

На правах рукописи

Бобрик Оксана Николаевна

**СОСТОЯНИЕ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА ЦЫПЛЯТ
ПРИ ДИАРЕЙНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ РАЗНОЙ ЭТИОЛОГИИ
И ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ**

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

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Санкт- Петербург 2006

Работа выполнена на кафедре эпизоотологии, микробиологии,
паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы
в ФГОУ ВПО «Брянская государственная сельскохозяйственная академия»

Научный руководитель-

кандидат ветеринарных наук,
доцент **Бовкун Галина Федоровна**

Официальные оппоненты:

доктор ветеринарных наук,
профессор **Придыбайло Николай Дмитриевич**

кандидат ветеринарных наук
Кудрявцева Анна Владимировна

Ведущая организация:

ФГОУ ВПО «Московская государственная академия
ветеринарной медицины и биотехнологии
имени К.И.Скрябина»

Защита диссертации состоится «23» июня 2006 г. в 13 часов на заседании диссертационного совета Д 220.059.03 при ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» по адресу: 196084, г. Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д.5

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

Автореферат разослан « » мая 2006 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат ветеринарных наук, доцент

О.В.Узюмова

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

В условиях интенсификации птицеводства и неблагоприятной экологической ситуации в стране наиболее широко распространены болезни желудочно-кишечного тракта, в патогенезе которых важную роль играет микрофлора [Карпуть И.М., Бабина М.П., 1998; Карпуть И.М., 1998].

Для лечения заболеваний органов пищеварения широко применяются антимикробные препараты, при использовании которых изменяется симбиотическое равновесие микрофлоры желудочно-кишечного тракта, уменьшается количество облигатных микроорганизмов и повышается уровень условно-патогенной микрофлоры с множественной лекарственной резистентностью, появляются высоковирулентные штаммы эшерихий неизвестных ранее серовариантов, от чего значительно снижается эффективность лечебно-профилактических мероприятий [Тимошко М.А., 1990; Мишурнова Н.В., Киржаев Ф.С., 1993; Бабина М.П., Карпуть И.М., 1996, 1997].

Альтернативой применения противомикробных препаратов может быть коррекция эндомикроэкологии цыплят с помощью пробиотиков и пребиотиков.

К настоящему времени накоплено большое количество данных об использовании в животноводстве и птицеводстве пробиотических препаратов для регулирования нормального состава микрофлоры кишечника, снижения последствий различных токсинов, повышения естественной резистентности, ускорения роста и повышения продуктивности [Антипов В.А., 1991; Бабина М.П., Карпуть И.М., 1993; Джанова З.Ф., 1995; Сидоров М.А., Субботин В.В., Данилевская Н.В., 2000; Каблучеева Т.И., 2001; Бовкун Г.Ф., 2002, 2003].

Современное направление в профилактике и лечении заболеваний, обусловленных изменением состава кишечного микробиоценоза – это использование препаратов, обеспечивающих колонизацию кишечника облигатной микрофлорой, за счет повышения ее выживаемости, адгезивности и метаболической активности [Corrier D.E., Hinton A. et al., 1990; Максимов В.И., Родоман В.Е., Бондаренко В.М., 1998; Храмцов А.Г., Рябцева С.А. и др., 1999; Харитонов В.Д., Филатов Ю.И. и др., 2000]. В литературе мало сведений об ассортименте бифидогенных веществ, не до конца изучены стимулирующие и лечебные свойства первого соединения данного класса – лактулозы.

Изучение микроэкологии толстого отдела кишечника способствует выявлению причин функциональных и деструктивных нарушений органов пищеварения и выбору адекватных средств профилактики и терапии заболеваний органов пищеварения, в том числе пребиотиков с разными принципами конструирования.

Цель работы. Изучить состояние микробиоценоза кишечника цыплят при диарейных заболеваниях и колибактериозе и определить эффективность бифидогенных веществ субстратного и метаболитного типа для коррекции дисбиотических нарушений.

Задачи исследования:

1. Изучить состояние микробиоценоза кишечника цыплят при диарейных заболеваниях разной этиологии.
2. Изучить бифидогенное влияние сухой и жидкой лактулозы синтетического происхождения на флору слепых отростков цыплят-бройлеров кросса «Иза-15» и их профилактические, стимулирующие последствия.

3. Оценить целесообразность профилактического действия сочетанного применения пробиотического препарата «Бифинорм» и сухой лактулозы.

4. Изучить влияние выпаивания бифидогенной смеси субстратно-метаболического типа на состояние толстокишечного микробиоценоза цыплят – бройлеров «Иза-15», морфологические показатели зоба и кишечника, гематологические показатели, уровень фагоцитоза, динамику роста.

5. Разработать проект ТУ и наставления по применению лактулозы в птицеводстве для утверждения в Ветфармсовет Минсельхоза России.

Научная новизна. Изучено состояние микробиоценоза кишечника цыплят при гастроэнтеритах, энтеритах, энтероколитах, панкреатитах, гепатитах и холециститах. Установлено, что при заболеваниях, протекающих с синдромом диареи, отсутствовали бифидофлора, в ряде случаев – лактофлора, полезные эшерихии, но доминировали гемолитические гнилостные бактерии, стафилококки, грибы, условно-патогенные энтеробактерии. Отмечали, что развитие дисбактериозов сопровождалось деструктивными изменениями в слизистой и подслизистой слое кишечника.

При диарее цыплят 25- и 120-дневного возраста, обусловленной патогенными эшерихиями, регистрировали отсутствие бифидобактерий, полезных эшерихий, у большинства – лактофлоры и колонизацию слизистой слепых отростков и 12-перстной кишки условно- патогенными энтеробактериями.

Установлена колонизирующая активность жидкой и сухой лактулозы, ее комплексного применения с натриевыми солями короткоцепочных жирных кислот и их пребиотическое действие.

Выявлено положительное влияние сочетанного применения сухой лактулозы и пробиотического бифидосодержащего препарата «Бифинорм» на становление микробиоценоза кишечника цыплят, зоотехнические показатели.

Разработаны проект ТУ и наставления по применению бифидогенной добавки «Ветелакт», содержащей в качестве основного действующего вещества лактулозу не менее 55 % по сухому веществу, для профилактики и лечения дисбактериозов у животных. Для коррекции дисбиотических изменений кишечника и профилактики заболванений с синдромом дисбактериоза рекомендуем выпаивать бифидогенную добавку «Ветелакт» цыплятам с суточного возраста по 0,05 мл на голову или 50 мл на 1000 голов один раз в день в течение 3-х дней, цыплятам старше 50 дней по 5 мл на голову в течение 30 дней.

Практическая значимость работы заключается в том, что изучено состояние микробиоценоза кишечника цыплят при диарейных заболеваниях разной этиологии, сопровождающихся развитием дисбактериозов, что позволяет обосновать применение препаратов бифидогенного действия для коррекции эндомикроэкологических нарушений.

Научно обосновано применение пребиотических добавок при выращивании цыплят, на основании полученных данных о влиянии разных доз сухой, жидкой лактулозы, комплексного применения жидкой лактулозы и натриевых солей короткоцепочных жирных кислот на состояние микробиоценоза, сохранность, динамику роста, уровень фагоцитоза.

Предложено сочетанное применение пробиотического препарата Бифинорм и сухой лактулозы.

Научные положения диссертации использованы в составлении нормативной документации: проекта ТУ и наставления по применению бифидогенной добавки «Ветелакт» для профилактики и лечения дисбактериозов у животных.

Реализация результатов исследования

Научные положения диссертационной работы и практические предложения производству вошли в:

- Наставление по применению бифидогенной добавки «Ветелакт», содержащей в качестве основного действующего вещества лактулозу не менее 55 % по сухому веществу, в ветеринарии 4-03/0871, одобрено Совстом по ветеринарным препаратам Департамента ветеринарии Минсельхоза России 18.11.2003 г.;
- Технические условия: бифидогенная добавка «Встелакт» ТУ 9229-007-537574-76-03, одобренные Советом по ветеринарным препаратам Департамента ветеринарии Минсельхоза России 17.11.2003 г.

Апробация материалов диссертации. Результаты исследований доложены и обсуждены на:

- Межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов, посвященной 90-летию Воронежского государственного аграрного университета «Вклад молодых ученых в развитие аграрной науки в начале XXI века» (Воронеж, 2003);
- 2-м Международном симпозиуме «Современные проблемы ветеринарной диетологии и нутрициологии» (Санкт-Петербург, 2003);
- Международной юбилейной научно-практической конференции «Новое в диагностике, профилактике и лечении инфекционных и незаразных болезней птиц» (Санкт-Петербург, 2004);
- 3-м Международном симпозиуме «Современные проблемы ветеринарной диетологии и нутрициологии» (Санкт-Петербург, 2005)

Апробация диссертации проведена 29 ноября 2005 г. на расширенном заседании кафедры эпизоотологии, паразитологии, микробиологии и ветеринарно-санитарной экспертизы; протокол № 5 от 29.11.2005 г.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, в том числе в журнале «Птицеводство» и сборниках научных трудов.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов исследований, обсуждения, выводов, предложения производству, списка литературы и приложений. Работа изложена на 156 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 37 таблицами, 7 рисунками. Список литературы включает работы 316 отечественных и зарубежных авторов.

Основные положения, выносимые на защиту

- 1 Изучение состояния микробиоценоза кишечника цыплят при диарейных заболеваниях разной этиологии.
2. Бифидогенное влияние на микрофлору слепых отростков цыплят-бройлеров сухой и жидкой лактулозы. Профилактическое и ростостимулирующее действие препаратов.
3. Целесообразность сочетанного применения пробиотического препарата Бифинорм и сухой лактулозы цыплятам яичного кросса «Хайсекс».

4. Эффективность выпаивания бифидогенной смеси натриевых солей короткоцепочных жирных кислот и жидкой лактулозы.
5. Производственные испытания и разработка научно-технической документации.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работу выполняли в лаборатории ветеринарной микробиологии кафедры эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы Брянской ГСХА, в птицеводческих хозяйствах Брянской области ООО «Снежка» и ОАО «Победа-Агро» с 2001 по 2004 гг. Работа была включена в координационную программу ВНИВИП по заданию 07.08. «Обосновать теоретические аспекты и разработать принципы профилактики бактериальных болезней птиц, вызываемых эпидемически опасной кишечной микрофлорой с целью обеспечения ветеринарного благополучия промышленного птицеводства». Особую благодарность автор выражает заведующей отделом микробиологии ВНИВИП, заслуженному деятелю науки РФ, доктору ветеринарных наук, профессору Борисенковой А.Н. за методические рекомендации.

2.1. Материалы и методы

В экспериментах использовано 83 цыпленка в возрасте 10-, 25-, 40-, 90-, 120 дней. В производственных условиях действие пребиотических препаратов и их сочетанное применение с пробиотиком Бифинорм было изучено на 31868 цыплятах яичного кросса «Хайсекс» и цыплятах-бройлерах кросса «Иза-15».

В качестве бифидогенных добавок использовали лактулозу – синтетический дисахарид, при отдельном скармливании и сочетанном применении с пробиотиком Бифинорм и в смеси с натриевыми солями короткоцепочных жирных кислот – аналогов соединений, продуцируемых сахаролитической анаэробной микрофлорой у здоровых организмов.

Для изучения микробиоценоза кишечника цыплят различных возрастов отбирали птицу с такими клиническими признаками, как отставание в росте, наличие признаков диареи: примесь слизи, крови, пузырьки газа, наличие специфического запаха, жидкий помет, признаки обезвоживания. Для уточнения патоморфологического диагноза проводили патогистологическое исследование общепринятыми методами.

Бактериологическому исследованию подлежало содержимое слепых отростков массой 1 г, которое помещали в стерильную посуду и смешивали с 9 мл стерильного физраствора или раствора Хенкса, встряхивали, готовили разведения от 10^{-1} до 10^{-9} , сеяли на элективные питательные среды для обнаружения бифидобактерий, молочнокислых бактерий, эшерихий, энтеробактерий, сульфитредуцирующих клостридий, гемолитически активных стафилококков и почвенных бацилл, энтерококков, протей, грибов.

С целью определения количества лактобактерий посеvy культивировали на лактоагаре или стерильном молоке, бифидобактерий обнаруживали на кукурузно-лактозной среде, эшерихии – на среде Эндо, условно-патогенные энтеробактерии – на агаре Симмонса с дальнейшей идентификацией по ферментативным свойствам на средах Гисса, Олькеницкого, Клиглера. Сульфитредуцирующие клостридии выявляли на среде Вильсон-Блера, гемолитически активные почвенные гнилостные бациллы и стафилококк посевом на кровяной агар, протей – на скопленном мясо-пептонном агаре.

При патологоанатомическом вскрытии птицы с признаками колибактериоза сеяли капли крови из сердца, печени, селезенки на питательный агар и питательный бульон в пробирки и разведения 10^{-1} содержимого 12-перстной кишки – на среду Эндо с последующим выделением и идентификацией чистой культуры возбудителя, определяли ее вирулентность на белых мышах.

Все полученные цифровые данные количества микроорганизмов выражали в десятичных логарифмах lg КОЕ/г с использованием таблицы «Магтиссы десятичных логарифмов» и подвергали статистической обработке.

Сухую, жидкую лактулозу, комплекс бифидосодержащего препарата Бифинорм и сухой лактулозы испытывали в производственных условиях на цыплятах кросса «Иза 15», «Хайсекс коричневый». Ежедневно учитывали сохранность, еженедельно цыплят взвешивали, у цыплят-бройлеров определяли живую массу к убою. Экономическую эффективность определяли по чистому доходу на голову. Сравнивали показатели опытных и контрольных групп.

Сухую лактулозу испытывали на 440 цыплятах, которым с 12-дневного возраста ее добавляли в корм, в количестве 0,37%. Контрольная группа насчитывала 2876 голов.

Жидкую лактулозу выпаивали 2876 цыплятам в течение первых трех дней в дозе 50 мл на 1 тыс. голов 1 раз в сутки. В контрольной группе было 2876 голов.

На 7-й и 21-й день жизни в содержимом слепых отростков цыплят опытной и контрольной групп определяли количество эшерихий, бифидо-, лактобактерий, а в крови количество лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, процент общего белка, фагоцитарный индекс и фагоцитарное число псевдоэозинофилов.

Испытание стимулирующего и профилактирующего действия Бифинорма и сухой лактулозы проводили на 7600 цыплятах яичного кросса «Хайсекс коричневый», которым выпаивали Бифинорм в количестве 0,15 мл на голову в течение трех дней, а сухую лактулозу в количестве 0,05% с 10 по 20 день и с 30 по 40 день. Результаты сравнивали с показателями 7600 цыплят, которым скармливали сухую лактулозу. Контролем служили 7600 цыплят, получавших ацидофильную простоквашу в течение 10 дней в количестве 10% объема корма. Учетный период составлял 40 дней.

Ростостимулирующие и профилактические свойства бифидогенной смеси натриевых солей короткоцепочных монокарбоновых кислот и жидкой лактулозы в соотношении 1: 1,54 соответственно в дозе 30 мг/кг живой массы изучали в экспериментальных условиях в течение 28 дней. Бифидогенную смесь выпаивали цыплятам-бройлерам кросса «Иза-15». Опытная и контрольная группы насчитывали по 25 цыплят.

Опытной группе препарат выпаивали с водой с суточного возраста в течение 14 дней, а затем с 21 по 28 день жизни, ежедневно дозы препаратов увеличивали в соответствии с приростом. Контрольная группа препарат не получала.

Ежедневно определяли сохранность, еженедельно живую массу цыплят.

В конце опыта определяли массу зоба, железистого и мышечного желудков, тонкого и толстого кишечника, печени цыплят-аналогов из опытной и контрольной групп.

Микробиоценоз слепых отростков цыплят-аналогов из опытных и контрольных групп изучали бактериологическим исследованием содержимого по описанной методике. В содержимом зоба определяли частоту и количество КОЕ lg/г бифидобактерий и лактобактерий посевом разных разведений на среду КЛС и лактоагар.

Определяли гематологические показатели: количество лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, процент общего белка в плазме, скорость оседания эритроцитов, гематокрит, процент лимфоцитов, псевдоэозинофилов и показатели уровня фагоцитоза-фагоцитарный индекс и фагоцитарное число, абсолютное число псевдоэозинофилов, бактерицидную емкость крови общепринятыми методами.

Цифровые данные обработаны методом статического анализа с использованием критерия Стьюдента (Ашмарин И.П., Воробьев А.А., 1994) и программ Microsoft Excel XP в среде Windows XP.

2.2. Результаты собственных исследований

2.2.1. Показатели микробиоценоза слепых отростков при заболеваниях органов пищеварения цыплят

При бактериологическом исследовании содержимого слепых отростков у больных цыплят 10-дневного возраста с клиническими признаками диареи и патоморфологическими изменениями, соответствующими катаральному гастроэнтериту, осложненному гепатитом и холециститом, были установлены выраженные отклонения в качественном и количественном составе микрофлоры.



Рисунок 1. Показатели микробиоценоза слепых отростков 10-дневных здоровых и больных гастроэнтеритами и гепатитами цыплят.

1- клостридии; 2- грибы; 3- гемолитические бациллы, стафилококки; 4- протеи; 5- условно-патогенные энтеробактерии. 6- энтерококки; 7- молочнокислые бактерии; 8- бифидобактерии; 9- эшерихии.

Отмечали отсутствие бифидо- и лактофлоры, повышенное содержание эшерихий в количестве $8,3380 \pm 0,2845$ КОЕ Ig/г, клостридий - $5,7 \pm 0,73$ КОЕ Ig/г в 80 %, грибов - $5,0741 \pm 0,773$ КОЕ Ig/г у 100 %, энтерококков - $6,7 \pm 0,4872$ КОЕ Ig/г, выделяемых в 100% случаев. Присутствовали гемолитически активные бациллы и стафилококки в количестве $5,5482 \pm 0,4577$ КОЕ Ig/г и условно-патогенные энтеробактерии - $6,1546 \pm 0,92$ КОЕ Ig/г у 80% обследуемых (рис.1).

У цыплят 25-дневного возраста с диареей регистрировали гепатиты и холециститы, а патогистологически - холестаза. При бактериологическом исследовании содержимого слепых отростков бифидо- и лактобактерии отсутствовали в 100 % случаях. Фа-

культативная микрофлора была представлена повышенным содержанием *E.coli* в количестве $8,267 \pm 0,45$ КОЕ Ig/g, выделяемой у 100% цыплят, пониженным содержанием клостридий - $3,5774 \pm 0,338$ КОЕ Ig/g. Эптерококки выделяли в количестве $5,3618 \pm 0,5418$ КОЕ Ig/g, а протей и грибы отсутствовали в 100 % случаев (рис.2).



Рисунок 2. Показатели микробиоценоза слепых отростков 25-дневных здоровых и больных гепатитом и холециститом цыплят.

1- клостридии; 2- грибы; 3- гемолитические бациллы, стафилококки; 4- протей; 5- УПЭ; 6- энтерококки; 7- МКБ; 8- бифидобактерии; 9- эшерихии.

У цыплят 40-дневного возраста, больных катаральным гастроэнтеритом, патоморфологически обнаруживали гепатит в 60%, панкреатит в 40% случаев.



Рисунок 3. Показатели микробиоценоза слепых отростков 40-дневных здоровых и больных гастроэнтеритами, гепатитами цыплят.

1- клостридии; 2- грибы; 3- гемолитические бациллы, стафилококки; 4- протей; 5- УПЭ; 6- энтерококки; 7- МКБ; 8- бифидобактерии; 9- эшерихии.

При микробиологическом исследовании содержимого слепых отростков при катаральном гастроэнтерите с острым панкреатитом отмечали отсутствие бифидобактерий, эшерихий. В 50% обследуемых молочнокислые бактерии выделяли в количестве $7,699$ КОЕ Ig/g. Факультативная микрофлора у 50% обследуемых была представлена

только повышенным количеством клостридий, у остальных больных - факультативную микрофлору не выделяли.

В среднем по группе состав облигатной микрофлоры неполноценный. Молочно-кислые бактерии выделяли в количестве $7,588 \pm 0,16$ КОЕ Ig/g только у 40% обследованных, бифидобактерии - $9,0$ КОЕ Ig/g у 60% цыплят. Факультативная микрофлора была представлена повышенным количеством клостридий. Другую факультативную микрофлору не выделяли (рис.3).

Причиной заболевания цыплят 90-дневного возраста были энтероколиты и гепатиты. У 40% обследуемых цыплят - геморрагический энтероколит, патогистологически - гепатит. Клинически у них регистрировали диарею, метеоризм, в помете примесь слизи и крови. Перечисленные изменения были обусловлены отсутствием молочно-кислых и бифидобактерий, недостаточным количеством эшерихий - $6,58 \pm 0,28$ КОЕ Ig/g. В составе факультативной микрофлоры присутствовали гемолитически активные бациллы и стафилококк в количестве $5,0$ КОЕ Ig/g, протей - 3 КОЕ Ig/g, условно-патогенные энтеробактерии - $7,26 \pm 1,04$ КОЕ Ig/g.



Рисунок 4. Показатели микробиопеноза слепых отростков 90-дневных здоровых и больных энтероколитами и гепатитом цыплят.

1- клостридия; 2- грибы; 3- гемолитические бациллы, стафилококки, 4- протей; 5- УПЭ; 6- энтерококки; 7- МКБ; 8 бифидобактерии; 9- эшерихии.

У остальных цыплят обследуемой группы с энтероколитом и гепатитом молочно-кислые бактерии выделяли в 20% случаев, бифидобактерии только у 40% цыплят в количестве $9,0$ КОЕ Ig/g, эшерихий было меньше нормы - $7,054 \pm 0,7564$ КОЕ Ig/g. У них установлен неполноценный состав факультативной микрофлоры. Энтерококки выделяли в повышенном количестве $7,69$ КОЕ Ig/g у 20%, условно-патогенные энтеробактерии - $7,3550 \pm 0,7$ КОЕ Ig/g у 80%, грибы - $4,98 \pm 0,7$ КОЕ Ig/g у 40% цыплят. Присутствовали клостридии, протей, гемолитически активные бациллы и стафилококки (рис.4).

У 120-дневных цыплят, больных катаральным энтероколитом, бифидобактерии выделяли у 100 % цыплят, молочнокислые бактерии и эшерихии обнаруживали только у 50 % обследуемых. Факультативная микрофлора представлена повышенным содержанием грибов в количестве $5,273 \pm 0,224$ КОЕ $1g/g$, условно-патогенных энтеробактерий – $7,5843$ КОЕ $1g/g$, пониженным содержанием энтерококков – $5,3 \pm 0,426$ КОЕ $1g/g$ у 50 % цыплят. У остальных обследуемых присутствовали гемолитически активные бактерии и стафилококки в количестве – $6,92 \pm 0,192$ КОЕ $1g/g$. Клостридии и протей не выделяли (рис.5)



Рисунок 5. Показатели микробиоценоза слепых отростков 120- дневных здоровых и больных энтероколитами цыплят.

1- клостридии; 2- грибы; 3- гемолитические бактерии, стафилококки; 4- протей;
5- УПЭ; 6- энтерококки; 7- МКБ; 8- бифидобактерии; 9- эшерихии.

2.2.2. Показатели микробиоценоза слепых отростков при колибактериозе цыплят

У цыплят 25- и 120-дневного возраста отмечали при вскрытии патоморфологические изменения, характерные для колибактериоза, что подтвердили бактериологическим выделением *E.coli* из крови, содержимого кишечника.

При бакисследовании содержимого слепых отростков у 25-дневных цыплят установили отсутствие бифидо- и лактобактерий. Выделяли вирулентные эшерихии в повышенном количестве $8,47 \pm 0,43$ КОЕ $1g/g$ в 100 % случаев, в недостаточном количестве клостридии – $3,37 \pm 0,23$ КОЕ $1g/g$, на кровяном агаре обнаруживали ассоциацию гемолитически активных бактерий и стафилококков в количестве $5,2 \pm 0,31$ КОЕ $1g/g$. Отсутствовали грибы (рис.6).



Рисунок 6 Показатели микробиоценоза слепых отростков цыплят 25-дневного возраста при колибактериозе.

1- клостридии; 2- грибы; 3- гемолитические бациллы, стафилококки; 4- протей; 5- УПЭ; 6- энтерококки; 7- МКБ; 8- бифидобактерии; 9- эшерихии.

У цыплят 120-дневного возраста, больных колибактериозом, бифидофлора отсутствовала, а молочнокислых бактерий было 8,0 КОЕ lg/g у 40 % обследуемых. В повышенном количестве выделяли патогенные эшерихии - $10,06 \pm 0,57$ КОЕ lg/g и грибы - $5,21 \pm 0,26$ КОЕ lg/g. Гемолитические активные почвенные бациллы и стафилококк обнаруживали в количестве $6,64 \pm 0,44$ КОЕ lg/g, протей - 3,0 КОЕ lg/g у 40 % цыплят. В недостаточном количестве выделяли условно-патогенные энтеробактерии - $5,59 \pm 0,7$ КОЕ lg/g у 100 % и энтерококки - $5,3 \pm 0,42$ КОЕ lg/g у 40% обследуемых цыплят (рис.7).

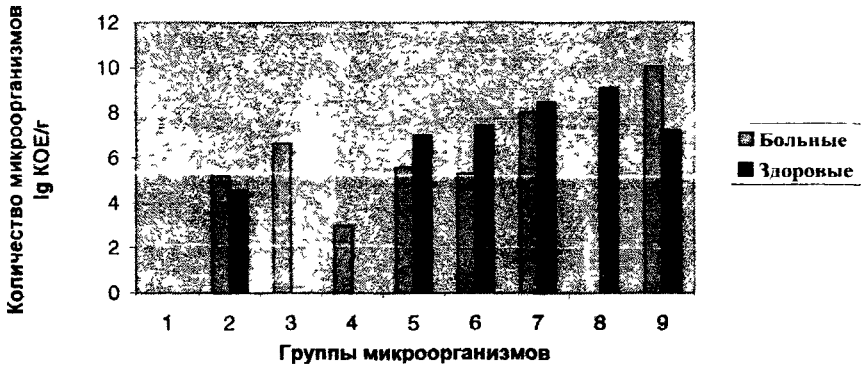


Рисунок 7. Показатели микробиоценоза слепых отростков цыплят 120-дневного возраста при колибактериозе

1- клостридии, 2- грибы; 3- гемолитические бациллы, стафилококки; 4- протей, 5- УПЭ; 6- энтерококки, 7- МКБ; 8- бифидобактерии; 9- эшерихии.

2.2.3. Испытание профилактического и стимулирующего действия сухой лактулозы

Скармливание сухой лактулозы в количестве 0,37% к массе корма положительно влияло только на сохранность цыплят и не оказывало ростостимулирующего действия. Сохранность в группе, получавшей сухую лактулозу, составила 92,04%, в контрольной группе – 88,3%, процент увеличения сохранности – 4,24 за счет снижения гибели цыплят от желудочно-кишечных заболеваний. Масса тушки в опытной и контрольной группах была одинаковой.

У 100% опытных цыплят бифидобактерии выделяли из содержимого слепых отростков в разведении 10^{-10} , в толстом кишечнике содержимое было густой, вязкой консистенции. У цыплят контрольной группы бифидобактерии отсутствовали.

Сухая лактулоза обладала выраженным профилактическим и бифидогенным действием, обеспечивая колонизацию слизистой слепых отростков бифидобактериями.

2.2.4. Испытание профилактического и ростостимулирующего действия жидкой лактулозы

Испытанием жидкой лактулозы в производственных условиях установлено ее бифидогенное действие, а также профилактические и ростостимулирующие свойства.

Цыплята, которым выпаивали жидкую лактулозу, имели сохранность к убою – 91,13%, в контрольной группе – 88,3%.

В ходе данного исследования отмечено ростостимулирующее действие бифидогенной добавки. Живая масса цыплят к убою, получавших жидкую лактулозу, составила 1466 г, а контрольных цыплят – 1432 г, процент увеличения живой массы – 2,37.

Применение жидкой лактулозы стимулировало колонизацию слизистой кишечника опытных цыплят бифидобактериями. У 7-дневных цыплят обнаруживали в титре 10^6 , а у 21-дневных – в титре 10^9 , а у контрольных в 7 дней бифидобактерии отсутствовали, а в 21-дневном возрасте выделяли в титре $10^{7.5}$.

Жидкая лактулоза положительно влияла на становление лактофлоры и стабилизировала количество полезных эшерихий.

Таблица 1

Влияние жидкой лактулозы на количество бифидо-, лактобактерий, E.coli опытных и контрольных цыплят

Группы	Возраст цыплят, титр (М) бифидо/ лактобактерий, кол-во E.coli (KOE Ig/r)					
	7 дней			21 день		
	Бифидо- бактерии	Лактобак- терии	E.coli	Бифидо- бактерии	Лактобак- терии	E.coli
Опытная	10^6	$10^{4.5}$	8,7782	10^9	$10^{8.5}$	8,301
Контроль	-	10^4	9,9542	$10^{7.5}$	10^6	8,9031

В содержимом слепых отростков у 50 % 7-дневных опытных цыплят лактобактерии выделяли в титре $10^{4.5}$, количество кишечной палочки было около 600 млн/г (8,7782 KOE Ig/r). В содержимом контрольной группы лактофлору высевали из разв-

деня 10^4 , количество *E.coli* было в 15 раз выше, чем у опытных, и составляло 9000 млн/г (9,9542 КОЕ Ig/г).

В возрасте 21 день у опытных цыплят бифидобактерии обнаруживали в разведении 10^9 , титр молочнокислых бактерий - $10^{8,5}$, эшерихий - 8,301 КОЕ Ig/г. У контрольных цыплят бифидобактерии выделяли в разведении $10^{7,5}$, лактобактерии - 10^6 , эшерихии в количестве - 8,9031 КОЕ Ig/г.

Выпаивание жидкой лактулозы не влияло на гематологические показатели цыплят. Количество лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, общего белка у опытных и контрольных соответствовало норме, и достоверных различий не было.

У опытных цыплят в фагоцитозе участвовало $28,3 \pm 0,62\%$ псевдоэозинофилов, а у контрольных $22,5 \pm 0,58\%$, разница была достоверной. $P < 0,001$, однако фагоцитарный индекс был одинаковый и составлял 0,85.

Жидкая лактулоза синтетического происхождения оказывала выраженные ростостимулирующие, профилактирующие свойства, за счет колонизации слизистой слепых отростков бифидо- и лактофлорой, нормализации количества полезных эшерихий и обеспечивала защиту от проникновения патогенных микроорганизмов.

2.2.5. Испытание комплексного применения пробиотического препарата Бифинорм и сухой лактулозы

Выпаивание Бифинорма с последующим скармливанием сухой лактулозы повышало сохранность, стимулировало рост цыплят.

Таблица 2

Влияние применения бифинорма и сухой лактулозы на сохранность цыплят кросса "Хайсек"

Показатели	Группа 1	Группа 2	Контроль
Посажено на выращивание, гол	7600	7600	7600
Пало, гол	35	43	45
В т.ч. от желудочно-кишечных заболеваний, %	19,44	22,72	31,1
Сохранность, %	99,54	99,43	99,40

За первую неделю наибольшая живая масса была у цыплят, которым выпаивали Бифинорм, и составила $76,0 \pm 0$ г, а % увеличения к контролю - 13,4. Во второй группе живая масса составила $67,0 \pm 2,82$ г, в контрольной группе, которая препараты не получала, $67,0 \pm 1,41$ г.

К концу второй недели преимущество по живой массе в первой опытной группе сохранилось - $135,5 \pm 16,26$ г, процент увеличения по живой массе по сравнению с контролем - 3,4, во второй группе, которая получала только сухую лактулозу - $133 \pm 0,7$ г, процент увеличения к контролю - 1,51, в контрольной группе живая масса - $131 \pm 4,24$ г. При взвешивании в 23-дневном возрасте цыплята первой опытной группы имели живую массу - $217 \pm 16,97$ г, процент увеличения к контролю - 6,63, во второй опытной группе - $217,5 \pm 10,6$ г, процент увеличения живой массы к контролю - 6,88. Эти показатели были соответственно выше, чем в контрольной группе - $203,5 \pm 3,53$ г. К 31 дню жизни наибольшей живой массой обладали цыплята, получавшие последовательно Бифинорм и сухую лактулозу - $302,5 \pm 27,5$ г, процент увеличения живой массы к контролю - 1,5. Цыплята второй опытной группы в этом возрасте имели наимень-

пную живую массу – $293,5 \pm 33,2$ г, цыплята контрольной группы также отставали в росте – $298 \pm 21,2$ г.

К концу учетного периода живая масса цыплят первой опытной группы – $406 \pm 21,2$ г, что на 0,74% было выше, чем в контроле, среднесуточный прирост по группе – 9,28 г, что на 0,87% больше показателей контрольной группы.

Цыплята второй опытной группы имели наибольшую живую массу в 40-дневном возрасте $410 \pm 11,3$ г, которая на 1,74% превосходила контроль, наивысший среднесуточный прирост – 9,38 г, что на 1,96% выше, чем в контроле.

Живая масса цыплят контрольной группы составила к этому возрасту $403 \pm 15,4$ г, а среднесуточный прирост – 9,2 г.

За 40 дней жизни меньше всего погибших было в группе, получавшей бифинорм и сухую лактулозу – 35 голов. От желудочно-кишечных заболеваний пало 19,44%, из них от диспепсии – 4 головы, от перитонита – 2 головы, энтерита – 1 голова, в целом сохранность – 99,54%.

43 цыпленка пали в группе, которая получала только лактулозу, из них 22,72% от заболеваний органов пищеварения: диспепсии – 8 голов, перитонита – 2 головы, сохранность – 99,43%. В контроле было 45 погибших, из них от диспепсии – 9 голов, перитонита – 5 голов, что составило 31,1% павших, сохранность – 99,4%. Процент снижения заболеваемости был ниже в первой группе – 11,56%, во второй – 8,38.

Скармливание сухой лактулозы было экономически целесообразным, чистый доход на голову 0,12 руб.

Затраты при последовательном применении Бифинорма и сухой лактулозы были выше стоимости дополнительного прироста и возможной реализации цыплят.

Выпаивание пробиотического препарата Бифинорм и скармливание сухой лактулозы снижало уровень желудочно-кишечных заболеваний, оказывало ростостимулирующее действие и было эффективнее применения ацидофильной простокваши.

2.2.6. Влияние выпаивания жидкой лактулозы и натриевых солей короткоцепочных жирных кислот на сохранность, динамику роста, уровень фагоцитоза, состояние толстокишечного микробиоценоза, гематологические показатели цыплят – бройлеров «Иза-15»

Применение жидкой лактулозы и натриевых солей короткоцепочных жирных кислот также положительно влияло на рост цыплят. В течение всего учетного периода живая масса цыплят, получавших смесь, имела преимущества по сравнению с контрольной группой. Наивысшие среднесуточные приросты и наименьшая конверсия корма зарегистрирована у опытных цыплят.

В 7-дневном возрасте сохранность опытной и контрольной групп – 100%. Наибольшую живую массу имели цыплята опытной группы $81,64 \pm 2,47$ г, процент увеличения живой массы к контролю – 0,59, процент увеличения прироста – 1,35%.

Сохранность 14-дневных цыплят осталась без изменений, павших в течение второй недели выпаивания препаратов не было. Живая масса в опытной группе $156,48 \pm 6,98$ г, а в контрольной – $136,32 \pm 4,4$ г, что на 14,8% больше. Среднесуточный прирост у опытных цыплят составил 10,7 г, в контрольной – 7,88 г, а процент увеличения прироста – 35,78 %.

Сохранность цыплят за три недели жизни была без изменений, потерь в течение третьей недели не было. Живая масса в опытной группе была $244,32 \pm 10,73$ г, а в контрольной - $227,04 \pm 9,62$ г, процент увеличения - 7,61%. но существующая разница статистически не достоверна, $P > 0,1$. Среднесуточный прирост в течение третьей недели жизни в контрольной группе на 0,4 г превосходил показатели опытной группы.

За четвертую неделю живая масса опытных цыплят статистически достоверно превосходила контрольных. Отхода цыплят в течение четвертой недели не отмечали, поэтому сохранность в конце опыта в группах была 100%. Живая масса в опытной группе $407,0 \pm 16,05$ г, в контрольной - $328,5 \pm 18,11$ г, разница статистически достоверна, $P < 0,01$. Лучший прирост был в опытной группе - 23,24 г, а в контрольной - 14,5 г, что на 60,28% больше. Процент увеличения живой массы за четвертую неделю - 23,9%.

Больше всего корма подавали цыплята опытной группы, и они имели наибольшую живую массу и наименьшую конверсию корма. Количество потребляемого корма в опытной группе составило 992 г/голову, а в контрольной группе - 851,2 г/голову, соответственно конверсия корма 2,44 и 2,59.

При бактериологическом исследовании содержимого слепых отростков установлено, что кишечник опытных цыплят заселен бифидобактериями $10,699$ КОЕ Ig/g. Из содержимого контрольных бифидобактерии выделяли в 75% случаях в количестве $9,778$ КОЕ Ig/g. Лактобактерий обнаруживали как у опытных, так и у контрольных в количестве $8,0$ КОЕ Ig/g. Толстый кишечник контрольных цыплят был колонизирован гемолитическими активными эшерихиями и стафилококками, содержал *Cl.perfringens* у 50% обследуемых, у 25% обследуемых обнаруживали сальмопеллы в количестве $5,669$ КОЕ Ig/g. Протей выделяли от 50% опытных и от 100% контрольных цыплят, его количество у опытных - в 2 раза меньше. В содержимом слепой кишки опытных и контрольных цыплят выделяли грибы из рода *Candida*, у опытных - их количество было меньше.

При осмотре внутренних органов цыплят - аналогов по живой массе опытной и контрольной групп патологии, дефектов развития не установлено. У опытных цыплят отмечали увеличение массы зоба, и разница по сравнению с контрольными была достоверной ($P < 0,01$). Стенка зоба опытных цыплят была более плотная, на поверхности слизистой - муциновый слой.

В соскобе слизистой 75% опытных цыплят выделяли бифидобактерий в количестве $3,0$ КОЕ Ig/g, у контрольных бифидобактерий не обнаруживали. Лактобактерии сохранились в соскобах и содержимом опытных и контрольных цыплят в количестве $4,0$ КОЕ Ig/g, при этом pH содержимого в опытной группе - 3,82, а в контрольной - 3,98.

Установлено, что количество лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, общего белка, показатели СОЭ, гематокрита у цыплят опытной и контрольной групп соответствовало норме, и существенных статистически достоверных отличий не обнаруживали ($P > 0,1$).

По фагоцитарному индексу крови опытные цыплята превосходили контрольных, но различия этих показателей были недостоверны. По проценту лимфоцитов и псевдоэозинофилов контрольные и опытные цыплята имели различия, но показатели соответствовали норме. Эозинофилию, характеризующую сенсibilизацию организма к испытуемым препаратам, патологические формы клеток крови не обнаруживали.

У контрольных цыплят было больше псевдоэозинофилов и фагоцитирующих псевдоэозинофилов. Бактерицидная емкость крови в контрольной группе – $4,29 \pm 2,29$, в опытной – $2,65 \pm 0,12$, но статистически эти показатели не достоверны ($P > 0,1$). Существенных различий уровня фагоцитоза опытных и контрольных групп не обнаружили. В целом бактерицидная емкость соответствовала клинически здоровым цыплятам.

Выпаивание смеси способствовало колонизации слизистой толстого кишечника и зоба представителями нормальной микрофлоры и избирательно влияло на рост бифидобактерий и лактобацилл.

Выводы

1. Заболевания цыплят с синдромом диареи, выявленной при гастроэнтеритах, энтеритах, энтероколитах, панкреатитах, гепатитах и холециститах, обусловлены дисбактериозами, которые способствовали развитию деструктивных изменений в слизистой и подслизистом слое кишечника, осложнившийся токсикозного характера.

2. Изучено состояние микробиоценоза слепых отростков у цыплят различных возрастов при диарейных заболеваниях. Установлено отсутствие бифидо- и лактофлоры у 10-, 25-дневных цыплят, полезных эшерихий у 40-дневных цыплят, у цыплят остальных возрастных групп отмечали снижение частоты выделения нормальной микрофлоры с выявленным доминированием гемолитически гнилостных бактерий, стафилококков, грибов, условно-патогенных энтеробактерий, энтерококков.

3. Диарея цыплят 25- и 120-дневного возраста, вызванная колонизацией слизистой 12-перстной кишки патогенными эшерихиями, протекала с синдромом толстокишечного дисбактериоза, характеризующегося отсутствием бифидобактерий, полезных эшерихий, у большинства – лактобактерий, наличием протеев, цитратассимилирующих энтеробактерий, гемолитически активных гнилостных бактерий и стафилококков.

4. Отсутствие бифидобактерий, лактофлоры на фоне пониженного количества представителей факультативной микрофлоры и увеличения пула эшерихий имело специфическую связь с возникновением гепатита, холестаза, холестистита.

5. Скармливание с комбикормом 0,37% сухой лактулозы с 12-дневного возраста до убоя цыплятам-бройлерам способствовало колонизации кишечника бифидобактериями, что обеспечивало 92,04% сохранности.

6. Выпаивание жидкой лактулозы цыплятам-бройлерам с суточного возраста в течение трех дней в дозе 0,05 мл на голову стимулировало колонизацию кишечника бифидофлорой, лактобактериями, нормализовало количество эшерихий. Бифидогенный эффект жидкой лактулозы оказывал пребиотическое действие, которое заключалось в снижении количества погибших от желудочно-кишечных заболеваний, повышении сохранности на 3,2%, стимулировании роста.

7. Выпаивание в течение первых трех дней пробиотика Бифинорм с последующим назначением 0,05% сухой лактулозы с кормом с 10-го по 20-й день и с 30-го по 40-й день цыплятам яичного кросса оказывало профилактическое действие, обеспечивало 99,54% сохранности за счет снижения летальности от желудочно-кишечных заболеваний на 11,56%.

8. Применение сухой лактулозы в количестве 0,05% с кормом с 10-го по 20-й день и с 30-го по 40-й день цыплятам яичного кросса также оказывало профилактический и стимулирующий эффект, обеспечивало высокую сохранность – 99,43%, прирост жи-

вой массы цыплят. Экономически целесообразно применять сухую лактулозу цыплятам в указанной дозировке, чистый доход на голову составил 0,12 руб.

9. Комплексная бифидогенная добавка на основе лактулозы и солей короткоцепочных жирных кислот стимулировала у цыплят-бройлеров колонизацию бифидобактериями зоба, слепых отростков, что исключало из биоценоза гемолитически активных гнилостных бактерий, стафилококков, сальмонелл, снижало количество *Cl.perfringens*, грибов и частоту выделения протесв. Бифидогенная смесь оказывала пребиотическое действие: стимулировала динамику роста, процент увеличения живой массы к контролю в 30-дневном возрасте 23,9%, обеспечивала 100%-ную сохранность

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

На основе проведенных исследований разработаны:

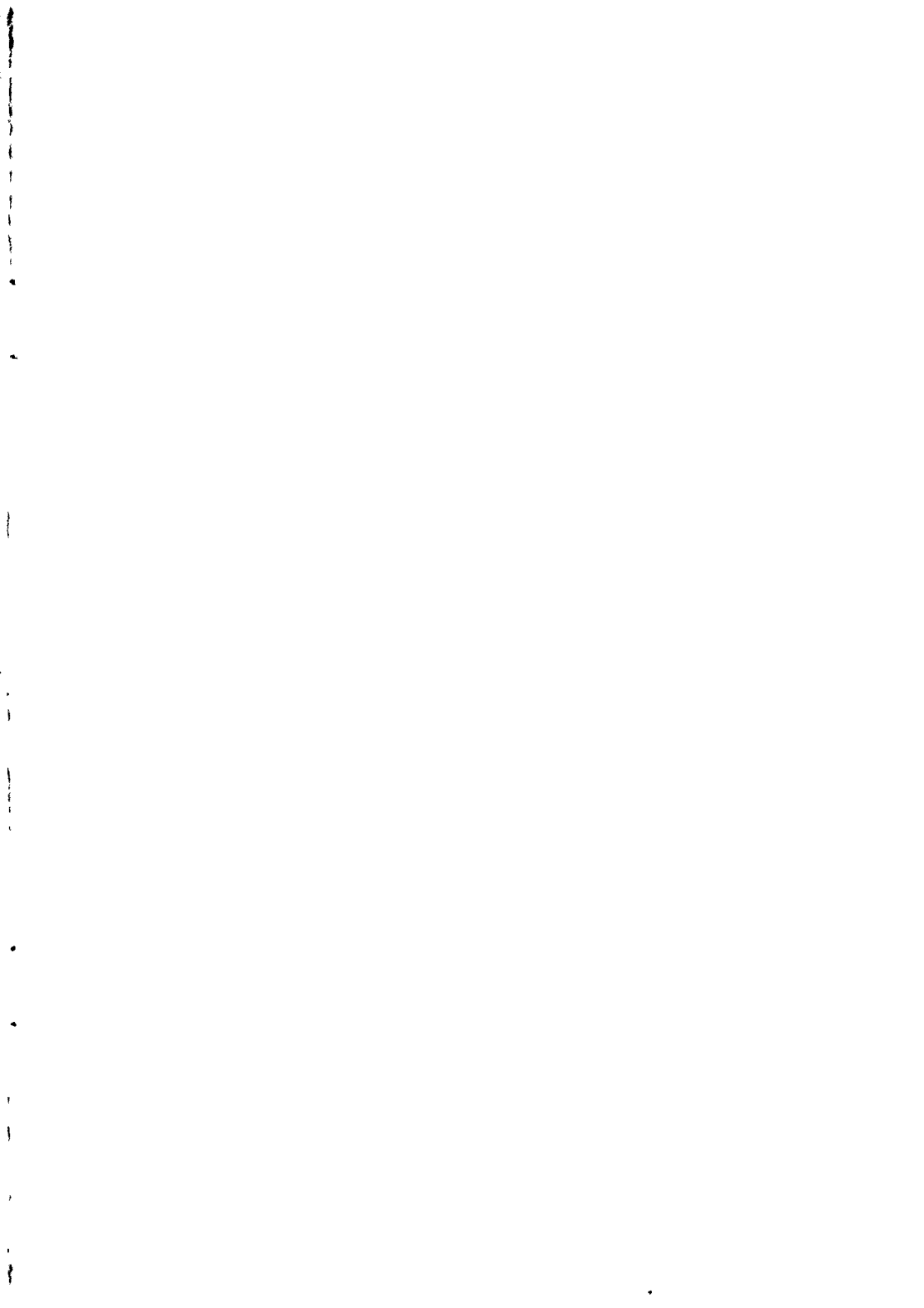
1. ТУ 9229-007-53757476-03 и Временное наставление по применению новой бифидогенной добавки на основе жидкой лактулозы производства «Фелицата» от 18.11.2003 г. №13-4-03/0871 «Ветелакт» для профилактики и лечения дисбактериозов у животных, предложены дозы и режим использования для молодняка птиц.

2. Для коррекции дисбиотических изменений кишечника и профилактики заболеваний с синдромом дисбактериоза рекомендуем выпаивать бифидогенную добавку «Ветелакт» цыплятам с суточного возраста по 0,05 мл на голову или 50 мл на 1000 голов один раз в день в течение 3-х дней, цыплятам старше 50 дней по 5 мл на голову в течение 30 дней.

3. Для исключения инфекционных бактериальных заболеваний молодняка птиц необходимо определять бактериограмму содержимого слепых отростков у больных цыплят.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Бовкун Г.Ф. Лактулоза полезна цыплятам // Бовкун Г.Ф., Бобрик О.Н. Птицеводство.- М., 2003.- № 3.- С.10.
2. Бобрик О.Н. Влияние лактулозы на лактофлору кишечника и хозяйственно-полезные признаки цыплят // Материалы Межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых «Вклад молодых ученых в развитие аграрной науки в начале XXI века».- Воронеж, 2003.- С.144-146.
3. Бовкун Г.Ф. Состояние толстокишечного микробиоценоза при заболеваниях органов пищеварения у цыплят // Бовкун Г.Ф., Бобрик О.Н., Трошин В.П. Материалы международной юбилейной научно-практической конференции «Новое в эпизоотологии, диагностике и профилактике инфекционных и незаразных болезней птиц в промышленном птицеводстве» - С-Пб, 2004.- С.119-121
4. Бобрик О.Н. Влияние коррекции толстокишечного микробиоценоза на продуктивность бройлеров // Материалы Международной юбилейной научно-практической конференции «Новое в диагностике, профилактике и лечении инфекционных и незаразных болезней птиц».- С-Пб, 2004.- С.125-127.
5. Бобрик О.Н. Профилактическое и ростостимулирующее действие пробиотика Бифинорм и бифидогенной добавки «Ветелакт» при комплексном применении // Материалы 3-го Международного симпозиума «Современные проблемы ветеринарной диетологии и нутрициологии».- С-Пб, 2005.- С.118-120.



2006A

№ 1 1 6 5 2

11652