейкоцитов у телят П-й опытной группы было выше на 16%, чем в контроле ($P<0,05$). Так же остается тенденция к снижению количества сегментоядерных нейтрофилов, одновременно регистрируется повышение процента лимфоцитов, содержание которых было достоверно выше ($P<0,05$) на 9,4% у I-й и на 15% у П-й опытных групп животных по сравнению с контролем.

Таким образом, применение пробиотиков значительно повлияло на содержание форменных клеток крови, особенно лейкоцитов.

3.7. Влияние сухого лактобактерина и заквашенного им молока на иммунологические показатели крови телят.

Данные о содержании абсолютного и относительного числа отдельных популяций лимфоцитов наиболее полно и объективно характеризуют формирование иммунного статуса животных, поскольку отражают появление в периферической крови низкодифференцированные и незрелые клетки иммуноцитов [Шилив Ю.И. с соавт., 1997].

На 2-е сутки иммунограмма у телят всех групп была на одном уровне. Абсолютное содержание лимфоцитов, в среднем составляло 2,4-2,6 мкл, Т-лимфоцитов - 1,02-1,2 мкл, В- лимфоцитов - 0,45- 0,48 мкл, О- клеток - 0,96-1,1 мкл. Относительные показатели лимфоцитов были уровне 30-32%, Т-лимфоцитов- 42-43%, В- лимфоцитов- 17-19%, О- клеток-38-40%.

На 10-е сутки абсолютное количество лимфоцитов у телят П-й опытной группы было выше на 20,9% ($P<0,05$), в том числе Т-лимфоцитов - на 28,8%, В-лимфоцитов - на 25,5%, а также относительное содержание Т-лимфоцитов - на 9,2% ($P<0,05$) относительно контрольной группы телят.

Процентное содержание О-клеток в крови телят контрольной группы было выше на 19,8% ($P<0,05$), чем у телят П-й опытной группы, однако их абсолютное количество было выше на 31,7% ($P<0,05$) у телят, получавших сквашенное молоко.

На 20-е сутки жизни процентное количество лимфоцитов у телят, получавших лактобактерин сухой и сквашенное им молоко, достоверно превосходило ($P<0,05$) аналогичный показатель у телят контрольной группы на 9,4 и 15% соответственно. Применение сквашенного молока повысило на 14,8% ($P<0,05$) и абсолютный показатель по сравнению с контролем.

Абсолютное число Т-лимфоцитов было достоверно выше во Н-й опытной на 22,9%, В-лимфоцитов - в I-й опытной на 24,4%, во II-й опытной - на 33,2% по сравнению с контролем ($P<0,05$).

Процентное содержание незрелых форм лимфоцитов (О-популяций) в крови телят контрольной группы, как и в 10-ти суточном возрасте находилось на более высоком уровне, чем у телят Н-й опытной группы на 16,3% ($P<0,05$).

Таким образом, применение пробиотиков животным опытных групп оказало иммуномодулирующее действие. Лактобактерии усиливают лейкопоэз и дифференциацию всех популяций и субпопуляций лимфоцитов.

3.8. Влияние сухого лактобактерина и сквашенного им молозива на уровень иммуноглобулинов и фагоцитоза в крови телят.

Иммунологический статус новорожденных телят в первые дни жизни определяется уровнем иммуноглобулинов и факторами неспецифической резистентностиTM организма, которые они получают с молозивом матери.

Содержание иммуноглобулинов и уровень фагоцитоза в крови телят опытных и контрольной групп представлены в таблице 5, которые на 2-е сутки после рождения находились на одном уровне.

На 10-е сутки жизни содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови у телят контрольной и I-й опытной групп не имели достоверных различий. У телят II-й опытной группы количество IgG было выше на 30% ($P<0,05$), IgM - на 32,7% ($P<0,01$), IgA - на 21,1% ($P<0,05$), относительно контрольных телят.

На 20-е сутки у телят I-й и II-й опытных групп уровень иммуноглобулинов всех классов был выше, чем у телят контрольной группы по IgG - на 1,2% ($P>0,05$) и 20,3% ($P<0,05$), по IgM - на 13,2% ($P<0,01$) и 21,3% ($P<0,001$), по IgA - на 13% ($P<0,01$) и 19,2% (PO,OOI) соответственно.

Таким образом, выпаивание телятам Н-й опытной группы заквашенного молозива позволило повысить содержание IgG, IgM и IgA в сыворотке крови ($P<0,05-0,001$) во все изученные нами возрастные периоды. Применение телятам I-й опытной группы лактобактерина не оказало существенного влияния на уровень иммуноглобулинов в возрасте 10-и суток, однако, в 20-и суточном возрасте отмечались достоверные различия в концентрации IgM и IgA по сравнению с контрольными животными.

На 10-е сутки показатели фагоцитоза у телят Н-й опытной группы находились на более высоком уровне, относительно контрольных животных. Процент фагоцитоза был выше на 37,7% ($P<0,05$), индекс на 23,2% (PO,OI), число на 41,5% ($P<0,05$). Кроме того, отмечалось снижение уровня фагоцитоза у всех животных на 10-е сутки после рождения по сравнению с 2-х суточным возрастом. Процент фагоцитоза уменьшился у контрольных животных на 46,6% ($P<0,05$), I-й опытной на 19% ($P>0,05$) и II-й опытной на 10,2% ($P>0,05$). Фагоцитарное число в 10-ти суточном возрасте также было ниже исходных показателей на 47,6% ($P<0,05$), 17,3% и 4,1% соответственно. Фагоцитарный индекс, напротив, в возрасте 10-ти суток увеличивался у телят I-й опытной на 16,5 % ($P<0,01$) и II-й опытной групп на 16,3% ($P<0,01$).

На 20-е сутки жизни уровень фагоцитоза у животных всех групп был еще ниже таковых показателей на 2-х и 10-и суточного возраста и находился приблизительно на одном уровне.

Таблица 5 Содержание иммуноглобулинов и уровень фагоцитоза в крови телят (M±m) n= 28

Гр	Ig G, г/л	Ig M, г/л	Ig A, г/л	Процент фагоцитоза	Фагоцитарный индекс	Фагоцитарное число
В возрасте двух суток						
1	1,269±0,095	0,92 ± 0,043	0,613±0,034	61,8±7,26	1,65±0,9	1,05±0,16
2	1,278±0,097	0,937± 0,046	0,664± 0,039	61,5±3,46	1,52±0,02	1,04±0,05
3	1,328±0,08	0,938± 0,047	0,668± 0,05	61,1±3,69	1,59±0,08	0,98±0,11
В возрасте десяти суток						
1	1,246±0,069	0,859±0,04	0,684±0,04	34,22±6,5	1,46±0,12	0,55±0,12
2	1,42±0,089	1,032±0,12	0,68±0,04	49,8±5,35	1,82±0,07*	0,86±0,12
3	1,779±0,155*	1,276±0,09**	0,867±0,052*	54,9±5,86*	1,9±0,04**	0,94±0,1*
В возрасте двадцати суток						
1	1,49±0,05	1,128±0,02	0,97±0,03	32,0±2,6	1,36±0,07	0,42±0,02
2	1,508±0,04	1,3±0,03**	1,115±0,02**	35,6±1,67	1,42±0,05	0,48±0,02*
3	1,87±0,045*	1,433±0,03***	1,2±0,02***	37,1±2,3	1,46±0,03	0,49±0,04

Таким образом, результаты наших исследований позволяют заключить, что включение в комплекс лечебно-профилактических мероприятий лактобактерина сухого и сквашенного им молозива приводит к нормализации обмена веществ, повышению показателей иммунитета и неспецифических факторов защиты организма. Это обеспечивает их выраженный профилактический и терапевтический эффект, а также повышение среднесуточных приростов живой массы тела у телят.

Сравнительно более эффективным лечебным, профилактическим и иммуномодулирующим средством показал себя полученный нами кисломолочный продукт на основе молозива. Его действие на обмен веществ и лимфопоез было наиболее выражено и пролонгировано, по сравнению с сухим препаратом в течение всего периода наблюдения.

ВЫВОДЫ

1. Возникновение диспепсии новорожденных телят является следствием несовершенства технологии содержания (отсутствие активного моциона) и кормления стельных коров. Рационы в стойловый период не сбалансированы по переваримому протеину, сахару, каротину, нарушено сахаро-протеиновое отношение. Биохимические и клинические исследования коров показывают наличие нарушений обменных процессов.

2. В секрете молочных желез коров первых суток лактации содержится достаточное количество факторов защиты для формирования нормального гомеостаза и колострального иммунитета новорожденных животных. Биохимические показатели сыворотки крови телят в возрасте 2-х суток находятся в пределах физиологической нормы или имеют незначительные отклонения и соответствуют аналогичными показателями в сыворотке крови коров перед отелом.

3. При отсутствии профилактических средств (лактобактерина и сквашенного им молозива) диспепсией переболевают 100% полученных телят. В разгар заболевания у животных регистрируется понижение температуры тела, учащение пульса и дыхательных движений. В крови наблюдается статистически достоверное снижение биохимических показателей (общего белка, кальция, фосфора, магния, витамина Е), количества лейкоцитов, увеличение количества эритроцитов и гемоглобина.

4. Профилактическая эффективность лактобактерина сухого составляет 22%, сквашенного им молозива 58 %, что положительно отражается на клинической картине заболевания, динамике роста и показателях крови телят.

5. Кормление телят сквашенным молозивом в смеси с материнским позволяет увеличивать среднесуточные приросты живой массы в первый месяц их жизни на 45% ($P < 0,01$) и иметь статистически достоверные различия данных показателей до 4-х месячного возраста относительно телят контрольной группы.

6. Полученный кисломолочный продукт на основе молозива не уступает по специфической пробиотической активности (антагонизм, кислотообразование) лактобактерину сухому, а физико-химические параметры (кислотность на уровне 100-110 °Т, рН 4,9-5,2) соответствуют традиционным кисломолочным продуктам на основе лактобактерий. Процесс сквашивания не влияет на иммунобиологические параметры (общее содержание Ig G, M, A и количество лейкоцитов) молозива. Указанный продукт в течение 2-х суток после получения не отличается по иммунобиологическим показателям от цельного молозива.

7. Пероральное применение лактобактерина сухого со 2-го по 10-й дни жизни в количестве 5-ти доз 3-хкратно способствует повышению иммунологического статуса телят, не оказывая существенного влияния на биохимические показатели крови. Наиболее выраженные изменения установлены в увеличении относительного количества и дифференциации лимфоцитов, уровня иммуноглобулинов класса М и А и фагоцитарного индекса у телят в возрасте 20-ти суток.

8. Введение в рацион телят со 2-го по 10-й дни жизни сквашенного лактобактерином молозива в смеси с материнским молозивом (1:1) оказывает положительное влияние на биохимические показатели крови, как в 10-ти, так и в 20-ти суточном возрасте. Иммунологический мониторинг показал, что пробиотический продукт усиливает лейкопоз и дифференциацию всех популяций и субпопуляций лимфоцитов, стимулирует синтез иммуноглобулинов, вызывает повышение фагоцитарной активности лейкоцитов у телят в 10-ти и 20-ти суточном возрасте.

9. Экономический эффект от применения лактобактерина сухого и заквашенного им молозива при диспепсии новорожденных телят составляет 8,4 руб. и 10,46 руб. на 1 руб. затрат соответственно.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

3. С целью повышения лечебно-профилактических мероприятий при острых желудочно-кишечных заболеваниях телят, для увеличения сохранности, энергии роста, неспецифической резистентности и иммунного статуса рекомендуем использовать пробиотические продукты и препараты на основе лактобактерий в технологическом процессе при выращивании молодняка.

2. Лактобактерин сухой рекомендуем применять для профилактики и лечения диспепсии новорожденных телят с 1-х дней жизни внутрь по 5 доз 3-хкратно перед кормлением в течение 10-ти дневного возраста.

3. Сквашенное молозиво предлагаем применять: для профилактики диспепсии телят с 1-х дней жизни, постепенно увеличивая дозу до пропорции (1:1) со свежесцеженным молозивом 3 раза в сутки до 10-ти дневного возраста; для лечения уменьшать порцию пробиотического продукта до 0,5 л, с разбавлением отваром риса или лекарственных растений в пропорции (1:2).

4. Сквашенное молозиво рекомендуем получать с использованием экономичной схемы, которая предусматривает приготовление 1 л рабочей закваски на основе молока и 20-25 доз лактобактерина, с последующей инкубацией 18+2 ч при температуре 30-37 °С. Полученную закваску вносить в свежесцеженное, подогретое до 37+3 °С молозиво в количестве 10% от его объема, инкубировать при температуре 30-37 °С в течение 48+8 ч с периодическим перемешиванием до образования сгустка. Хранить при температуре 6-8 °С не более 7 суток.

5. При значительных запасах сквашенного молозива вновь народившимся телятам давать свежеприготовленный продукт.

6. Результаты исследований могут использоваться при разработке рекомендаций, наставлений, учебных пособий, в учебном процессе при проведении лабораторных занятий и чтении лекций по болезням молодняка, иммунологии сельскохозяйственных животных.

Библиографический список публикаций по теме диссертации

1. Доронин Е.А. Эффективность применения заквашенного молозива для профилактики диспепсии у телят / Е.А. Доронин, Г.Г. Егорова // Молодежная наука Прикамья-2002: Тез. докл. обл. науч. конф. - Пермь, 2002. - С. 182.
2. Доронин Е.А. Применение лактобактерина для профилактики диспепсии у телят / Е.А. Доронин, Г.Г. Егорова, В.А. Несчисляев // Актуальные проблемы Агропромышленного комплекса: Материалы междунар. научно-производственной конф. - Ч.2. - Казань, - 2003. - С. 40-41.
3. Доронин Е.А. Влияние лактобактерина и заквашенного им молозива на иммунную систему телят / Е.А. Доронин, Г.Г. Егорова, В.А. Несчисляев // Новые пробиотические и иммуностропные препараты в ветеринарии: Материалы научно-практ. конф. - Новосибирск, - 2003. - С. 17-18.
4. Доронин Е.А. Получение пробиотического кисломолочного продукта на основе молозива / Е.А. Доронин, Г.Г. Егорова // Предпосылки и эксперимент в науке: Материалы II междунар. межвузовской научно-практ. конф. аспирантов и соискателей. - СПб., - 2004. - С. 13-14.
5. Доронин Е.А. Влияние лактобактерина и заквашенного им молозива на содержание иммуноглобулинов и уровень фагоцитоза в крови новорожденных телят / Е.А. Доронин, Г.Г. Егорова, В.А. Несчисляев // Пермский аграрный вестник / Сб. науч. тр. ПГСХА. - Пермь, 2004. - В.11. - Ч. 1. - С. 335-362.
6. Доронин Е.А. Физико-химические, иммунологические и микробиологические параметры пробиотического кисломолочного продукта на основе молозива / Е.А. Доронин // Естествознание и гуманизм / Сб. науч. тр. Сибирский государственный медицинский университет. - Томск, 2004. - Т. 1. - № 2. - С. 82-83

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук

Лицензия ИД № 03347 от 24 марта 2000 г.

Подписано в печать 24.02.2005. Формат 60х84х16. Печ.л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ № **61**

ФГОУ ВПО «Пермская государственная сельскохозяйственная академия им. академика
Д.Н. Прянишникова»
614990 г. Пермь, ул. Коммунистическая, д. 23

