

На правах рукописи

БИРЮКОВ Максим Владимирович

**ЭТИОЛОГИЯ ПОСЛЕРОДОВЫХ БОЛЕЗНЕЙ У СВИНОМАТОК
И ПРОФИЛАКТИКА ИХ ПРОБИОТИКАМИ**

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

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата ветеринарных наук



Воронеж - 2004

Работа выполнена во Всероссийском научно-исследовательском ветеринарном институте патологии, фармакологии и терапии РАСХН

Научный руководитель:

доктор ветеринарных наук, профессор,
Заслуженный деятель науки РФ,
член-корреспондент РАСХН

Шахов
Алексей Гаврилович

Официальные оппоненты

доктор ветеринарных наук,
профессор

кандидат ветеринарных наук

Кузьмин
Геннадий Николаевич
Ефанова
Лариса Ивановна

Ведущая организация:

Курская государственная сельскохозяйственная академия имени И.И. Иванова

Защита состоится «26» марта 2004 года в 12 часов 30 минут на заседании диссертационного совета Д 220.010.01 при Воронежском государственном аграрном университете им. К.Д. Глинки (394087, г. Воронеж, ул. Ломоносова, 114-).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Воронежского государственного аграрного университета им. К.Д. Глинки.

Автореферат разослан «25» февраля 2004 года

Учёный секретарь диссертационного совета

 Т.Л. Соловьева

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

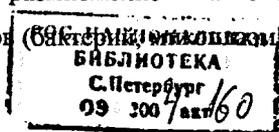
Актуальность темы. Болезни органов размножения у свиноматок проявляются в форме функциональных расстройств яичников, сопровождающихся нарушениями половой цикличности и оплодотворяемости, аборт, первичной слабости родов и мёртворождаемости поросят, задержания: последа, синдрома метрит-мастит-агалактии (ММА), острого и хронического эндометрита, мастита, снижения или прекращения лактации. Они имеют широкое распространение и наносят свиноводству большой* экономического. ущерб (Мисайлов В.Д. с соавт., 2000, Коцарев В.Н., 2001 и др.).

Высокая; заболеваемость маточного поголовья приводит к нарушению ритмично-поточного* производства свинины, бесплодию, и малоплодию свиноматок и их частой выбраковке.

Основными болезнями органов размножения и молочной железы у свиней» являются: метрит-мастит-агалактия, острый; и; хронический-гношк катаральный эндометрит, мастит, гипогалактия или агалактия, первичная слабость родов, задержание последа и др.

В* последние 25-30 лет отечественные ученые ВНИВИПФиТ (В.Д~ Мисайлов, В.Н. Коцарев, А.В. Сотников, Е.Л. Гридяев, Н.И. Шумский и др.), ВИЭВ (Н.Н. Михайлов, Б.Г. Орлянкин и др.), ВНИИЗЖ (В.А. Мищенко, Т.З. Байбиков v и др.), ВНИИВВиМ^ (И.Ф. Вишняков и др.), Санкт-Петербургской i академии ветеринарной медицины,(В.П. Урбан, АН. Гречухин ••и др.) внесли большой вклад в изучение причин нарушений воспроизводительной функции и маститов у свиноматок и разработку мероприятий по их профилактике и терапии.

Большинство исследователей (АН. Гречухин, 1982; В.И. Водяников с соавт., 1984; Е.Л. Гридяев, 1987; В.Д. Мисайлов, 1988; А.А. Кони́на, 2001; Е.Л. Саргасов, 2001; Н.И. Шумский, 2002; Е.Е. Шевелева, 2002 и др.) считает, что непосредственной причиной нарушений воспроизводительной; функции воспалительного характера и мастита является размножение в матке и молочной железе свиноматок различных микроорганизмов (Бактерии, грибки, вирусы и



т.п.) как в отдельности, так и чаще всего в различных ассоциациях на фоне снижения у животных общей? и местной* иммунной? реактивности НИ неспецифической резистентности организма, с последующей его интоксикацией.

Несмотря на проводимые профилактические, меры, патология! репродуктивного тракта у свиней, особенно на промышленных комплексах, является одной из острых проблем; На; наш взгляд это связано с недостаточной изученностью этиологии и патогенеза послеродовых заболеваний.и, в частности, роли дисбактериоза репродуктивного тракта в их возникновении и развитии.

Изучению этого вопроса, а также роли- низкого уровня; местного иммунитета: половой системы в возникновении послеродовой патологии у женщин в последние годы уделяется большое внимание (Бухарин О.В с соавт, 1992; Козлова В.И. с соавт., 1997; Долгушин И.И. с соавт.;, 2000 и др.).

Цель и задачи, исследований; Целью работы г являетсяс комплексное: изучение этиологии» послеродовых заболеваний у свиноматок: и совершенствование их профилактики.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить степень, распространения5 и формы проявления послеродовых заболеваний у свиноматок в 3^х крупных свиноводческих хозяйствах.

2. Изучить этиологию указанных болезней в этих хозяйствах:

2.1. Изучить микробный пейзаж полового тракта клинически здоровых и больных свиноматок.

2.2; Провести исследование сывороток крови больных животных на наличие антител к антигенам возбудителей вирусных и хламидийной инфекций, участвующих в нарушении воспроизводительной функции у свиноматок.

2.3. На основании результатов изучения морфологических и биохимических показателей крови больных свиноматок оценить состояние их метаболизма;

3. Испытать средства для коррекции дисбиоза репродуктивного тракта свиноматок; с. целью повышения эффективности- профилактики* послеродовых болезней и изучить влияние их на биохимический статус животных;

4.Провести производственные испытаниям «Интестевита» для профилактикиММА и эндометрит свиноматок.

Исследования проведены в 2000-2003 г.г. в соответствии с планом НИР ВНИВИПФиТ по заданию 04.0К «Изучить, на молекулярно-биохимическом, структурно-функциональном, системно-физиологическом и экологическом уровнях и определить причины и механизмы перехода организма из нормального состояния в патологическое и на этой основе разработать средства, методы и технологии защиты здоровья и продуктивности животных» (№ гос. регистрации 01.200.117018).

Научная новизна. Впервые изучены микробный пейзаж полового тракта у здоровых свиноматок; до и после осеменения, в период супоросности, после опороса; и при возникновении у них послеродовой патологии. Комплексными исследованиями изучена этиология метрит-мастит-агалактии и эндометрита. Определена эффективность пре- и пробиотических препаратов при профилактике послеродовых заболеваний и влияние их на биохимический статус животных. Установлены нормализующее влияние на микробный пейзаж половых путей свиноматок и некоторые особенности в действии исследованных препаратов на показатели, характеризующие энергетическое обеспечение функций организма.:

Практическая- значимость. В ветеринарную практику предложены: разработанные на основе нормальной микрофлоры пробиотические препараты; «Интестевит» и «Бифитрилак» для коррекции дисбиоза репродуктивного тракта у свиноматок с целью профилактики послеродовых болезней.

Публикации.

Материалы диссертационной работы опубликованы в 2 статьях.

На защиту выносятся следующие основные положения:

о динамике микробного пейзажа; у клинически; здоровых свиноматок, находящихся в различных физиологических состояниях;

об этиологии метрит-мастит-агалактии и эндометрита: у свиноматок в крупных специализированных хозяйствах;

об эффективности пре- и пробиотических препаратов при профилактике послеродовых заболеваний свиноматок и влиянии их на биохимический статус животных;

результаты производственного испытания эффективности интестевита при

профилактике метрит-мастит-агалактии и эндометрита свиноматок в стационарно неблагополучных хозяйствах.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 131 странице, машинописного текста, иллюстрирована 23 таблицами и 13 рисунками. Работа состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материал и методы исследований, результаты собственных; исследований, обсуждение результатов исследований; выводы, практические предложения и списка, литературы, содержащего 222 источника, в т.ч. 77 - иностранных авторов.

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в отделе микробиологии, вирусологии и иммунологии, а также отдела патологии размножения и молочной железы у сельскохозяйственных животных и физико-химических методов исследований? Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института патологии, фармакологии и терапии

Научно-производственные опыты и апробация полученных результатов проведены. в ЗАО племзавод-агрофирма «Краснодонское» Иловлинского района Волгоградской области: по выращиванию и откорму 108 тысяч свиней в год и трех специализированных хозяйствах (СХА МПХ «Николаевское» Аннинского, ООО спецхоз «Вишневатский» Верхнехавского и ОАО «9^я пятилетка» Лискинского ; районов Воронежской области) рассчитанных на получение и выращивание 25-30 тысяч поросят.

Изучение: послеродовых заболеваний проводили с применением эпизоотологических, бактериологических, клинических, биохимических, иммунологических и серологических методов.

Для проведения; бактериологических исследований смывы из половых органов клинически- здоровых и больных послеродовыми заболеваниями* свиноматок (п = 61) брали с помощью стерильных квачей, которые помещали в стерильный физиологический раствор, встряхивали и взвесь использовали для посева.

Посевы проводили на МПБ, МПА, 10% кровяной агар, желточно-солевой агар, солевой агар, среды МРС, Блаурокка, Эндо, Плоскирева, Левина,

Олькеницкого, Симмонса, Сабуро, Гисса с углеводами и др. Инкубацию проводили в термостате при 37°С в аэробных условиях. Для выделения анаэробной флоры, чашки Петри с посевами» культивировали в анаэроостате «АнаероJan фирмы «Oxoid» с использованием соответствующих питательных сред. После 24-48-часовой инкубации изучали культуральные, морфологические и гемолитические свойства микроорганизмов. По 3-5 типичных колоний каждого вида микроорганизмов отсеивали; скошенный МПА, МПА с 10% сыворотки крови барана для дальнейшего изучения.

У выделенных чистых культур бактерий изучали морфологические, тинкториальные, культурально-биохимические свойства общепринятыми в бактериологии методами: Патогенность выделенных культур определяли на белых мышках. Серологическую типизацию эшерихий проводили в РА с О-колизыворотками Краснодарской биофабрики согласно «Наставлению: по применению; агглютинирующих О-колизывороток» (1980). Видовую принадлежность бактерий устанавливали с помощью определителя Д. Берги (1997), «Определителя зоопатогенных микроорганизмов» под редакцией М.А. Сидорова (1995) и определителя «Энтеробактерии» под редакцией В.И. Покровского (1984).

Чувствительность выделенных культур к антибактериальным препаратам определяли методом бумажных дисков с оценкой результатов по величине зоны задержки роста (ЗЗР).

Опыты по изучению профилактической эффективности 4^х пробиотических («Субалин», «Бифитрилак», «Интестевит», «БСЛ») и одного пребиотического («Асид Лак») препаратов были проведены на 111 супоросных свиноматках, второго-пятого опоросов; (массой тела 160-200 кг). Препараты применяли свиноматкам перорально с сухими кормами в течение 10 дней; до опороса. Исследования проводили в соответствии с требованиями к врачебно-биологическому эксперименту (И.Т. Фролов, 1965) по постановке контроля, подбору аналогов, соблюдению одинаковых условий кормления и содержания животных.

Для характеристики клинического состояния у свиноматок учитывали общее состояние, прием корма и воды, измеряли ректальную температуру, определяли

частоту пульса и дыхания, количество и характер; выделений из половых . путей, количество молока, состояние молочной железы, клинический статус поросят.

Для оценки состояния < молочной железы проводили наружный осмотр и пальпацию, при этом обращали внимание на величину и форму долей молочной железы, . их симметричность, состояние кожного покрова; определяли температуру кожного покрова, консистенцию тканей молочной; железы, их болезненность, наличие или отсутствие участков уплотнений или размягчений.

В крови свиноматок определяли содержание эритроцитов и лейкоцитов на счётчике частиц Культер- Каунтер: (Франция), количество гемоглобина - гемоглобинцианидным методом и с помощью гемометра Сали, в сыворотке крови общий белок рефрактометрическим- методом, учитывая коэффициенты преломления качественный состав иммуноглобулинов методом иммунодиффузии в агаровом геле, (по Манчини, 1965), глюкозу, мочевины, кальций, фосфор, щелочную фосфатазу, аланинаминотрансферазу, аспаратаминотрансферазу колориметрическим методом с использованием спектрофотометра Spocol 211 витамины А и Е — колориметрически с помощью; спектрофотометра СФ-26, в крови микроэлементы г — методом атомно-абсорбционной спектрометрии на приборе фирмы Perkin-Elmer.

В сыворотках крови» свиноматок определяли? антитела, к антигенам хламидит в реакции, не прямой; гемагглютинации%. с использованием диагностического набора производства- «Биомед» (г. Пермь); возбудителей; репродуктивно-респираторного синдрома свиней: - в реакции не прямой' гемагглютинации и парвовирусной инфекции' - в реакции торможения гемагглютинации, используя диагностические наборы ВНИИЗЖ (г. Владимир);

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием персонального * компьютера IBM (программа: «Microsoft% Excel: 2000»).

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Распространение послеродовых болезней свиноматок и формы их проявления в специализированных хозяйствах

Распространение и формы проявления послеродовых болезней у свиноматок изучены в условиях трех свиноводческих комплексов (ЗАО племзавод-агрофирма: «Краснодонское», ООО спецхоз- «Вишневецкий» и СХА МХП «Николаевское») на 152-х свиноматках.

Заболеваемость свиноматок послеродовыми болезнями в среднем составила: 52,0%, в том числе ММА - 9,9% и острым послеродовым гнойно-катаральным эндометритом - 42,1%. Наибольшее количество больных животных (70,0%) зарегистрировано в СХА МХП «Николаевское» Аннинского района Воронежской области, в том числе метрит-мастит-агалактией - 15,0% и эндометритом - 55,0%.

Метрит-мастит-агалактия у свиноматок характеризовалась повышением температуры тела до 39,8-40,6 °С, угнетенным общим состоянием, снижением или прекращением приема корма и воды, учащением пульса до 90-116, количества дыхательных движений - до 28-43 в минуту.

У больных свиноматок из половых путей отмечали выделение слизисто-гнойного экссудата: полужидкой консистенции; с буроватым или красноватым оттенком в количестве от 15-25 до 130-170 мл, особенно в утренние часы. Вульва отечная, складчатость кожи незначительная. Слизистая оболочка преддверия влагалища гиперемирована с наличием кровоизлияний, эрозий и разрывов тканей/

Острый послеродовый гнойно-катаральный эндометрит характеризовался выделением из половых органов слизисто-гнойного экссудата, но в меньшем объеме (от 10-15 до 80-120 мл), чем при ММА. Температура тела находилась в пределах 39,0-39,9 °С, частота пульса - 60-68 и дыхания - 18-25 в минуту.

Наиболее часто (44,6%) субклинический мастит регистрировали при ММА, реже при эндометрите (30,8%).

Результаты изучения послеродовой патологии у свиноматок в зависимости от их возраста (под наблюдением находилось 10 (6,6%) животных первого опороса, 47

(30,9%) - второго, 30 (19,7%) - третьего, 27 (17,8%) - четвертого,¹12 (7,9%) - пятого, 13 (8,55%) - шестого и 13 (8,55%) седьмого опоросов»показали, что наибольшая заболеваемость зарегистрирована у животных первого (70%), второго (61,7%) и третьего опоросов; (66,7%), в том числе метрит-мастит-агалактией соответственно 20%, 10,6% и 20% и эндометритом 50%, 51;1% и 46,7%.

Начиная, с 3-4 и. до, 7 опороса, отмечена? тенденция к снижению заболеваемости свиноматок эндометритом и практически (за исключением, животных пятого опороса) не регистрируется синдром ММА.

При? проведении клинических исследований- учитывали- также продолжительность супоросности и выход поросят на свиноматку. У животных, заболевших: метрит-мастит-агалактией; и эндометритом, по; сравнению с клинически здоровыми свиноматками, период супоросности был длинее^ соответственно: на 10,29 и 0,17 дня. Количество поросят; полученных на; одну здоровую свиноматку, было больше, чем*от больных ММА и;эндометритом? животных соответственно на 1,12 и 0,75;

Вышеизложенное свидетельствует о том, что послеродовые заболевания у животных: в условиях свиноводческих комплексов имеют широкое распространение (43,1-70%), проявляются в форме метрит-мастит-агалактии (3,1-15%) и острого послеродового гнойно-катарального эндометрита (40-55%) и чаще всего регистрируются у свиноматок первого, второго и третьего опоросов. При ММА и эндометрите пораженность, долей молочной, железы; субклиническим маститом достигает 38,8-50,5% и 27,1-34,7%. У заболевших после родов свиней по сравнению с клинически здоровыми/отмечена тенденция к увеличению срокам супоросности и снижению получения от них поросят.

Проведенные исследования указывают на< необходимость дальнейшего глубокого изучения этиологииJ послеродовых заболеваний у свиноматок и разработки эффективных средств и методов их профилактики.

3.2 Этиология послеродовых заболеваний свиноматок в крупных специализированных хозяйствах

3.2.1 Результаты бактериологических исследований

3.2.1.1. ГМикрофлора полового тракта клинически здоровых свиноматок

Смывы из влагалища для бактериологических исследований отбирали от клинически здоровых свиноматок ($n=84$), находящихся в различном физиологическом состоянии: до и после осеменения, на 37-41 день супоросности, у глубоко супоросных и после опороса.

От свиноматок до осеменения ($n=12$) в 91,6% случаев выделены лактобациллы, в 75% - стрептококки, в 58,3% - энтеробактерии и в 33,3% - стафилококки, часть проб (8,3%) была стерильна. Всего было изолировано 32 культуры, в том числе эшерихии (*E. coli*) - 7 (53,8%), стрептококки (*Streptococcus sp.*) - 9 (75%), в том числе гемолитические - 5 (46,7%), энтерококки (*Enterococcus sp.*) - 4 (33,3%), стафилококки (*Staphylococcus epidermidis*) - 4 (33,3%), лактобациллы (*Lactobacillus sp.*) - 1Г (91,6%). Из 7 культур эшерихии типировано 6 (87,5%), в том числе серологические варианты: 08 (2 культуры), 020 (2), 078 (1) и 0139 (1).

После осеменения от животных ($n=7$) изолировали лактобациллы - в 85,7%, энтеробактерии - в 71,4%, стрептококки - в 57,2% и стафилококки (*Staphylococcus epidermidis*) - в 42,9% случаев. Из 14,3% проб микрофлора не выделена. Энтеробактерии были представлены эшерихиями 4(4) серовариантов O111, O101, O139 и O119 и *Klebsiella pneumoniae* (1), а стрептококки гемолитическими культурами (3) и энтерококком (1).

Проведенные исследования показали, что в микробном пейзаже полового тракта свиноматок после осеменения по сравнению с таковым у животных до осеменения снизилось представительство лактобацилл и стрептококков, а энтеробактерии и стафилококков увеличилось.

В первой половине супоросности (37-41 день) от свиноматок ($n=6$) в 100% случаев выделяли культуры стрептококков, лактобацилл и сенной палочки, а также энтеробактерии (50%) и стафилококки (33,4%). Всего изолировано 23 культуры микроорганизмов, в том числе эшерихии - 2 (8,7%) (сероварианты O8 и

078), энтеробактер (*Enterobacter aerogenes*) - 1 (4,35%), стрептококки (*Streptococcus* sp.) - 6 (26,1%), в том числе гемолитические - 1 (4,35%) и энтерококки - 5 (21,7%), стафилококки (*Staphylococcus epidermidis*) - 2 (8,7%), лактобациллы (*Lactobacillus* sp.) - 6 (26,1%) и сенная палочка (*Bacillus subtilis*) - 6 (26,1%).

Полученные данные свидетельствуют о том, что от животных в первой* половине супоросности по сравнению со свиноматками после осеменения чаще выделяются культуры стрептококков (энтерококков) и лактобацилл и реже - энтеробактерии; и стафилококки. Кроме указанных микроорганизмов; из влагалища животных была выделена сенная палочка.

В половых органах глубокосупоросных свиноматок (n=51) преобладали стрептококки (100%), лактобациллы (94,1%) и энтеробактерии. (92,2%), в меньшей степени обитали стафилококки (35,3%), сенная палочка и грибы рода: Кандида (3,9%). Всего от таких животных было изолировано 168 культур, в том числе эшерихии - 43 (сероварианты: 08 - 29 культур, 020 - 4, 078 - 3, 0111 - 3, 0101 - 2, 0149 - 1, 04 - 1), протей (*Proteus vulgaris*) - 3, сепраиов(*Serratia odorifera*) - 1, стрептококки (*Streptococcus* sp.) - 51 (в том числе гемолитические - 22 и энтерококки - 28), стафилококки (*Staphylococcus* sp.) —18 (в том числе *Staphylococcus aureus* - 1, *Staphylococcus epidermidis*; - 10, *Staphylococcus intermedius* - 2, *Staphylococcus hyicus* - 3, *Staphylococcus simulans* - 1 и *Staphylococcus xylosus* - 1), лактобациллы (*Lactobacillus* sp.) - 48, сенная палочка (*Bacillus subtilis*) - 2 и грибы рода Кандида (*Candida* sp.) - 2.

Микробный > пейзаж влагалища глубокосупоросных свиной в сравнении с таковым; у животных первой: половины супоросности характеризовался повышением представительства гемолитических стрептококков и энтеробактерии; (особенно эшерихии) и уменьшением уровня сенной палочки.

После опороса из влагалища клинически здоровых свиной (n=8) изолировали; стрептококки, лактобациллы и стафилококки в 100% и энтеробактерии в 87,5% случаев. Всего от таких животных выделена 31 культура, в том числе эшерихии - 7 (сероварианты 08 - 6 и 020 - 1), стрептококки (*Streptococcus* sp.) - 8 (гемолитические - 5 и энтерококки - 3), стафилококки - 8 (*Staphylococcus*

epidermidis - 7 и *Staphylococcus simulans* - 1), лактобациллы (*Lactobacillus* sp.) - 8;

Установлено, что в микробном пейзаже половых путей свиноматок после опороса уменьшается удельный! вес энтеробактериоф и повышается представительство стафилококков и лактобацилл по сравнению с данными, полученными при исследовании глубоководных свиноматок.

3.2.1.2 Микробный пейзаж полового тракта больных свиноматок

Микробный пейзаж полового тракта изучен у 27 свиноматок, больных послеродовыми заболеваниями, и у 5 животных с нарушениями репродуктивной функции (неоднократные безрезультатные осеменения, аборт):

Из половых органов свиней с послеродовыми заболеваниями с (метрит-мастит-агалактия и эндометрит) выделены энтеробактерии (100%), стрептококки; (85,2%), стафилококки (25,9%) и лактобациллы (37%). Энтеробактерии были представлены эшерихиями (81,5%), в том числе серологическими вариантами O8 (40,8%), O78 (18,5%), O20 (11,1%), O115 (3,7%), O9 (3,7%) и протеом (*Proteus vulgaris* - 18,5%). Гемолитические штаммы стрептококков выделяли от 37%, а энтерококки - от 26,9% животных. Стафилококки были представлены двумя видами: *Staphylococcus epidermidis* (18,5%) и *Staphylococcus aureus* (7,4%).

66,6% (n=14: 10 - O8, 3 - O78 и 1 - O20) изолированных эшерихий, 42,9% (n=3: 2 - *Staphylococcus aureus* и 1 - *Staphylococcus epidermidis*) — стафилококков; и 13% (n=3) - стрептококков были патогенны для белых мышей.

У животных, больных ММА и эндометритом, доминирующей микрофлорой; половых путей являются эшерихий, причем в большинстве случаев они обладали патогенными свойствами. От них также часто изолировали протей, золотистый стафилококк и в меньшей степени эпидермальный стафилококк и гемолитические стрептококки. Частота выделения лактобацилл от свиноматок с послеродовыми болезнями была в 2,7 раза ниже, чем от клинически здоровых животных.

От многократно приходящих в охоту (n=3) и абортировавших свиноматок (n=2) в 80% случаев изолировали стрептококки (40% - гемолитические) и лактобациллы, в 60% - энтеробактерии (40% - *E. coli* O8 и 20% - *Serratia odorifera*) и стафилококки (*Staphylococcus epidermidis*) и в 40% - сенную палочку. Из выделенных микроорганизмов только выделенная культура эшерихий

(серовариант 08) в одном случае обладала патогенными свойствами.

Проведенные исследования показали, что определение видового состава микрофлоры полового тракта свиноматок, особенно в период супоросности, позволяет прогнозировать развитие у них послеродовых заболеваний и разработать мероприятия по их профилактике.

3.2.1.3. Чувствительность к антимикробным препаратам культур, выделенных от больных свиноматок

Определение чувствительности: выделенных: штаммов бактерий к антимикробным; препаратам; проводили методом диффузии; в агаровой среде с использованием бумажных дисков производства НИЦФ. Штаммы микроорганизмов, у которых зона задержки роста вокруг диска была 15-25 мм И; более, считали чувствительными к действию антимикробного препарата, менее 15 мм - резистентными, считая диаметр бумажного диска..

Всего протестировали 52 культуры- бактерий. Проведенные исследования показали, что ни один из изученных антибактериальных препаратов не обладал высокой активностью в отношении всех выделенных штаммов микроорганизмов. К препаратам фторхинолонового ряда (ципрофлоксацин, офлоксацин) оказались чувствительны 100% стафилококков, а к цефазолину - 100% стрептококков.

Эшерихии (более 75% культур) были чувствительны к ципрофлоксацину, офлоксацину, фурадонину, фурагину, нетилмицину. От 25 до 50% этих микроорганизмов; были резистентны к гентамицину, канамицину, неомицину, цефазолину, фуракрилину, а более 50% - к стрептомицину, линкомицину, олеандомицину, пенициллину, ампициллину, оксациллину, левомицетину и тетрациклину.

До 25% культур стафилококков были устойчивы к оксациллину, нетилмицину, гентамицину, цефазолину, фурагину, ципрофлоксацину, офлоксацину, от 25 до 50% - к стрептомицину, пенициллину, ампициллину, канамицину, левомицетину, неомицину, тетрациклину, фурадонину, фуракрилину и более 50% культур - к линкомицину и олеандомицину.

Выделенные стрептококки в большинстве случаев были чувствительны к оксациллину, нетилмицину, гентамицину, офлоксацину, цефазолину. От 25 до 50%

культур были резистентны, к стрептомицину, линкомицину, олеандомицину, пенициллину, ампициллину, канамицину, неомицину, левомицетину, ципрофлоксацину, фурагину, фурадонину, фуракрилину и более. 50% - к тетрациклину.

Таким образом, на эшерихии наиболее выраженное действие оказывали офлоксацин, ципрофлоксацин, фурадонин, фурагин и нетилмицин; на стафилококки* - ципрофлоксацин, офлоксацин, цефазолин, оксациллин, нетилмицин, гентамицин и фурагин и на стрептококки - нетилмицин; гентамицин, офлоксацин, цефазолин, оксациллин. Наибольшее количество резистентных культур эшерихии было к линкомицину, олеандомицину, пенициллину, ампициллину и тетрациклину, стафилококков - к линкомицину и олеандомицину, стрептококков — к тетрациклину.

При использовании антимикробных средств для профилактики послеродовых заболеваний # в ? изучаемых; хозяйствах выявили: их недостаточную эффективность. Применение антибиотиков часто сопровождалось выработкой устойчивости к ним патогенных микроорганизмов > и губительно сказывалось на: полезной; микрофлоре. Проблема множественной г лекарственной устойчивости микроорганизмов подтверждается нашими? исследованиями. При послеродовых заболеваниях свиноматок из половых путей преимущественно изолируются различные ассоциации микроорганизмов и практически: невозможно подобрать, препарат, который;. действовал. бы на всех возбудителей одновременно. Эти данные обосновывают необходимость разработки новых средств для профилактики заболеваний, которые бы обладали антагонистическим действием, направленным против микроорганизмов, вызывающих послеродовые заболевания у свиноматок.

3.2.2 Результаты серологических исследований

Для изучения^ циркуляции и возможного участия возбудителей хламидиоза, репродуктивно-респираторного синдрома и парвовирусной инфекции в этиологии послеродовых заболеваний определяли наличие антител к ним в сыворотке крови клинически здоровых и больных свиноматок (n=86).

При учете результатов серологических исследований диагностическим титром считали: 1:80—1:160 для РРСС, 1:80 и выше - хламидиоза и 1:256 и более - для ПВИС.

Антитела к антигену РРСС в титрах 1:80-1:160 обнаруживали в сыворотке крови как клинически здоровых (62,2%), так и больных (59,2%) свиноматок, что свидетельствует о циркуляции вируса среди животных в изучаемых хозяйствах:

Наличие антител к парвовирусу в титрах 1:256-512 у 54,1% животных, оставшихся после опороса клинически здоровыми, и у 42,9% больных послеродовыми болезнями свидетельствует о напряженном иммунитете у них к этой инфекции % в связи с проводимой в свиноводческих хозяйствах плановой иммунизацией животных за 2-3 недели до осеменения.

Отсутствие антител к хламидийному антигену у клинически здоровых свиноматок и наличие их в титрах 1:80-1:160 у 16,3% животных больных послеродовыми болезнями свидетельствуют о циркуляции хламидий в хозяйствах и возможном участии их в гибели плодов и возникновении послеродовой* патологии.

Проведенные клинические исследования подопытных свиноматок в период супоросности и после опороса и новорожденных поросят не выявили симптомов, характерных для парвовирусной болезни (прохолосты свиноматок, мумификация плодов, рождение мертвых и нежизнеспособных поросят, малочисленные пометы) и репродуктивно-респираторного синдрома (аборты и преждевременные опоросы свиноматок, рождение мертвых, нежизнеспособных и уродливых поросят) свиней, за исключением снижения (на 0,75-1,12) количества поросят в пометах больных послеродовыми болезнями животных.

Проведенные исследования свидетельствуют о благополучии изучаемых хозяйств по парвовирусной; инфекции, циркуляции возбудителя РРСС и хламидий среди животных и о возможном участии последних в гибели плодов и возникновении послеродовой патологии у свиноматок.

3.2.3 Биохимические и морфологические показатели крови свиноматок, больных послеродовыми заболеваниями

Для определения гомеостаза у больных свиней (n=30) по сравнению с таковым у клинически здоровых животных (n=19) в первые сутки после опороса были проведены морфологические и биохимические исследования крови.

Как показали проведенные исследования существенных различий в

морфологических и биохимических показателей крови, характеризующих состояние: метаболического статуса в первые сутки после родов, у клинически здоровых и заболевших свиноматок не установлено. Многие из изученных показателей метаболизма у животных обеих групп (процентное соотношение фракций* белка, уровень- общих липидов, глюкозы, активности ферментов переаминирования, молочной кислоты и др.) отличаются от норм, принятых для этого вида животных, что является следствием существенных метаболических перестроек в организме сразу после родов.

В тоже время следует отметить, что у заболевших свиноматок, по сравнению со здоровыми/ в первые сутки после родов было выше содержание общих; липидов на: 11,5 % ($P < 0,01$), что является одним из проявлений* липотропного эффекта стресса. У заболевших свиноматок был выше на 29,7 % ($P < 0,05$) уровень мочевины, что свидетельствует о некотором преобладании у них активности катаболических процессов. С учетом более высокого содержания в крови неорганического фосфора, как: показателя деградации макроэргических фосфатов, и: величины соотношения лактат/пируват. можно говорить и о более значительных энергетических затратах у заболевших свиноматок, связанных с реализацией стресс-реакции в ранний послеродовой период.

У оставшихся; здоровыми. после родов> свиноматок процессы энергетического: и пластического обеспечения* адапционно-компенсаторных процессов протекают в ранний послеродовой период более: оптимально. Это имеет существенное значение. в развитии акушерской = патологии и связано * со следующим; С одной стороны, при нарушении-процессов, обеспечивающих: осуществление организмом защитно-приспособительных реакций, стресс из общего звена адаптации превращается в неспецифическое патогенетическое звено; большинства заболеваний, с другой стороны, не менее важным обстоятельством является общепризнанное иммуносупрессивное действие стресса, проявляющееся в угнетении факторов: как. клеточного, так и гуморального иммунитета (Пшенникова М.Г., 2001; Рецкий М.И. с соавт., 2002).

Проведенные комплексные исследования по изучению этиологии: послеродовых болезней у свиноматок в условиях крупных свиноводческих

хозяйств показали, что главной причиной их возникновения и развития являются патогенные и потенциально патогенные микроорганизмы (эшерихии, протей, гемолитические стрептококки, золотистый и эпидермальный стафилококки), в большинстве случаев устойчивые к широко применяемым в ветеринарной практике антибактериальным препаратам. Возникновению метрит-мастит-агалактии; и эндометрита у животных способствуют дисбактериоз в половых путях, нарушение обмена веществ и снижение резистентности организма, которые усугубляются при их развитии. Полученные результаты указывают на необходимость наряду с нормализацией обмена веществ у животных, повышением общей неспецифической устойчивости организма применение пре- и пробиотических препаратов для нормализации микробного пейзажа полового тракта супоросных свиноматок с целью профилактики у них послеродовой патологии.

3.3 Профилактика послеродовых заболеваний у свиноматок с использованием пре- и пробиотических препаратов

3.3.1 Результаты клинических исследований и показатели микробиоценоза¹ влагалища при применении пре- и пробиотических препаратов

Для профилактики болезней репродуктивного тракта у свиноматок (эндометриты, ММА) было проведено сравнительное испытание пробиотических препаратов «Бифитрилак», «Интестевит», «БСЛ», «Субалин» и пребиотического препарата «Асид Лак».

С этой целью в ЗАО агрофирма-племзавод «Краснодонское» Иловлинского района Волгоградской области были подобраны по принципу аналогов 6 групп по 10-13 свиноматок. Животным опытных групп пребиотический и пробиотические препараты применяли перорально с сухими кормами ежедневно в течение последней декады супоросности. Препараты назначали в дозах, предусмотренных в наставлениях по их применению для профилактики желудочно-кишечных болезней, предупреждения стрессовых воздействий, коррекции микробного пейзажа, повышения сохранности животных, в том числе бифитрилак -

1г/животное,-асид лак - 3кг/т комбикорма, интестевит - 5-7 доз/животное, субалин - 1 доза/50 кг. массы, тела, БСЛ - 1 г/животное. Свиноматкам контрольной *i* группы препараты не применяли. В период проведения * опыта обработка подопытных животных* антибактериальными препаратами не проводилась.

В первые четыре дня; после опороса оценивали клиническое'состояние животных,, учитывали» заболеваемость их послеродовыми болезнями. При клинических исследованиях ^ установлено, что в 1^{ой} опытной группе, где применяли «Бифитрилак», было 5 здоровых и 3 больных (62,5% и 37,5%); во 2^{ой} («Асид Лак») - соответственно 5 и 5 (50% и 50%); в 3^{ей} («Интестевит») — 11 и 1 (91,6% и 8,4%); в 4^{ой} («БСЛ») - 4 и 8 (33,3% и 66,7%) и в 5^{ой} («Субалин») - 5 и 7 (41,7% и 58,3%) животных. В контрольной группе заболели все: 13 свиноматок (100%).

Бактериологические; исследования содержимого-половых путей от трех; свиноматок из каждой группы: проводили* перед применением препаратов, за; несколько часов до опороса и в первые сутки после него.

У животных, получавших «Бифитрилак», произошло существенное: снижение: частоты выделения энтеробактерий: и: энтерококков (у оставшихся клинически здоровыми), и частично - лактобацилл.

После: опороса: у свиноматок, которыми применяли: пребиотическиш препарат «Асид Лак», снизилась частота, выделения! энтеробактерий и.' лактобацилл.

Применение интестевита; сопровождалось ^ значительнш снижением- частоты выщеления с эшерихий* и повышением уровня; лактобацилл в половом тракте свиноматок.

У свиней,- получавших с: кормом «БСЛ», но^вЛпоследствии заболевших-. послеродовыми^f. болезнями, в микробном' пейзаже полового; тракта; снизился удельный* вес лактобацилл и увеличилось содержание энтеробактерий, что свидетельствует о его дисбиотическом состоянии

При назначении* субалина у животных, впоследствии- заболевших послеродовыми; болезнями, снизилась частота выделения лактобацилл и

увеличилась степень изоляции энтеробактерий из полового тракта. Аналогичные изменения в микробном пейзаже отмечены у свиноматок контрольной группы в конце супоросности и после опороса. Таким образом, наиболее выраженное, оптимизирующее влияние на микробный пейзаж полового тракта свиноматок оказало применение интестевита, а также бифитрилака, обеспечившее высокий профилактический эффект.

Полученные результаты позволяют рекомендовать изученные пре- и пробиотические препараты, особенно «Интестевит» и «Бифитрилак» для коррекции микробного пейзажа репродуктивного тракта свиноматок: с целью профилактики послеродовых болезней.

3.3.2 Морфологические и биохимические показатели крови свиноматок при применении пре- и пробиотических препаратов!

Динамику изменений морфологических, биохимических и иммунологических показателей крови у свиноматок (n=30, по 5 из группы) изучали до дачи препаратов, после 10-дневного курса их применения, а также через неделю после опороса

Из результатов исследований видно, что динамика и характер изменений морфологических и биохимических показателей крови свиноматок опытных групп, в целом, имеет однонаправленный характер. Под влиянием всех препаратов происходило повышение содержания витамина А и снижение количества общих липидов. Применение «Бифитрилака», «Субалина» и «Интестевита» сопровождалось увеличением в крови содержания эритроцитов, а «Интестевита» и «БСЛ» и уровня в них гемоглобина. Вместе с тем установлены и некоторые особенности в действии исследованных препаратов, которые, в основном, связаны с влиянием их на показатели, характеризующие энергетическое обеспечение функций организма.

После применения препарата "Интестевит" и "БСЛ" в крови у свиноматок происходит увеличение концентрации в крови пировиноградной кислоты на фоне уровня глюкозы, что свидетельствует о преобладании аэробного пути окисления легкодоступных источников энергии, при котором синтезируется наибольшее число АТФ при окислении одной молекулы глюкозы. При применении препарата;

"Бифитрилак"" подобные изменения выражены значительно слабее, а при применении препарата "Асид-Лак" этого вообще не происходит. В контрольной же группе и при применении препарата "Субалин" к периоду опороса происходит увеличение только уровня глюкозы. У свиноматок контрольной группы, а также свиноматок, получавших: "Субалин" и "Бифитрилак" в крови при втором исследовании кровис установлены, и: самые высокие значения; соотношения} лактат/пируват. Это * свидетельствует о преобладании у них анаэробного і пути > окисления глюкозы, что менее выгодно с энергетической точки зрения; а также о том, что у животных этих групп к опоросу проявляются признаки относительной? гипоксии, что характерно для этого периода.

У свиноматок контрольной? группы; для? обеспечения энергетических потребностей; организма в= период опороса происходит активизация использования? не только* углеводных источников энергии, но и азотистых веществ. Об этом свидетельствует наиболее выраженное (по сравнению і со свиноматками^ опытных групп) повышение: перед: опоросом активности ферментов переаминирования? и, как следствие: этого, заметный. рост уровня; мочевины; вг крови. Наименее въфажены изменения в показателях азотистого обмена в этот период у свиноматок, получавших препараты "Асид-Лак", "Интестевит" и "БСЛ". "

Это может быть свидетельством того, что у свиноматок из указанных групп более оптимально протекают процессы не только і энергетического, но и пластического обеспечения функций организма в условиях подготовки к родам.

Оценивая; в целом состояние метаболического? статуса у свиноматок, получавших пре- и пробиотические препараты, можно констатировать, что у животных, которым применяли» препараты; "Интестевит" и "БСЛ" течение процессов і энергетического и пластического обеспечения.* функций ь организма, перед опоросом наиболее оптимально. С учетом потенцирующего влияния этих препаратов =г на уровень одного ? из основных; эндогенных биоантиоксидантов* - витамина і Е (Аршавский И.А., 1976), а также уровень меди, цинка и железа, содержащихся в активных центрах таких ферментов, как супероксиддисмутаза (Чернуха Е.А. с соавт., 1989) можно говорить, по-видимому, и о потенцирующем

действии этих препаратов и на систему антиоксидантной защиты; организма, состояние. которой при родах и в ранний послеродовой; период имеет важное значение для ограничения; избыточной активизации- процессов свободнорадикального окисления, играющих существенную роль в патогенезе родовых и послеродовых заболеваний у животных (Мичулис Я.Д., 1990; Соколова Н.И. с соавт., 1992; Bickhardt K. et al., 1988).

3.3.4 Производственное испытание эффективности пробиотического препарата «Интестевит» при профилактике послеродовых заболеваний у свиноматок

Эффективность применения пробиотического препарата «Интестевит» при профилактике послеродовых заболеваний у свиноматок; (метрит-мастит-агалактии и эндометрита) нами изучена в производственных условиях: ООО спецхоз «Вишневецкий» Верхнехавского и ОАО «9^я Пятилетка» Лискинского районов Воронежской области где по принципу аналогов были отобраны опытные (n=20 и n=110) и контрольные (n=24 и n=92) группы животных.

Супоросным свиноматкам опытных групп¹ «Интестевит» применяли перорально с сухими кормами в течение 10 суток перед опоросом - 5-7 доз на животное. Свиным контрольной группы препарат не назначали. В период опыта, антибактериальные препараты животным не применяли.

За свиноматками в течение четырех дней: после опороса осуществляли постоянное клиническое наблюдение, при этом учитывали их общее состояние, показатели температуры тела, частоты пульса и дыхания, прием корма и воды, состояние: половых органов и молочной железы, количество и характер выделяемого из половых путей экссудата;

Температура: тела у животных опытных групп составила в среднем $39,06 \pm 0,04^{\circ}\text{C}$ и была достоверно ниже ($P < 0,001$), чем у контрольных свиноматок - $39,33 \pm 0,048^{\circ}\text{C}$.

У больных животных частота пульса находилась в пределах 96-130 ударов; в минуту, а дыхательных движений - 27-32. Общее состояние было угнетенным, аппетит отсутствовал или был понижен.

Наружные половые органы, слизистая оболочка влагалища заболевших

свиноматок были отечными и гиперемированными. На слизистой оболочке влагалища регистрировали точечные и полосчатые кровоизлияния/ Из половых путей выделялся,- слизисто-гноенный экссудат жидкой* или; полужидкой? консистенции с буроватым или красноватым оттенком в количестве*30-100 мл. Доли: молочной железы не; увеличены,- при пальпации: безболезненные, эластичной или упруго-эластичной консистенции.

У клинически здоровых животных общее состояние* и аппетит был в пределах; нормы, отечность вульвы незначительна. Частота пульса: и дыхания соответственно составили $82,33 \pm 1,63$ и $17,22 \pm 1,81$ в минуту. Молочная железа у них при; пальпации была подвижной, эластичной, безболезненной. Слизистая оболочка влагалища у большинства животных была бледно-розового цвета, у некоторых умеренно гиперемирована.

В опытных группах заболеваемость свиноматок составила 10 и 10,9%, в контрольных - соответственно 70,8 и 84,8%.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о высокой эффективности интестевита при профилактике послеродовых болезней у свиноматок, что позволяет рекомендовать его для широкого; применения! в ветеринарной практике,

4. ВЫВОДЫ

1. В крупных свиноводческих хозяйствах: послеродовые заболевания^ у животных, как факторные инфекции, имеют широкое распространение (43,1-70%), проявляются в форме; метрит-мастит-агалактии (3,1-15%) и; острого послеродового гнойно-катарального эндометрита (40-55%) и чаще регистрируются у свиноматок первого, второго и третьего опоросов. У заболевших после опороса свиноматок, по сравнению с оставшимися клинически здоровыми, отмечены тенденция к увеличению срока супоросности и снижению количества полученных от них поросят-и высокая пораженность (44,6 и 30,8%) молочной железы субклиническим маститом;.

2. Микробный: пейзаж влагалища, клинически, здоровых; свиноматок, находящихся в различных физиологических» состояниях, был представлен

лактобациллами; (85,7-100%), стрептококками; (57,2-100%), энтеробактериями (50-92,2%), стафилококками. (33,3-100%), сенной палочкой. (3,9-100%), дрожжевыми грибами рода Кандида (3,9%).

3. Из полового тракта, свиноматок, с послеродовыми заболеваниями (метрит-мастит-агалактия и эндометрит), как правило, выделяли энтеробактерии (100%), стрептококки (85,2%), реже стафилококки (25,9%) и лактобациллы (37%). Энтеробактерии были представлены в основном эшерихиями (81,5%), из которых; 62,9% обладали патогенными свойствами. Частота выделения лактобацилл была: в 2,7 раза ниже, чем от клинически здоровых животных.

4. От многократно *i* приходящих в охоту и абортировавших свиноматок в; 80% случаев изолировали стрептококки и лактобациллы, в 60% -энтеробактерии (40% - *E. coli* 08; из них 20% обладали патогенными свойствами) и стафилококки» (*Staphylococcus epidermidis*) и в 40% - сенную палочку.

5; Большинство- патогенных культур эшерихий; (75,9-86,2%) были чувствительны, к ципрофлоксацину, офлоксацину, фурагину, фурадониу и нетилмицину, стафилококков? (80-100%) - к ципрофлоксацину, офлоксацину, цефазолину, оксациллину, нетилмицину, гентамицину и фурагину, стрептококков (87,5-100%) - к цефазолину, нетилмицину, гентамицину, офлоксацину и оксациллину. Более 50% культур эшерихий были устойчивы к: линкомицину, олеандомицину, пенициллину, ампициллину и тетрациклину, стафилококков - к линкомицину и олеандомицину и стрептококков - к тетрациклину.

6. Многие морфологические: и биохимические показатели крови, характеризующие состояние метаболического статуса у клинически здоровых и заболевших свиноматок в первые сутки после родов, существенно не отличались. Однако более высокие содержание общих липидов, мочевины, неорганического фосфора и величина соотношения[^] лактат/пируват свидетельствуют о преобладании! у заболевших животных катаболических процессов и более значительных энергетических затратах, связанных с реализацией стресс-реакции в ранний? послеродовой период. У клинически здоровых свиноматок энергетическое и пластическое обеспечение адаптационно-компенсаторных процессов после опороса более оптимально и это снижает риск возникновения и

развития послеродовой патологии.

7. В крупных свиноводческих хозяйствах непосредственной, причиной? возникновения и развития - послеродовых заболеваний у свиноматок; являются: патогенные и потенциально; патогенные микроорганизмы (эшерихии, протей, гемолитические стрептококки; золотистый? и эпидермальный стафилококки), в большинстве случаев устойчивые к широкоприменяемым в ветеринарной г практике: антибактериальным препаратам; Возникновению метрит-мастит-агалактиш эндометрита у животных способствуют дисбактериоз в половых: путях, нарушение обмена веществ и снижение резистентности: организма; которые усугубляются при их развитии.

8. Применение пре- и пробиотических препаратов свиноматкам: в последние 10 дней- супоросности в значительной, степени* предупреждает возникновение и развитие у них послеродовых болезней. Наиболее выраженный • профилактический эффект обеспечили «Интестевит» (91,6%) и; «Бифитрилак» (62,5%), в меньшей степени - «АсидЛак» (50%), «Субалин» (41,7%) и «БСЛ» (33,3%).

9. При назначении* «Бифитрилака» уменьшается: частота: изоляции? из полового тракта животных энтеробактерий; и энтерококков,. «Интестевита» и «Асид Лака» - энтеробактерий и, в частности, патогенных эшерихии. Применение *

«Интестевита» сопровождается также увеличением в содержимом половых, путей представительства лактобацилл.

10. Под влиянием пре- и пробиотических препаратов; происходило повышение содержания в; крови і витамина к А и снижение количества; общих липидов. Применение «Бифитрилака», «Субалина» и «Интестевита» сопровождалось также увеличением содержания эритроцитов, а «Интестевита» и: «БСЛ» и: уровня? в: них і. гемоглобина. Последние, кроме того, оптимизировали: течение процессов* энергетического и пластического обеспечения? функций = организма животных перед опоросом.

11. Производственные испытания «Интестевита» при профилактике послеродовых заболеваний- свиноматок; в двух стационарно* неблагополучных хозяйствах выявили его высокую эффективность, индекс защиты составил 85,9-87,1%.

5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Для профилактики послеродовых болезней у свиноматок применять за 10 дней до опороса пробиотические препараты «Интестевит» в количестве 5-7 доз и «Бифитрилак» в дозе 1г на животное.

Библиографический список публикаций по теме диссертации

1. Бирюков М.В. Микробиоценоз полового тракта свиноматок до опороса // Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях: Мат. межд. конф.-Воронеж, 2002.-С.137-139
2. Бирюков М.В., Шевелева⁵, Е.Е. Резистентность к антимикробным препаратам микроорганизмов, выделенных от свиноматок; с послеродовой патологией- // Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях: Мат. межд. конф.- Воронеж, 2002.- С. 651-652.

Подписано в печать 24.02.2004г. Формат 60x84 1/16.
Бумага кн.-журн. П.л. 1,0. Гарнитура Тайме.
Тираж 100 экз. Заказ № 256

Типография Воронежского государственного аграрного университета
им. К.Д. Глинки
394087 Воронеж, ул. Мичурина, 1

№ - 3998