

На правах рукописи

ПЕТРОВА НАИЛЯ ВИТАЛЬЕВНА

**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ И БИОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОБИОТИКА ЭНТЕРОСПОРИН ПРИ
МИКОТОКСИЧЕСКОЙ ДИАРЕЕ ПОРОСЯТ**

16.00.04 - ветеринарная фармакология с токсикологией
**16.00.03. - ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,
микология с микотоксикологией и иммунология**

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Наил

Казань – 2004

Работа выполнена в Федеральном государственном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт» (г. Казань).

Научный руководитель: Доктор биологических наук, профессор **Тремасов Михаил Яковлевич**

Научный консультант: Доктор ветеринарных наук, академик АН РТ **Равилов Абдулхамет Зарифович**

Официальные оппоненты: Доктор биологических наук **Гильмутдинов Рустем Якубович**
Доктор ветеринарных наук, профессор **Софронов Владимир Георгиевич**

Ведущая организация: Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии (г. Москва)

Защита состоится **«28» декабря 2004 г.** в **10** часов на заседании диссертационного совета Д – 220.012.01 при ФГНУ Всероссийский научно – исследовательский ветеринарный институт (420075, г.Казань, Научный городок – 2, ВНИВИ).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГНУ ВНИВИ (г. Казань)

Автореферат разослан **«4» ноября** 2004 г.

Учёный секретарь диссертационного совета, кандидат ветеринарных наук



В.И. Степанов

1. Общая характеристика работы

1.1. Актуальность темы. Массовые заболевания новорожденного молодняка диареей представляют важную проблему и причиняют значительный экономический ущерб животноводству. Ежегодно в хозяйствах Российской Федерации заболевают 70-80% новорожденных, большая часть которых погибает. Смертность поросят при желудочно-кишечных заболеваниях, по данным разных авторов, достигает от 41,3 до 81,9% (Ф.М.Орлов, 1961; А.Г. Бахтин, 1967; В.П. Иноземцов, 1999).

Следует отметить, что причины расстройства пищеварения недостаточно изучены, а лечебно-профилактические мероприятия не всегда эффективны (Х.З. Гаффаров и соавт., 2002). В этиологии диареи рассматривают причины, как инфекционного, так и неинфекционного характера. Среди них особое место занимают диареи микотоксического происхождения, сопровождающиеся выраженным дисбактериозом кишечника. Микотоксины обладают антибиотическими свойствами, что отрицательно сказывается на эффективности лечения животных с использованием антибиотиков и химиотерапевтических средств (А.Ф. Кузнецов, 2001). Для борьбы с дисбактериозом в ветеринарии и медицине предложено много средств, однако установлено, что наиболее эффективным и биологически безопасным является применение пробиотиков (Л.Г. Войчишина и соавт., 1991; Т.Б. Горовая, 2003; Н.В. Данилевская, 2003; А.С. Овод, 2003).

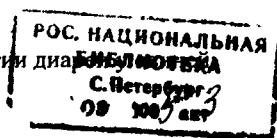
Пробиотики – препараты, содержащие живые культуры микроорганизмов-симбионтов желудочно-кишечного тракта и их метаболиты, регулирующие процессы пищеварения, предупреждающие желудочно-кишечные заболевания у молодняка и стимулирующие рост животных. Эффективность пробиотиков связана с антагонистическими отношениями с вредной для организма микрофлорой. Они стимулируют рост животных как антибиотики, но не имеют отрицательных последствий, а также не способствуют образованию резистентных штаммов микроорганизмов к химиотерапевтическим веществам, являются экологически чистыми (В.А. Антипов, 1991; А.Н. Панин и соавт., 1993, 1995, 1999; М.Я. Тремасов и соавт., 1997; Н.И. Малик и соавт., 2000, 2001; Р.Г. Шайдуллина и соавт., 2000; Н.И. Малик 2002; W.B. Wren, 1987).

Несмотря на значительный прогресс в последние годы в этом направлении, еще недостаточно раскрыты вопросы взаимодействия пробиотиков с макроорганизмом. Следует также отметить, что за последние годы создано большое число пробиотиков, растет их производство. Большой интерес представляет создание и производство отечественных пробиотиков, одним из которых является энтероспорин, разработанный в ФГНУ ВНИВИ (г. Казань).

1.2. Цель и задачи исследований. Целью исследования являлось изучение этиологической роли микотоксинов в развитии диареи у свиней, оценка профилактической и лечебной эффективности энтероспорина при заболеваниях микотоксической природы.

В задачи исследований входило:

1. Установить роль микотоксинов в развитии диареи у свиней.



2. Изучить кумулятивные свойства препарата, влияние его на воспроизводительную способность и факторы неспецифической резистентности организма животных;

3. Разработать лечебно-профилактические дозы пробиотика энттероспорина и определить его эффективность при диарее поросят смешанной и микотоксической природы в лабораторных и производственных условиях, дать оценку действия препарата в отношении антагонистов (эшерихии, сальмонеллы и т.д.).

Исследования проводились в соответствии с планом научных исследований ФГНУ ВНИВИ (г. Казань) по заданию: «Разработка мероприятий по ликвидации в очагах поражения последствий воздействия экотоксикантами» (№ гос. регистрации 01200202603, инв. № 02200300377).

1.3. Научная новизна работы. Впервые проведены микотоксикологический анализ кормов для выяснения этиологии диареи поросят, а также клинические, гематологические и биохимические исследования при экспериментальном и спонтанном микотоксикозе с признаками диареи. Установлена безвредность разработанного в ФГНУ ВНИВИ (г. Казань) пробиотика энттероспорина, обоснованы дозы, профилактическая и терапевтическая эффективность его при диарее поросят. Лабораторными и производственными опытами доказано, что данный пробиотик повышает неспецифическую резистентность организма животных, устойчивость его к микотоксинам, увеличивает среднесуточные приросты массы тела и способствует выздоровлению больных диареей животных.

1.4. Практическая ценность работы. Выявлена этиологическая роль микотоксинов в возникновении диареи поросят и обоснована необходимость микотоксикологического анализа кормов. Разработаны дозы и способы применения пробиотика энттероспорина при диарее поросят. По результатам исследования подготовлена нормативно-техническая документация:

1. Инструкция по изготовлению и контролю энттероспорина для профилактики и лечения желудочно-кишечных болезней животных (утверждена директором ФГНУ ВНИВИ (г. Казань) 5.02.2003.);

2. Энттероспорин ТУ 9384-027-00492474-01 (утверждена директором ФГНУ ВНИВИ (г. Казань) 19. 10.2004);

3. Методические рекомендации по борьбе с микотоксикозами животных в Республике Татарстан (утверждена ГУВ КМ РТ 18.11.2002);

4. Методические рекомендации по борьбе с микотоксикозами животных в Самарской области (утверждена в МСХ и П Самарской области 01.03.2004);

5. Методические указания по санитарно-микологической оценке и улучшению качества кормов (утверждена директором ФГНУ ВНИВИ (г.Казань) 19. 11. 2003).

1.5. Апробация работы. Материалы диссертационной работы доложены и одобрены на научных сессиях ВНИВИ по итогам НИР за 2001-2003 г.г, ежегодных республиканских и межрегиональных научно-производственных конференциях по актуальным проблемам ветеринарии и зоотехнии агропромышленного комплекса (Казань, 2002; 2003; 2004; Троицк, 2002; Воронеж, 2002; Ульяновск, 2003; Владимир, 2003; Москва, 2004; Чебоксары, 2004; Санкт-Петербург, 2004).

1.6. Публикации. По результатам исследований опубликовано 15 работ.

1.7. Основные научные положения диссертации, выносимые на защиту:

- роль микотоксинов в развитии диареи поросят;
- профилактическая и лечебная эффективность пробиотика энтероспорина при диарее свиней смешанной и микотоксической этиологии.

1.8. Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 141 стр машинописного текста, состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение результатов исследований, выводы, практические предложения, список использованной литературы, приложения. Работа иллюстрирована 41 таблицей. Список литературы включает 213 работ, в том числе 39 иностранных.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы исследований

Работа проводилась в 2001-2004 г.г. в лабораториях контроля природных экотоксикантов и вирусологии ФГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт (г. Казань), а также на свинокомплексах Тюлячинского и Кукморского районов Республики Татарстан.

Микробиологические и вирусологические исследования патологического материала, павших и вынужденно убитых поросят, проводили во ФГНУ ВНИВИ (г. Казань) в условиях лаборатории природных экотоксикантов, испытательного центра, лаборатории контроля и индикации возбудителей болезней молодняка сельскохозяйственных животных (проф. Х.З. Гаффаров, с.н.с. Г.Н. Спиридонов), Татарской Республиканской ветеринарной лаборатории и ветеринарных лабораторий Тюлячинского и Кукморского районов РТ.

Кровь для гематологических и биохимических исследований брали из ушной и хвостовой вен утром до кормления. Количество гемоглобина определяли с помощью гемометра Сали; эритроцитов и лейкоцитов - в камере Горяева по общепринятому методу (А.А. Кудрявцев и соавт., 1974). Фекалии поросят отбирали стерильным ватным тампоном из прямой кишки непосредственно в стерильные пробирки. Содержание в фекалиях поросят бифидо- и молочнокислых бактерий и их количество определяли методом последовательных разведений в стерильном изотоническом растворе натрия хлорида с последующим посевом каждого разведения на специальные питательные среды согласно методике, описанной Г.И. Гончаровой (1970).

Фагоцитарную способность нейтрофилов в периферической крови определяли по методике Кост и Стенко (1967), уровень Т и В лимфоцитов - методом спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана. Активность лизоцима в сыворотке крови определяли нефелометрическим методом по В.Г. Дорофейчику (1986). Определение общего белка в сыворотке крови проводили рефрактометрическим методом на рефрактометре RL-3 (Польша). Содержание глюкозы в сыворотке крови определяли ортотолуидиновым методом (Антонов Б.И. и соавт., 1991).

Острая токсичность энтероспорина оценивалась в опытах на 110 белых крысах массой 180-200 г. и на 50 поросятах массой 20-25 кг по методике, описанной Першиным Г.Н. (1971). Для белых крыс испытывались дозы 1, 2, 3, 4, 5 мл при

содержании в 1 мл энтeроспорина 2 и 40 млрд. микр. кл.; для поросят – 5, 10, 20, 50 мл при содержании в 1 мл 2 млрд. микр. кл.

Изучение безвредности препарата при многократном поступлении проводилось на 40 белых крысах массой 50-60 г., на 24 – массой 100-110 г и на 30 поросятах массой 25-30 кг. Подопытных животных разделили по принципу аналогов. Белых крыс массой 50-60 г разделили на 4 группы по 10 животных, четвертая служила контролем, а остальным группам задавали по 1 мл препарата с содержанием 1, 2, 3, млрд. микр. кл. Поросята были разделены на 3 группы: первые две группы получали энтeроспорин 30 и 50 мл соответственно с содержанием в 1 мл препарата 2 млрд. микр. кл.; третья служила контролем – получала физиологический раствор. Наблюдение за животными вели на протяжении 30 суток. Субхроническая токсичность препарата энтeроспорин оценивалась по методу Lim R.K. et al (1961) на 30 белых крысах обоего пола с первоначальной массой по 200-220 г в течение 21 суток, определяя динамику средней массы крыс. После окончания опыта животные подвергались патологоанатомическому исследованию.

Изучение антагонистических свойств энтeроспорина проводили на музейных и полевых штаммах патогенных микроорганизмов, выделенных в неблагополучных хозяйствах, в лаборатории РТ природных экотоксикантов (А.И. Сергейчев, В.Ю. Титова), в испытательном центре ФГНУ ВНИВИ (г. Казань) и Кукморской районной ветеринарной лаборатории методом серийных разведений в плотной питательной среде.

В качестве тест-штаммов использовали *E. coli* 0126, *Sal. thyphimurium* 371, *Staph. aureus* 209-P и полевые штаммы микроорганизмов. Штаммы *Sal. thyphimurium* 371 и *E. coli* 0126 предоставлены проф. А.М. Алимовым и с.н.с. Р.М. Ахмадеевым.

Микроорганизмы культивировали на мясо-пептонном бульоне при pH 7,2-7,4 и 2 %-ном агаре на основе перевара Хоттингера в условиях термостата при температуре 37 °C в течение 48ч.

Основной раствор энтeроспорина готовили путем разведения препарата (1 млрд. микр. кл. в 1 мл) физиологическим раствором. Суспензию тест-культур готовили в изотоническом растворе из расчета 1 000 000 микр. кл. в 1 мл.

В стерильные чашки Петри наливали расплавленный мясо-пептонный агар. После застывания агара стерильным скальпелем по диаметру чашки вырезали полоску шириной 1 см. Образовавшийся при этом желобок заливали расплавленным и остуженным до 44-43 °C агаром, с заранее внесенной в него культурой микроба-антагониста. После застудневания агара в желобок произвели посев суточной бульонной культуры тест микробов. Культуру нанесли отдельными штрихами через всю площадь чашки, пересекая в перпендикулярном направлении желобок. Засеянные чашки ставили в термостат при 37 °C на 20-24 часа. Результат учитывали по развитию или отсутствию роста бактерий (А.С. Лабинская, 1963). Минимальную концентрацию препарата, дающую полную видимую задержку роста микроорганизма, принимали за минимально подавляющую концентрацию (МПК).

Для профилактической и терапевтической цели испытывались различные дозы энтeроспорина (1-10 мл на животное) с содержанием 1-5 млрд. микр. клеток в 1 мл.

В агрофирме «НУР» Кукморского района и СХКП «Шадки» Тюлячинского района РТ проводили микотоксикологический, микологический анализ кормов на степень их загрязнения микроскопическими грибами и микотоксинами. Микроскопические грибы выделяли согласно методике В.В. Курасовой и соавт. (1971). Токсичность грибов определяли по методике Н.А. Слесивцевой (1964); кормов - по И.А. Курманову и Г.А. Таланову (1977). Количество микотоксинов определяли методами ТСХ, биоавтографии и хроматомасс-спектрометрии согласно методическим указаниям (А.Г. Абульханов и соавт., 1990; Б.И. Антонов и соавт., 1991).

С целью моделирования микотоксической диареи использовали корма, специально загрязненные грибами *Fusarium sporotrichiella*, *F. graminearum*, *Aspergillus nidulans*, *Penicillium* – продуцентами Т-2 и НТ-2 токсинов, зеараленона, стеригматоцистина, а также корма, зараженные данными грибами естественно. Зерносмесь, зараженную 12-14 суточной культурой грибов, добавляли в рацион супоросных свиноматок, находившихся во второй половине беременности, в концентрации 1:9. При этом содержание микотоксинов в рационе не превышало максимально допустимые уровни. Для опыта были сформированы 3 группы свиноматок по 10 голов в каждой:

1. В рацион добавляли зерно, загрязненное каждым видом грибов по 100 г.;

2. В рацион добавляли автоклавированное зерно без контаминирования токсигенными грибами;

3. Контрольная группа получала рацион, принятый на свиноматке.

Учитывали общее состояние и клинический статус, отсутствие или наличие диареи, а также учет сохранности животных.

Оценку эффективности пробиотика энтероспорина проводили в лабораторных и производственных условиях на 12 морских свинках, 316 белых крысах, 23410 поросятах, 30 свиноматках.

За период исследований изготовлено 1500 л препарата, который применялся в различных хозяйствах РТ.

2.2. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.2.1. Клинико-эпизоотологическое изучение этиологии диарей поросят

На свиноматках СХКП «Шадки» Тюлячинского и в СХКП «Игенче», агрофирмы «НУР» Кукморского районов Республики Татарстан в течение ряда лет наблюдалось массовое заболевание молодняка с признаками диареи. Ежегодный отход составлял до 30-50% как из числа заболевших новорожденных, так и у отъема. Отмечался низкий прирост массы тела у поросят, они были подвержены различным заболеваниям (болезни органов пищеварения, дыхания, нарушение минерального обмена т.д.)

С целью выяснения этиологии этих заболеваний проведены эпизоотологические, бактериологические, токсикологические исследования с оценкой общего состояния свиноголовья, условий их содержания и кормления.

При бактериологическом исследовании вынужденно убитых поросят выделен возбудитель колибактериоза (*E. coli* серологической группы $O_{10}-O_9$) в 2-8 случаях из

каждого числа 10 исследованных поросят. Кроме того, у 2-3 месячных поросят выделен гемолитический штамм *E. coli* - возбудитель отечной болезни (K88), в 1-3 случаях из каждого 5 исследованных поросят; аналогичные результаты получены при выявлении возбудителя дизентерии. Необходимо отметить, что все перечисленные болезни протекали с признаками диареи.

Микологические и микотоксикологические исследования в СХКП «Шадки» Тюлячинского района и агрофирме «Нур» Кукморского района показали наличие в зернофураже грибов рода *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*. Наибольший процент токсичных штаммов грибов – более 40% из числа выделенных, приходилось на долю *Fusarium sporotrichiella*, далее - около 30% - *Aspergillus flavus*, около 20% - *Penicillium*. Следует отметить, что видовой состав микроскопических грибов в кормах в процессе кормоподготовки в период уборки нового урожая менялся.

В кормах были обнаружены микотоксины: Т-2 токсин, зеараленон, афлатоксин В₁, стеригматоцистин, ократоксин А и дезоксиниваленон. Кроме того, были выявлены не идентифицированные пенициллотоксины и трихотецены. Следует отметить, что, в основном, содержание токсинов было на уровне ПДК или несколько превышало таковые, однако в любом рационе присутствовало несколько микотоксинов одновременно. Как известно, большинство выявленных микотоксинов высокотоксичные соединения, обладающие разнообразным действием на организм, абсолютное число которых способно вызывать диарею животных, снижать иммунный фон, способствовать развитию инфекционных заболеваний и т.д. Об этом убедительно свидетельствуют литературные данные отечественных и зарубежных авторов (В.А.Тутельян и соавт.,1985; Б.Н.Хмелевский и соавт., 1985; С.В.Петрович, 1991; А.Ф. Кузнецов, 2001). Исходя из этого, нами было обращено внимание на взаимосвязь возникновения в хозяйстве массовой диареи и содержания микотоксинов в кормах как предрасполагающего, так и этиологического фактора развития заболевания с симптомами диареи.

Кроме того, были проведены клинико-гематологические и биохимические исследования больных поросят, микробиологические анализы от больных и павших животных.

Поросята первой группы были с явно выраженными симптомами диареи, которая начиналась на 1-2 сутки после рождения, сопровождалась повышенной температурой в начале развития болезни, профузным поносом. У животных резко снижалась масса, отмечалась дегидратация, учащение пульса и частоты дыхания. Диарея в этой группе сопровождалась повышением количества форменных элементов, гемоглобина в крови. В дальнейшем (на 2-4 сут) развивался цианоз кожи и слизистых оболочек, наблюдалось снижение температуры тела, ослабление пульса и частоты дыхания; пало 18 животных.

У поросят второй группы признаки диареи отмечались так же, как и у первой группы на 1-2 сутки после рождения, однако интенсивность их была значительно менее выражена. Диарея не сопровождалась повышением температуры тела, частота пульса и дыхания, отмечалась периодичность в их вариабельности. Признаки дегидратации у данной группы проявлялись слабо, выжили все животные и были переведены в группу отъема.

При патологоанатомическом вскрытии поросят отмечен катаральный и катарально-геморагический гастроэнтериты, выявлено неравномерное окрашивание печени (у некоторых поросят в этом органе наблюдались некротические участки от 2 до 20 мм.), незначительная реакция со стороны лимфатических узлов, дегидратация; у 6 поросят, кроме того, отмечены признаки бронхопневмонии. При лабораторном исследовании павших животных (5 голов) выделен возбудитель колибактериоза (*E.coli* K88, K99).

У поросят третьей группы признаки диареи отмечены на 3-4 сутки после рождения. Профузного поноса у животных не наблюдалось, однако признаки диареи сохранялись до отъема, а после отъема усиливались. Животные теряли в живой массе, средние суточные привесы были невысокими ($135 \pm 13,1\text{r}$).

У поросят откормочной группы имел место профузный понос, отмечались угнетение, слабость, снижение пищевого рефлекса и кратковременное повышение температуры до $40,4 \pm 0,2^\circ\text{C}$; испражнения – жидкие, серо-грязного цвета. При лабораторном исследовании у этих поросят выделен возбудитель дизентерии – *Bariella hyodysenteria*.

У поросят отъемного возраста через 1-5 сут после отъема возникли признаки диареи, причем различной степени выраженности. Нарушение функции желудочно-кишечного тракта при отъеме отмечались у всех поросят, они теряли массу, выявлялись признаки нарушения функции органов дыхания (истечения из носовых отверстий, кашель, одышка, жесткое дыхание, хрипы и уплотнения в легких). Температура тела, как правило, изменялась незначительно, только у отдельных животных была выше нормы. Динамика пульса и дыхания зависели от характера заболевания: при не осложненной бронхопневмонией диарею наблюдались непродолжительные (периодические) учащения пульса и дыхания, при осложненных формах – частота пульса резко возрастала, дыхание становилось поверхностным. 12 поросят с клиническими признаками диареи и 18 - с признаками диареи, осложненной бронхопневмонией, пали в течение недели после отъема. На вскрытии диагноз подтвердился: катаральные гастроэнтерит и бронхопневмония.

При бактериологическом исследовании павших животных, только у одной особи выделена энтеропатогенная кишечная палочка (*E.coli* K88).

2.2.2. Экспериментальная микотоксическая диарея поросят

Микотоксикологический анализ кормов в хозяйствах, неблагополучных по болезням желудочно-кишечного тракта, показал, что наиболее часто они загрязнялись трихотеценовыми микотоксинами, зеараленоном, стеригматоцистином и пенициллотоксинами. Поэтому при моделировании микотоксического влияния учитывали реальную контаминацию кормов, предназначенных для свиноматок и молодняка, токсигенными микроскопическими грибами. По принципу аналогов было отобрано 3 группы свиноматок по 10 в каждой. Свиноматкам первой группы в рацион добавляли токсигенные грибы согласно описанной методике (по 100г зерна, загрязненного каждым видом гриба), второй группе - в рацион добавляли автоклавированное зерно без контаминирования токсигенными грибами, третья группа служила контролем и получала общий рацион (зерносмесь, различные добавки), принятый на свиноматке. Наблюдение вели в течение последнего месяца беременности. Корм животные всех трех групп получали 2 раза в сутки. У

свиноматок первой и третьей группы признаки диареи стали отмечаться на 8 и 11 сутки после начала скармливания им корма. Во второй группе только у 2 маток наблюдалась диарея. Причем она была непостоянной, в отличие от животных 1 и 3 групп, у которых признаки диареи сопровождалась весь период опыта. Более выражены признаки расстройства желудочно-кишечного тракта были у свиноматок первой группы.

Родившиеся поросята от свиноматок всех групп по внешнему статусу не отличались друг от друга, живая масса их варьировала от 0,7 до 1,2 кг. Уже на первый день у всех поросят стали проявляться признаки диареи. Новорожденные были вялыми, сосательный рефлекс был выражен только у каждого второго поросенка. Из 74 родившихся в первой группе поросят 14 пало в течение первых семи дней, во второй и третьей группе пало соответственно 4 и 8 поросят.

Поросята первой группы значительно отставали в массе, среднесуточный прирост массы не превышал $180,0 \pm 15,0$ г., во второй группе составил - $210,0 \pm 17,0$ и в третьей - $195,0 \pm 17,0$ г.

У павших поросят при патологоанатомическом вскрытии отмечено неравномерное окрашивание печени, увеличение ее в размере, ткань ее легко рвется, консистенция дряблая. Кроме того, выявлялись отдельные точечные и полосчатые кровоизлияния в слизистой тонкого кишечника, катаральное его воспаление. У двух поросят наблюдали очажки некроза в печени. Таким образом, на модельных опытах доказана роль микотоксинов в развитии диареи у поросят.

2.2.3. Разработка мер по профилактике и лечению диареи поросят

2.2.3.1. Изучение антагонистических свойств энтероспорина

В качестве тест-штаммов, для изучения антагонистических свойств энтероспорина, использованы *E. coli* 0126, *Sal. typhimurium* 371, *Staphylococcus aureus* 309 P и полевые штаммы микроорганизмов. Результаты этих исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1. Антагонистические свойства энтероспорина

Культуры микроорганизмов	Разведения энтероспорина			
	1:10	1:100	1:1000	1:10000
<i>E. coli</i> 0126	++++	++++	++	-
<i>E. coli</i> P-5	++++	++	+	-
<i>Staph. aureus</i> 309 P	++++	++++	++	-
<i>Staph. aureus</i> P-6	++++	+++	+	-
<i>Sal. typhimurium</i> 371	++++	++++	+++	++
<i>Sal. typhimurium</i> P-7	++++	++++	++	+

+ наличие антагонизма, - отсутствие антагонизма

Данные, приведенные в таблице 1, свидетельствуют о высоких антагонистических свойствах препарата энтероспорина по отношению к основным возбудителям желудочно-кишечных заболеваний поросят. Высокие антагонистические свойства пробиотиков к возбудителям кишечных инфекций наблюдали также Ю.Н. Проскурин, 2000; Н.И. Малик, 2002.

2.2.3.2. Изучение профилактического действия энтероспорина

Опыты по изучению профилактического действия энтероспорина проведены на морских свинках. Установлено, что все 4 свинки опытной группы, профилированные энтероспорином выжили, у одной отмечались (через 24 часа) признаки диареи, угнетение общего состояния, которые без применения средств лечения исчезли к 3 сут опыта. Во второй и четвертой группах все животные заболели через 8-10 ч со смертельным исходом. При этом отмечалось угнетение, диарея, взъерошенность волосяного покрова. При патологическом вскрытии павших животных отмечалась картина, характерная для колиэнтерита. В брюшной полости выявлялось наличие кровянистого транссудата, наблюдался метеоризм толстого отдела кишечника с кровоизлияниями на слизистой оболочке. У животных третьей группы (только энтероспорин) изменений в общем состоянии не отмечалось; животные 4-ой группы погибли аналогично второй группе.

2.2.3.3. Определение безвредности энтероспорина

Безвредность препарата изучена на белых крысах и поросятах. Исследования по изучению острой токсичности энтероспорина проведены на 110 белых крысах массой 180-200г, разделенных на 11 групп и 50 поросятах массой 20-25 кг, разделенных на 5 групп по 10 животных в каждой.

Белым крысам препарат вводили в объеме 1, 2, 3, 4, 5 мл при содержании в 1 мл 2 млрд. микр. клеток и в тех же объемах при содержании 40 млрд. микр. кл. в 1 мл препарата; контрольные животные получали физиологический раствор в объеме 5 мл. Поросятam энтероспорин задавали внутрь, однократно: животным первой группы – 5 мл, второй – 10 мл, третьей – 20 мл, четвертой – 50 мл; при этом в 1 мл содержалось 2 млрд. микр. кл; поросята пятой группы служили контролем и получали 50 мл физиологического раствора.

Опыты показали, что препарат в указанных дозах не оказал токсического действия. Клинически животные опытных групп не отличались от группы контроля. У животных, получавших соответствующие дозы энтероспорина, сохранились все рефлексы; параметры пульса и дыхания не выходили за пределы физиологических колебаний.

2.2.3.4. Изучение кумулятивных свойств препарата энтероспорин

Опыт проводили на 30 крысах обоего пола с массой 200-220г, разделенных на 2 группы (опытная, контрольная). Первоначальную ежедневную дозу, составляющую 1/10 часть максимальной однократной дозы (5 мл с содержанием микробных тел 2 млрд. в 1 мл), вводили в первые 4 сут, по 0,5 мл. Каждые последующие 4 сут дозу повышали в 1,5 раза и так до конца эксперимента. Контрольная группа крыс получала по аналогичной схеме физиологический раствор. Продолжительность опыта составила 21 сут.

За исследуемый период отрицательного действия препарата на организм не установлено. Состояние животных как в опытной, так и в контрольной группе было удовлетворительное - движения активные, координированные, шерстный покров блестящий, волос плотно удерживается в волосяных луковицах. Через 20 сут после начала опыта 2 животных были убиты для диагностического анализа. При вскрытии опытных и контрольных крыс видимых патологоанатомических изменений не

установлено. Из полученных результатов следует, что энтероспорин не обладает кумулятивными свойствами.

2.2.3.5. Изучение безвредности энтероспорина при многократном применении

Безвредность препарата при многократном поступлении в организм изучена на белых крысах массой 50-60 г и испытывались дозы 1 мл (1, 2 и 3 млрд. микр. кл. в 1 мл препарата.) и массой 100-110 г 1 и 3 мл (2 млрд. микр. кл. в 1 мл препарата). У крыс наблюдалось увеличение прироста живой массы: у первой группы он составил 48%, во второй – 68%, в третьей – 33,9% ($P < 0,01$). Содержание гемоглобина, эритроцитов и лейкоцитов в крови у крыс не выходило за пределы физиологических колебаний, однако показатели содержания гемоглобина и лейкоцитов имели тенденцию к увеличению. Отмечена закономерность большего увеличения содержания общего белка и глюкозы у опытных животных по сравнению с контрольными.

В результате изучения безвредности энтероспорина установлено, что десятикратное введение энтероспорина в дозах 30 и 50 мл (2 млрд. микр. кл. в 1 мл) не вызывало видимых изменений в организме поросят. Клинические показатели находились на уровне физиологических колебаний.

Морфологические показатели крови опытных животных не отличались от показателей контрольной группы и находились в пределах физиологической нормы. Среднесуточные привесы массы тела составили на 31 сут в первой группе – $163,0 \pm 0,15$, во второй – $159,0 \pm 0,2$, в контроле – $135,0 \pm 0,5$ г.

2.2.3.6. Изучение воспроизводительной способности крыс при введении энтероспорина

Исследования воспроизводительной способности белых крыс при воздействии энтероспорина проведены до третьего поколения. Крысам первой группы ежедневно вводили энтероспорин в дозе 1 мл, второй группы - 2 мл; третьей группе - 3 мл (с содержанием 2 млрд. микр. кл. в 1 мл препарата); четвертая (контрольная) группа - 3 мл физиологического раствора на животное.

Наблюдение за поколением продолжали до 6 месячного возраста. В росте и развитии потомства отклонений за этот период не наблюдали, за исключением более значительного прироста живой массы в опытных группах по сравнению с контрольными.

Масса крысят в опытных группах была закономерно ($P < 0,05 < 0,01$) выше, чем у контрольных животных, что особенно заметно в возрасте 6 месяцев. Показатели живой массы крыс первого поколения во всех трех группах были выше, чем показатели третьего поколения (применяли физраствор) в первой группе на 11,1% ($P < 0,05$), во второй - на 2,4%, в третьей – на 11,0% ($P < 0,05$). Во втором поколении показатели массы во всех группах оказались выше: в первой на - 22,5 ($P < 0,01$), во второй на - 23,8 ($P < 0,01$), в третьей на - 23,0% ($P < 0,01$), в то время как в третьем поколении они составили увеличение на - 14,3; 17,9 и 14,6 % ($P < 0,05$) соответственно. Отклонений в развитии потомства крыс не наблюдалось. В возрасте 6 месяцев часть потомства крыс 1-3 поколений убили для патоморфологического исследования. При этом патологических изменений в органах и тканях у животных не обнаружили.

2.2.4. Профилактика и лечение больных диареей поросят

2.2.4.1. Эффективность энтероспорина при профилактике диареи поросят

Опыты проводили на 24 поросятах, разделенных на 4 группы по 6 животных в каждой. Поросятам первых трех групп сразу после рождения (до приема молозива) внутрь задавали по 1, 3, 5 мл энтероспорина (2 млрд. микр. тел в мл.), двукратно с интервалом 5 сут; животные 4-ой группы были контрольными, им задавали физиологический раствор. Наблюдение велось в течение 30 сут при обычных условиях кормления и содержания.

Таблица 2. Профилактическая эффективность энтероспорина на поросятах (n=6)

Группы животных	Доза препарата (мл.)	Сроки наблюдения (сут) / признаки диареи у поросят						
		1	5	10	15	20	25	Эффективность %
1 опытная	1	-	-	2	3	3	3	50
2 опытная	3	-	-	-	-	1	1	80
3 опытная	5	-	-	-	-	1	1	80
4 контрольная	3 (физиол. р-р)	-	2	3	4	4	4	34

Из таблицы следует, что наиболее выраженной профилактической эффективностью при диарее оказалась доза энтероспорина 3 мл на животное, обеспечившая до 80% эффекта.

Для определения профилактической эффективности препарата при отечной болезни были сформированы 3 группы поросят, переводимые на отъем, по 12 голов в каждой. Первая группа получала энтероспорин один раз в сутки в течение трех дней до отъема и в течение трех суток после отъема в дозе по 3 мл; вторая – по 5 мл препарата по той же схеме; третья группа служила контролем и получала физиологический раствор по аналогичной схеме. Наиболее эффективной оказалась доза препарата - 5 мл и эффект составил 83,3 %, в то время как в контроле этот показатель не превышал 25%. У всех заболевших поросят наблюдались признаки диареи, выраженные отеки век, конъюнктивы и подкожной клетчатки. В группе контроля пало 3 поросенка. При микробиологическом исследовании патматериала обнаружен гемолитический штамм *E. coli* (K88). При вскрытии наблюдались катарально-геморрагический гастроэнтерит, серозный отек в органах и тканях, застойные явления и выраженная инъекция сосудов паренхиматозных органов.

2.2.4.2. Изучение профилактической эффективности энтероспорина при микотоксической диарее поросят

Для изучения профилактической эффективности энтероспорина при микотоксической диарее были созданы 4 группы поросят по 10 голов в каждой. Животным 1-3 групп сразу после рождения (до приема молозива) внутрь задавали по 1, 3 и 5 мл препарата один раз в день в течение 30 сут; четвертая группа была контрольной, она получала физиологический раствор. Наблюдение велось при обычных условиях кормления и содержания. В рационе свиноматок выявлены грибы *Fusarium sporotrichiella*, *Aspergillus flavus*, а также были выделены Т-2 токсин и афлатоксин В₁ в количестве $0,2 \pm 0,03$ мг/кг и $0,3 \pm 0,05$ мг/кг соответственно. в

молозиве свиноматок - афлатоксин М₁ в количестве 0,005-0,01 мг/кг. Результаты оценки эффективности препарата представлены в таблице 3

Таблица 3. Профилактическая эффективность энтоспорина при микотоксической диарее поросят (n=10)

Группа животных	Доза препарата, мл	Сроки наблюдения (сут.) / признаки диареи у поросят							Эффективность, %
		1	5	10	15	20	25	30	
1 опытная	1	-	-	1	1	3	3	5	50
2 опытная	3	-	-	-	1	3	2	3	70
3 опытная	5	-	-	-	-	1	2	2	80
4 контрольная	3 (физиол.р-р)	-	1	2	4	7	7	8	20

Выраженной профилактической эффективностью при микотоксической диарее поросят обладала доза препарата 5 мл на животное, обеспечивающая до 80 % эффекта, а в группе контроля из 10 поросят заболело восемь, эффективность составила 20 %.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что если диарея у контрольных поросят отмечалась уже на 5 сут, то у поросят первой группы она проявлялась лишь на 8-10 сут и только у одного поросенка; во второй группе у 4 опытных животных признаки диареи проявлялись на 17-20 сут и она протекала в более легкой форме.

2.2.5. Изучение клинико-гематологических показателей поросят при использовании энтоспорина

2.2.5.1. Клинико-гематологические показатели поросят при профилактическом применении энтоспорина

Для проведения исследований были сформированы 6 групп поросят разных возрастов. Первой группе (подсосные) задавали энтоспорин в дозе 3 мл сразу после рождения и через 5 сут, вторая – контрольная; третья – задавали пробиотик в дозе 5 мл за 3 сут до отъема и через 5 сут после отъема, четвертая – контрольная; пятой (откормочные) – задавали энтоспорин двукратно с интервалом 24 ч по 3 мл, шестая – контрольная группа. Контрольные группы по аналогичной схеме получали физиологический раствор. Исследования проводили в одинаковых условиях кормления и содержания.

Установлено, что в первой, третьей и пятой группах признаки диареи были значительно менее выражены, чем у контрольных животных.

Клинические показатели (температура, пульс, дыхание) у поросят первой группы не выходили за пределы физиологических колебаний, происходили лишь возрастные изменения. Так, если температура тела у родившихся поросят была $39,3 \pm 0,2^\circ\text{C}$, то через 60 сут она составила $39,0 \pm 0,07^\circ\text{C}$. Ее показатели на 5 сут снизились на 1,3 %, а на 10 сут оказались выше на 0,3 %, чем исходные данные. Однако все вариации показателей были недостоверными. Частота пульса у этой группы животных на 60 сут опыта понизилась на $35,0 \pm 9,3^\circ\text{C}$.

Количество лейкоцитов и эритроцитов в крови снижалось; при этом с момента рождения первый показатель на 47,2% ($P < 0,001$), второй показатель - на 12,9%

($P<0,05$) на 60 сут. Изменения количества эритроцитов на 10, 25, 30 сут опыта были достоверными ($P<0,05$). Содержание общего белка в сыворотке крови во время опыта снижалось - на 30 и 60 сут ($P<0,05$); масса тела животного возрастала с $0,8\pm0,1$ на момент рождения до $20,1\pm0,5$ кг на 60 сутки ($P<0,001$).

Во второй контрольной группе поросят в целом закономерности возрастных изменений показателей температуры, дыхания, пульса сохранялись. У поросят этой группы отмечалось выраженное возрастание температуры на 5 сут опыта, а частоты пульса и дыхания - с 1 по 10 сут. Максимальное увеличение пульса и дыхания отмечено на 10 сут наблюдения до $146,0\pm4,1$ и $58,0\pm3,6$ соответственно. В этой группе у поросят уже на 1 и 2 сут выявлялись признаки диареи. У 2-х поросят на 3 сут отмечалась высокая температура (до $40,1^{\circ}\text{C}$), профузный понос, сильное обезвоживание и на 5 сут поросята погибали. При вскрытии обнаружены гастроэнтероколит (от катарального до гемморрагического), признаки сердечной недостаточности и обезвоживания. В патологическом материале выделялась патогенная кишечная палочка (*E.coli*). У 4-х поросят выраженная диарея наблюдалась на 5-7 сут опыта; животные при этом были малоподвижными, а уши, пяточки и хвосты - с синюшным оттенком. Однако они выжили, постепенно приспособились к условиям кормления и содержания. Динамика изменения количества лейкоцитов и эритроцитов в крови поросят в данной группе носила волнообразный характер; при этом на 1-5 сут, количество лейкоцитов увеличилось до $17,7\pm0,4\times10^9/\text{л}$ ($P<0,05$), эритроцитов - до $9,6\pm0,3\times10^{12}/\text{л}$ ($P<0,001$). Количество гемоглобина в крови также возрастало, достигая максимума ($133,0\pm6,0$ г) на 10 сут. В этот же период отмечено максимальное возрастание содержания общего белка в крови ($87,0\pm3,0$ г/л). Возрастание массы тела у поросят данной группы было крайне низким: на 60 сут она составила $12,1\pm0,2$ кг ($P<0,001$), что на 8,0 кг ниже, чем в первой группе.

У поросят третьей группы в период наблюдения (от 60 до 161 сут) показатели температуры, пульса, дыхания, содержания лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, общего белка колебались в пределах физиологических норм ($P>0,05$). Прирост массы тела поросят происходил как у физиологически полноценных животных; при этом если у исходных масса тела составляла $20,1\pm0,5$ кг, то на 161 сут она увеличилась на $35,1\pm0,3$ кг. В сравнении с третьей группой у поросят четвертой группы (несмотря на более или менее стабильные возрастные изменения) клинические показатели (температуры, пульса, дыхания) претерпевали примерно те же изменения. В крови отмечалось увеличение количества лейкоцитов на 1, 5, 10 сут после отъема (61, 66, 76 сут жизни), достигая величины $26,9\pm0,7\times10^9/\text{л}$ (на 55,5% выше, чем у животных третьей группы) и эритроцитов - до $7,8\pm0,3$ (на 29,8%) ($P<0,01$). В эти же сроки наблюдения происходило увеличение содержания общего белка и гемоглобина в крови: максимальная величина количества общего белка составила $82,0\pm2,0$ г/л, что на 24% выше, чем у поросят третьей группы ($P<0,01$), содержание гемоглобина было на 16,3% больше, чем у животных третьей группы ($P<0,05$).

В указанные сроки (1-10 сут) у животных четвертой группы выявлялись признаки диареи, обезвоживание, у двух поросят развивалась бронхопневмония

С целью профилактики диарей и дизентерии животным (5 группа) двукратно вводили внутрь энтоспориин по 5 мл с интервалом в 5 сут.

Следует отметить, что показатели температуры, пульса, дыхания в период наблюдения (161-262 сут) были в пределах физиологических колебаний. У двух поросят на 177 сут жизни (через 10 сут опыта) отмечалась диарея в легкой степени, жидкий кал и жажда. В этот период содержание в крови лейкоцитов, эритроцитов и гемоглобина изменялись в пределах физиологических колебаний, которые достигали соответственно $16,2 \pm 0,7 \times 10^9/\text{л}$, $6,4 \pm 0,3 \times 10^{12}/\text{л}$ и $111,0 \pm 3,0$ г/л. Прирост живой массы тела животных этой группы также соответствовал физиологическим показателям и через 262 сутки жизни масса поросят этой группы составила $88,3 \pm 1,2$ кг.

У животных шестой группы показатели температуры, пульса, дыхания изменялись незначительно, но параметры пульса и дыхания были в абсолютных величинах меньшими, чем у поросят пятой группы. Содержание лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина в крови поросят шестой группы, было ниже, чем у животных пятой группы. Такая же закономерность выявлена и в содержании общего белка, и в приросте живой массы. Так, количество лейкоцитов в крови у контрольных животных на 262 сут жизни (60 сут опыта) было на 20,7 ($P < 0,01$), эритроцитов - на 22,3 ($P < 0,01$), гемоглобина - на 8,2 ($P < 0,05$), общего белка - на 5,1 и живой массы - на 34,1% ($P < 0,01$) ниже, чем у поросят пятой группы.

2.2.5.2. Клинико-гематологические показатели поросят при лечении их энтоспорином

Лечению энтоспорином были подвергнуты поросята разных возрастов с различной этиологией диареи и степени тяжести заболевания.

Клинические признаки болезни у поросят первой группы (возраст 3-5 сут) были характерными для средней степени тяжести диареи. Однократное введение энтоспориина способствовало уменьшению признаков диареи, а повторное применение препарата способствовало исчезновению видимых признаков диареи. Температура тела стабилизировалась на 2-5 сут опыта, примерно в эти же сроки происходило снижение количества лейкоцитов и эритроцитов в крови до свойственных для этого возраста величин на 17% и 13,6%. Количество гемоглобина уменьшилось на 10 сут после применения энтоспориина и составила 85,3% от исходной величины. Средний прирост массы за сутки составил 400-500г ($P < 0,01$).

Значительно медленнее процесс восстановления клинических и гематологических показателей происходил у поросят при тяжелой степени заболевания. При применении энтоспориина клинические признаки болезни исчезали медленно, только после третьего приема препарата. Восстановление температуры тела происходило на 5 сут и составила $39,1^\circ\text{C}$; в этот же период снижалось количество лейкоцитов, эритроцитов и гемоглобина, соответственно на 14,3%, 14,8% и 14,9% по сравнению с первоначальными величинами и было примерно равным фоновым величинам, свойственным для данного возраста и вида животных.

У поросят третьей группы (отъем) наблюдали диарею средней тяжести. Максимальное возрастание содержания лейкоцитов (на 60,6%) ($P < 0,01$) отмечалось на 5 сут опыта, эритроцитов - на 4,6% и гемоглобина - на 5,3% на 10 сутки. Живая

масса поросят после лечения увеличилась на $1,2 \pm 0,3$ кг, что на 0,7 кг выше, чем у животных, не подвергнутых лечению.

Для выяснения терапевтической эффективности энтероспорина при колибактериозе поросят опыты были проведены в сравнительном плане с использованием препаратов энтероспорин и тилан. Диагноз на колибактериоз был поставлен в Сабинской районной ветлаборатории, подтвержден в Татарской республиканской ветлаборатории и лаборатории болезней молодняка ФГНУ ВНИВИ (г. Казань). Был выделен энтеропатогенный штамм кишечной палочки (*E.coli* K88, K99). У всех животных отмечалась высокая температура тела, у большинства (9 из 12 голов) - понос, отсутствие аппетита, выражены признаки обезвоживания. Содержание лейкоцитов, эритроцитов в крови было выше физиологического уровня, гемоглобина – $103,0 \pm 2,0$ – $104,0 \pm 1,0$ г/л. Заметное улучшение общего состояния поросят при лечении тиланом наблюдалось на 3 сут, при лечении энтероспорином - на 4-5 сут, когда практически исчезли признаки диареи, нормализовалась температура тела до допустимого уровня, снизилось количество форменных элементов крови.

Динамика изменения живой массы у животных в обеих группах была примерно одинаковой: если в начале лечения наблюдалось некоторое снижение, то к 5 сут происходило ее возрастание. Через 10 сут у поросят в группе лечения энтероспорином масса тела была на $400 \pm 0,1$ г выше, чем при использовании препарата тилан. В дальнейшем поросята, леченные энтероспорином, развивались и набирали массу более активно, чем в группе, леченных тиланом. Однако животные обеих групп по своему развитию уступали поросятам, не переболевшим колибактериозом.

Наши исследования показали эффективность энтероспорина при лечении поросят больных дизентерией. Так, признаки диареи (профузный, зловонный понос) у животных, леченых энтероспорином, стали исчезать на 5-6 сут после начала лечения, а при использовании трихопола - на 3-6 сут. Содержание лейкоцитов в крови снижалось в обоих случаях, а при воздействии энтероспорина, начиная уже на первые сутки лечения. В группе леченном трихополом, количество форменных элементов крови к 10 сут в среднем снизилось на 46% от исходной. Эти показатели не отличались от таковых у интактных животных. При лечении трихополом уже на 5 сут количество лейкоцитов в крови поросят снижалось на 62,2% с сохранением такой тенденции до конца наблюдения (15 сут). Эти же закономерности сохранялись и при восстановлении показателей эритроцитов в крови и содержания гемоглобина. Примерно в равной степени в обеих группах происходил и рост массы тела животных.

Эффективным энтероспорин оказался и при дисбактериозе, вызванном после применения антибиотика канамицина. Микробиологический контроль эффективности использования пробиотика энтероспорина проводили на подсвинках с клиническими признаками диареи. Для проведения опыта формировали две параллельные группы из больных поросят – опытную и контрольную. Забор фекалий был сделан до начала и после лечения канамицином, а также через 3 сут после применения энтероспорина. Первую группу (5 голов) животных лечили канамицином (в дозе 1 мл / 10 кг массы тела 2 раза в сутки внутримышечно) в

течение 5 сут, затем через сут задавали энтероспорин двукратно в дозе 5 мл, вторая группа (5 поросят) служила контролем, они не получали энтероспорин. Показатели симбионтной микрофлоры поросят после применения энтероспорина имели тенденцию к увеличению, признаки дисбактериоза исчезали.

2.2.6. Изучение факторов неспецифической резистентности поросят при введении энтероспорина

Опыты проведены на 48 поросятах отъемного периода, разделенных на 8 групп, по 6 животных в каждой. Подопытным животным за 5 сут до отъема дважды с интервалом 5 сут вводили энтероспорин в следующих дозах: первой группе – по 3 мл, второй – 5 мл, третьей – 7 мл, четвертой – 10 мл, пятой – 12 мл; поросётам шестой группы вводили Т-2 токсин в дозе 1/10 ЛД₅₀, а затем энтероспорин в дозе 10 мл ежедневно однократно, в течение 10 сут, при содержании в 1 мл 2 млрд. микр. кл., седьмой группе (контроль) – только Т-2 токсин; животным восьмой группы (биологический контроль) вводили физраствор по 10 мл, дважды, с соблюдением интервалов введения для опытных животных. Результаты исследования представлены в таблице 4.

Таблица 4. Показатели естественной резистентности поросят при введении энтероспорина, (n=4)

Группы животных, дозы однократного введения	Показатели, %				
	Фагоцитарная активность	Фагоцитарный индекс	Активность лизоцима	Количество лимфоцитов	
				Т-	В-
Первая, 3 мл	38,0 ± 2,4***	1,7 ± 0,2***	6,9 ± 1,2*	35,3 ± 1,3	13,9 ± 1,3
Вторая, 5 мл	40,0 ± 2,8***	2,1 ± 0,2***	7,2 ± 0,4*	38,6 ± 1,2*	13,8 ± 1,8
Третья, 7 мл	28,0 ± 2,1	1,2 ± 0,1*	6,4 ± 0,5	38,3 ± 1,7*	14,0 ± 1,3
Четвертая, 10 мл	30,0 ± 1,7*	1,3 ± 0,1*	6,5 ± 1,0	37,7 ± 1,6*	13,5 ± 2,0
Пятая, 12 мл	32,0 ± 1,8**	1,5 ± 0,2***	6,8 ± 0,5*	38,4 ± 1,8*	13,6 ± 1,4
Шестая, Т-2 (1/10 ЛД ₅₀) + 10 мл энтероспорин	25,0 ± 2,3	0,9 ± 0,1*	5,95 ± 0,7*	33,5 ± 1,5	13,4 ± 1,5
Седьмая, Т-2 токсин (1/10 ЛД ₅₀) (контроль)	19,0 ± 1,7**	0,8 ± 0,1**	5,5 ± 0,8*	30,3 ± 0,9	11,9 ± 1,3*
Восьмая группа (биол. контроль)	26,0 ± 3,3	1,1 ± 0,17	6,2 ± 0,3	32,9 ± 1,3	13,4 ± 0,8

Примечание: * - (P<0,05); ** - (P<0,01); *** - (P<0,001) достоверность различий

Из таблицы видно, что показатели неспецифической резистентности организма у поросят при воздействии энтероспорина выше величин биологического контроля. Фагоцитарная активность выше в первой группе на 46,2, во второй - на 53,8, в третьей на - 7,7, в четвертой - на 15,3, в пятой - на 23%; фагоцитарный индекс был больше на 54,5; 89,1; 9,1; 18,8; 36,4% соответственно и активность лизоцима - на 11,3; 16; 3,2; 4,8; 9,6% соответственно. Т-2 токсин понижает факторы неспецифической резистентности организма. При действии лишь токсина фагоцитарная активность снижалась по сравнению с биологическим контролем на

26,9%, фагоцитарный индекс - на 27,3%, активность лизоцима - на 11,3%. Однако при воздействии Т-2 токсина на фоне введения энтероспорина по сравнению с биологическим контролем показатели снижались на 3,8; 18,2 и 4,1% соответственно. Количество Т- и В- лимфоцитов изменялись в первых пяти группах в отличие от биологического контроля в среднем на 7,29-17,3 и 0,7-4,5% соответственно. В шестой группе эти показатели мало отличались от биологического контроля, а в седьмой группе количество Т- и В- лимфоцитов понизилось на 7,9 и 11,2 %, чем в восьмой группе.

В группах, где применяли только энтероспорин количество эритроцитов и гемоглобина были незначительно увеличены в сравнении с биологическим контролем, а количество лейкоцитов находилось в пределах физиологических колебаний. В группе 6, где применяли Т-2 токсин и энтероспорин, количество форменных элементов крови уменьшались к 30 дню наблюдения в сравнении с биологическим контролем на 2,2 и 1,4% соответственно. В группе 7 количество лейкоцитов на 10 сут резко увеличивалось, а к 30 дню наблюдалось снижение количества как лейкоцитов, так эритроцитов и гемоглобина в сравнении с биологическим контролем на 3,0; 3,1 и 50,0% соответственно.

2.2.7. Ветеринарно-санитарная оценка качества мяса поросят при применении энтероспорина

Исследования свидетельствуют, что мясо поросят, убитых через 2, 5 сут с интервалом 24 ч, после 2-х кратного с интервалом 5 сут и 5-и кратного введения препарата энтероспорин не отличалось по качеству от мяса контрольных животных. Мясо поросят после воздействия препарата энтероспорин не отличалось от мяса контрольных животных и соответствовало ветеринарно-санитарным требованиям и ГОСТу.

Определение биологической полноценности мяса поросят, получавших энтероспорин 2, 5 и 30-кратно ежедневно в дозе 3 мл, проводили на белых крысках (мясо давали в виде фарша). Отклонений клинических признаков не отмечено, в группе биологического контроля возрастание массы тела было значительно меньше, чем в других группах.

2.2.8. Производственные опыты по изучению влияния энтероспорина на рост и развитие животных

В условиях ряда хозяйств РТ проведено изучение эффективности энтероспорина при профилактике и лечении свиней. С профилактической целью обработано 12500 животных, с лечебной – 2870.

Таблица 5. Профилактическая эффективность применения энтероспорина в производственных условиях в СХКП «Шадки»

Группы животных	Количество подопытных животных						
	всего	заболело, гол./%	пали из заболевших, гол./%	Из них подвержены лечению			
				всего	выздоровело, гол./%	пали из леч., гол./%	% падежа
1. Новорожденные	4400	690/15,7	20/2,9	670	645/96,2	25/3,8	0,3

Продолжение таблицы 5

2.Отъем	4365	371/8,5	4/1,1	367	360/98,1	7/1,9	0,05
3.Откорм	3735	175/4,7	10/5,7	165	163/98,8	2/1,2	0,2

Профилактическая эффективность энтероспорина в СХКП «Шадки» составила 84,3-95,3%, а лечебная – 92,5-96,5%.

Таблица 6. Профилактическая эффективность применения энтероспорина в производственных условиях в СХКП «Игенче»

Группы животных	Количество подопытных животных						
	всего	заболело гол./%	пали из заболевших, гол./%	Из них подвержены лечению			
				всего	выздоревело, гол./%	пали из леч., гол./%	% падежа
1.Новорожденные	2300	530/23,0	13/2,4	517	513/99,2	4/0,8	0,5
2.Отъем	3456	301/8,7	7/2,3	294	288/97,9	6/2,1	0,03
3.Откорм	2981	114/3,8	5/4,4	109	108/99,0	1/1	0,17

В СХКП «Игенче» показатели профилактической и терапевтической эффективности были ниже и составили, соответственно, 77,0-96,2% и 87,6-93,4%.

Таким образом, результаты производственных опытов убедительно свидетельствуют о высокой эффективности использования энтероспорина для профилактики и лечения диареи поросят.

ВЫВОДЫ

1. Важную роль в возникновении диареи в исследованных свиноводческих хозяйствах играет систематическое загрязнение кормов микроскопическими грибами, продуцирующими микотоксины. Наиболее часто в кормах выявлялись Т-2 токсин, зеараленон, афлатоксин В₁, стеригматоцистин, охратоксин, ДОН и пенициллотоксины, а также выделялись энтеропатогенные штаммы эшерихий и возбудитель дизентерии.

2. Ежедневное скармливание свиноматкам во второй половине супоросности кормов, экспериментально контаминированных грибами, продуцирующими Т-2 токсин, зеараленон, стеригматоцистин, вызывает у потомства диарею, изменение гематологических показателей, суточного прироста, снижение массы тела у поросят.

3. На основе штамма *V. subtitilis* разработан пробиотик энтероспорин, обладающий выраженным профилактическим и лечебным действием при диарее поросят микотоксической этиологии.

4. Энтероспорин не обладает токсическими, кумулятивными, эмбриотоксическими, тератогенными свойствами и патогенностью. Длительное (до 3 мес) его применение не оказывает отрицательного влияния на физиологические показатели поросят, способствует достоверному увеличению содержания в сыворотке крови общего белка.

5. Экспериментально и в производственных условиях обоснованы эффективные профилактические и лечебные дозы энтоспорина для поросят при применении перорально. При этом они составили: профилактические – 3 мл сразу после рождения и через 5 сут после первого введения, лечебные – 5 мл ежедневно, до исчезновения признаков диареи. Содержание микробных клеток в 1 мл энтоспорина должно быть не менее 2 млрд.

6. Применение энтоспорина с профилактической целью стабилизирует гематологические показатели поросят, снижает заболеваемость и падеж животных; в составе микрофлоры их кишечника увеличивает число молочнокислых бактерий в 10-20 раз.

7. Энтоспорин в лечебных дозах, в зависимости от тяжести диареи, снижает ее признаки. При этом восстанавливаются клинические (температура, пульс, дыхание), гематологические (эритроциты, лейкоциты, гемоглобин) и биохимические (содержание общего белка, глюкозы крови) показатели, нормализуется кишечная микрофлора: количество бифидо- и лактобактерий увеличивается в 10-30 раз.

8. Применение энтоспорина повышает показатели неспецифической резистентности организма у клинически здоровых поросят и при иммунодефиците у животных, моделированном введением Т-2 токсина. У поросят отъемного возраста при использовании пробиотика фагоцитарная активность, фагоцитарный индекс и активность лизоцима увеличивались на 29,2; 41,5 и 8,6 % по сравнению с биологическим контролем. У животных при введении Т-2 токсина (контроль) эти показатели снижались на 26,9; 27,3 и 11,3 %, при воздействии Т-2 токсина на фоне пробиотика они увеличивались по сравнению с контролем на 31,6; 12,5 и 8,2 % соответственно.

9. Экспериментальные, лабораторно-клинические и производственные исследования позволили разработать мероприятия по снижению отрицательного влияния микотоксинов на организм поросят. Мероприятия предусматривают систематический анализ кормов, их обезвреживание или исключение из рационов, загрязненных микотоксинами кормов и использование животным энтоспорина в профилактических и лечебных дозах.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Для внедрения в животноводство предложен новый отечественный пробиотик энтоспорин.

1. Технические условия (ТУ 9384-027-00492474-01) утвержденные директором ФГНУ ВНИВИ (г. Казань) 19.10.2004г, инструкция по изготовлению энтоспорина, утвержденные директором ФГНУ ВНИВИ (г. Казань) 5.02.2003г; 2. Методические рекомендации по борьбе с микотоксикозами животных в Республике Татарстан, утвержденные ГУВ КМ РТ 18.11.2002г; 3. Методические рекомендации по борьбе с микотоксикозами животных в Самарской области, утвержденные МСХ и П Самарской области 01.03.2004; 4. Методические указания по санитарно-микологической оценке и улучшению качества кормов, утвержденные директором ФГНУ ВНИВИ (г. Казань) 19.11.2003.

СПИСОК, ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Ахметов Ф.Г., Никонов С.В., Петрова Н.В., и др. Применение БВМД и цеолитов для профилактики микотоксикозов животных.//Материалы

международной научно-практической конференции «Новые энтеросорбенты и фармакологически активные вещества и их применение в ветеринарии и животноводстве», посвященной 80-летию Заслуженного деятеля науки РФ, д-ра вет. наук, профессора М.И. Рабиновича 26-27 июня, 2002 г. – Троицк, 2002. – С.11-13.

2. Сергейчев А.И., Воробьева А.Н., Садзаглишвили В.А., Никонов С.В., Петрова Н.В., Нигматуллин А.И. Применение препарата ТСС (сульфатилан) при респираторных болезнях телят. //Всероссийская научно-производственная конференция по актуальным проблемам ветеринарии и зоотехнии. – Казань, 2002. – Ч.2. – С.120-121.

3. Зиннатуллин Р.Р., Воробьева А.Н., Никонов С.В., Петрова Н.В., и др. Влияние сочетанного Т-2 и афлатоксикоза на состояние симпато-адреналовой системы. // Материалы международной научно-практической конференции «Новые энтеросорбенты и фармакологически активные вещества и их применение в ветеринарии и животноводстве», посвященной 80-летию Заслуженного деятеля науки РФ, д-ра вет. наук, профессора М.И. Рабиновича 26-27 июня, 2002 г. – Троицк, 2002. – С.37-38.

4. Тремасов М.Я., Равилов А.З., Титова В.Ю., Сергейчев А.И., Нигматуллин А.И., Петрова Н.В., и др. Пробиотик для профилактики и лечения диареи молодняка животных незаразной этиологии. //Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях. Материалы международной научно-практической конференции 23-25 сентября 2002 г. – Воронеж, 2002. – С.597-599.

5. Петрова Н.В., Сергейчев А.И., Никонов С.В. Результаты производственного испытания пробиотика энтероспорина. //Материалы международной научно-производственной конференции по актуальным проблемам Агропромышленного комплекса. – Казань, 2003. – Ч. 1. – С.100-101.

6. Петрова Н.В., Никонов С.В., Нигматуллин А.И., и др. О результатах апробации пробиотика «ЭНТЕРОСПОРИН». //Материалы международной научно-практической конференции. Актуальные проблемы ветеринарной медицины посвященный 60-летию факультета ветеринарной медицины Ульяновской государственной с.х. академии 25-26 сентября 2003 г. – Ульяновск, 2003. – Т.2. – С.140-141.

7. Никонов С.В., Сергейчев А.И., Петрова Н.В., и др. О повышении устойчивости животных к микотоксинам. //Материалы международной научно-практической конференции. Актуальные проблемы ветеринарной медицины посвященный 60-летию факультета ветеринарной медицины Ульяновской государственной с.х. академии 25-26 сентября 2003 г. – Ульяновск, 2003. – Т.1. – С.116-117.

8. Тремасов М.Я., Сергейчев А.И., Ахметов Ф.Г., Садыкова В.Н., Титова В.Ю., Никонов С.В., Петрова Н.В., и др. //Материалы международной научно-практической конференции. Актуальные проблемы ветеринарной медицины посвященный 60-летию факультета ветеринарной медицины Ульяновской государственной с.х. академии 25-26 сентября 2003 г. – Ульяновск, 2003. – Т.1. – С.138-140.

9. Петрова Н.В., Сергейчев А.И., Титова В.Ю., и др. Пробиотик для профилактики и лечения диареи поросят. //Материалы международной научной

конференции посвященный 45-летию ФГУ «ВНИИЗЖ» 30-31 октября 2003 г. Актуальные проблемы инфекционной патологии животных. – Владимир, 2003. С.97-100.

10. Трemasов М.Я., Петрова Н.В. Пробиотик эntероспорин. // Практик, 2003. – №3-4. – С.73-73.

11. Петрова Н.В., Ниматуллин А.И., Титова В.Ю., и др. Пробиотик для ветеринарии. //РАСХН ВНИИВСГЭ. Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. Сборник научных трудов. – М., 2004. – Т116. – С.212-216.

12. Трemasов М.Я., Петрова Н.В., Нигматуллин А.И., и др. Применение пробиотика эntероспорина в ветеринарии. //Международная конференция. Пробиотики, пребиотики, синбиотики и функциональные продукты питания. Современное состояние и перспективы. Сборник материалов международной конференции. –2-4 июня 2004 г. – М., 2004. – С.161-162.

13. Трemasов М.Я., Павлов В.П., Петрова Н.В., и др. Использование пробиотика эntероспорин в животноводстве. //Материалы научно-практической конференции Состояние и проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии в животноводстве. – Чебоксары, 2004. – С.377-380.

14. Петрова Н.В. Результаты испытания пробиотика эntероспорин в условиях хозяйств РТ. //Материалы всероссийской научно-практической конференции. Актуальные проблемы агропромышленного комплекса. – Казань, 2004. – С.155-137.

15. Трemasов М.Я., Петрова Н.В. О применении пробиотика эntероспорин при диареи пушных зверей. //Международная научно-производственная конференция «Актуальные проблемы эпизоотологии на современном этапе», посвященный 85-летию дня рождения академика РАСХН В.П. Урбан. – СПб, 2004 г. – С.135.

Подписано в печать 22.11.04 г. Заказ № 48. Формат 60х84 1/16 Усл.п.л. 1,0 Тираж 100 экз. Отпечатано на офсетном участке ФГНУ ВНИВИ (г.Казань)
Адрес 420075, Казань, Научный городок, 2

№ - - 52

РНБ Русский фонд

2006-4

2419