



На правах рукописи



Деблик Александр Геннадьевич

**ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ
ОРГАНОВ ИММУНИТЕТА ЦЫПЛЯТ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ
ПРОБИОТИКОВ**

16.00.02 — патология, онкология и морфология животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Уфа 2007

Работа выполнена на кафедре акушерства, патанатомии и хирургии
ФГОУ ВПО «Башкирский государственный аграрный университет»

Научный руководитель:	доктор ветеринарных наук, профессор Сковородин Евгений Николаевич
Официальные оппоненты:	доктор ветеринарных наук, профессор Галеев Рафаэль Фаррахович заслуженный деятель науки РФ, доктор ветеринарных наук, профессор Сулейманов Сулейман Мухитдинович
Ведущая организация:	ГОУ ВПО «Российский университет дружбы народов»

Защита состоится «15» февраля 2007 года в 12⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 220.003.02 при ФГОУ ВПО «Башкирский государственный аграрный университет» (450001, г. Уфа, ул. 50 лет Октября, 34, ауд. 19/4).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Башкирский государственный аграрный университет»

Автореферат разослан «12» января 2007 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор ветеринарных наук, профессор



Каримов Ф.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Птицеводство – одна из эффективнейших отраслей сельского хозяйства, не имеющая сезонности. Вместе с тем, интенсивные технологии выращивания и большая концентрация поголовья являются основными причинами снижения жизнеспособности молодняка птицы, увеличения заболеваемости и летальности. В последние годы для интенсификации птицеводства и коррекции защитных сил организма птиц применяются биологически активные вещества различных групп. Особого внимания заслуживают пробиотики, действие которых адекватно сложившимся в процессе эволюции механизмам защиты макроорганизма от патогенных воздействий внешней среды (Ребров А.Я., 1992; Смирнов В. В., 1997; Литусов Н. В. с соавт., 1997; Шендеров Б.А., 1998; Смирнов В.В., 1998; Панин А.Н., 2002; Спасов А.А., 2003; Сулейманов С.М., 2003; Blomberg L. et al., 1993; Fedorka-Cray P.J. et al., 1999).

Перспективы практического использования пробиотиков в птицеводстве связаны прежде всего с коррекцией дисбиозов, регулированием микробиологических и ферментативных процессов в пищеварительном тракте, синтезом витаминов, метаболизмом желчных кислот и холестерина, нейтрализацией экзо- и эндотоксинов, профилактикой и лечением заболеваний желудочно-кишечного тракта алиментарной и инфекционной этиологии. Кроме того, пробиотики вполне могут применяться вместо антибиотиков, так как они продуцируют вещества с антибактериальной активностью. (Тихомирова А. с соавт., 1987; Смирнов В.В. с соавт., 1995, 1998; Бессарабов Б. с соавт., 1996; Шендеров Б.А., 1998; Зинченко Е.В., Панин А.Н., 2000; Тараканов Б.В., 2000; Попова Ж.П., Никонова А.К., 2001; Бовкун Г., 2002; Панин А.Н. с соавт., 2002; Егоров И., 2003; Первова А.М., 2003; Спасов А.А., 2003; Проворов Е.Л., 2004; Rogers L. A., Wittier E. O., 1928; Cole CB. et al., 1984; Sefton T., 1991; Nakamura T. et al., 1993).

Важным направлением применения пробиотических препаратов является их способность повышать иммунологическую реактивность организм. Под действием пробиотиков происходит стимуляция лимфоидного аппарата, увеличение уровня комплемента, усиление активности макрофагов и лизоцима и снижение проницаемости сосудистых тканевых барьеров, синтез иммуноглобулинов (Харитонов Л.В. с соавт., 1994; Маннапова Р.Т., Шилов С.О., 2001; Машеро В.А., 2004).

Особенностью иммунной системы цыплят является то, что она находится в стадии формирования и развития, что определяет своеобразие ее реагирования на антигенную стимуляцию. Следовательно, при внедрении в практику новых лечебно-профилактических препаратов наряду с оценкой их влияния на пищеварительную систему, необходимо изучение их воздействия на органы иммуногенеза. При этом для правильного понимания механизма адекватного иммунного ответа организма очень важна морфофункциональная характеристика лимфоидной системы, так как ее микроокружение является важнейшим фактором дифференцировки и функционирования лимфоцитов – главнейших клеток, реализующих иммунный ответ организма.

В настоящее время нет полной картины функционирования иммунной системы у птицы в условиях направленного применения пробиотических препаратов. В доступной нам литературе имеются противоречивые сведения, касающиеся сроков закладки периферических органов иммунитета, остаются неизученными вопросы их морфологии, скудны и сведения о сформированности их у цыплят. В связи с вышеизложенным, становится актуальным изучение иммунноморфологического состояния периферических органов иммунной системы птиц под влиянием направленного применения пробиотических препаратов.

Цели и задачи исследований. Целью нашей работы явилось изучение функциональной морфологии некоторых паренхиматозных органов и периферических органов иммунной системы цыплят при применении пробиотиков «Алифт-П» и «Бифинорм». В соответствии с поставленной целью были определены следующие задачи:

1. Изучить влияние пробиотиков на рост и развитие цыплят.
2. Определить динамику морфологических показателей крови птицы при применении пробиотиков.
3. Описать структурные изменения в Гардеровой железе, дивертикуле Меккеля, кишечных тонзиллах, слепокнишечных миндалинах и апикальном дивертикуле при применении пробиотиков.
4. Установить закономерности развития печени, поджелудочной железы, почек, сердца и лимфоидных образований в них.

Научная новизна настоящей работы заключается в том, что впервые комплексно исследованы некоторые паренхиматозные органы и периферические органы иммунной системы цыплят на фоне применения пробиотиков. Дана подробная гистологическая, гистохимическая и морфометрическая характеристика Гардеровой железы, дивертикула Меккеля, кишечных тонзилл, слепокнишечных миндалин и апикального дивертикула, проведен анализ развития печени, поджелудочной железы, почек, сердца и лимфоидных образований в них. Показано, что пробиотики «Алифт-П» и «Бифинорм» не оказывают патогенного воздействия на организм и способствуют формированию лимфоидных структур. Комплекс изменений, обнаруженных в периферических органах иммунной системы, печени, поджелудочной железе, почках и сердце при введении в рацион пробиотиков, дает основание для научно-обоснованного использования их при выращивании птицы.

Практическая значимость работы. Полученные данные свидетельствуют, что пробиотики «Алифт-П» и «Бифинорм» положительно влияют на процессы развития птицы. Результаты могут быть использованы в учебном процессе на ветеринарных и зооинженерных факультетах, при написании учебников, учебных пособий и монографий. Установленные морфологические эквиваленты функционирования периферических лимфоидных структур дают основание для научного обоснования использования пробиотиков. Выявленный комплекс иммунноморфологических изменений поможет в дальнейшем раскрыть механизмы

подавления или усиления иммунитета у промышленно разводимой птицы при воздействии биологически активных веществ.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Динамика живой массы цыплят при применении пробиотиков «Алифт-П» и «Бифинорм».
2. Изменение морфологических показателей крови на фоне применения пробиотиков.
3. Морфофункциональные изменения в Гардеровой железе, дивертикуле Меккеля, кишечных тонзиллах, слепокисечных миндалинах, апикальном дивертикуле слепых кишок.
4. Характер развития лимфоидных образований и структурных изменений в печени, почках, поджелудочной железе и сердце.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены, обсуждены и получили положительную оценку на Международном съезде ветеринарных терапевтов и диагностов «Актуальные проблемы патологии животных» (Барнаул, 2005), на Всероссийской научно-практической конференции «Повышение эффективности и устойчивости развития агропромышленного комплекса» (Уфа, 2005), на научно-практической конференции технологического факультета ПГАУ «Роль науки в развитии АПК» (Пенза, 2005), на научно-практической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов, посвященной 60-летию Великой Победы «Молодежная наука и АПК: проблемы и перспективы» (Уфа, 2005), на научно-практической конференции «Инновации молодых ученых – развитию АПК России» (Великие Луки, 2006), на I Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Молодые ученые в реализации приоритетного национального проекта «Развитие АПК» (Уфа, 2006), на Межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов «Молодые ученые в решении актуальных проблем современной науки» (Чебоксары, 2006), на расширенном заседании кафедры акушерства, патологической анатомии и хирургии Башкирского государственного аграрного университета (протокол №3, 10.10.2006г.).

Публикации. Положения диссертационной работы изложены в 11 научных работах, в том числе одной публикации в рецензированном научном журнале «Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные».

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 174 страницах компьютерного текста и состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение полученных результатов, выводы, практические предложения, библиографический список.

Работа содержит 7 таблиц, 70 рисунков, в том числе 1 макрофотографию, 62 микрофотографии, 2 графика. Список литературы включает 295 источников, в том числе 74 зарубежных авторов.

1 Материал и методы исследования

Исследования выполнены в 2003 – 2006 годах на кафедре акушерства, патанатомии и хирургии ФГОУ ВПО «Башкирский государственный аграрный университет», ОАО «Птицефабрика «Башкирская» Уфимского района Республики Башкортостан.

Экспериментальная часть проведена в цехе ремонтного молодняка ОАО «Птицефабрика «Башкирская» на цыплятах кросса «Родонит», содержащихся в клеточных батареях КБУ-3. Зоогигиенические параметры содержания соответствовали рекомендациям ВНИТИП (2000). В период опыта птица получала одинаковые заводские рационы («Стартер-2»), соответствующие нормам ВНИТИП. Проводилась профилактическая вакцинация против болезни Марека (1сут), Ньюкаслской болезни (18 сут), болезни Гамборо (8 сут), инфекционного бронхита (12 сут).

Цыплята, подобранные по принципу аналогов, были разделены на 3 группы по 60 голов в каждой. Ежедневно с суточного по 30-суточный возраст им выпаивались профилактические дозы пробиотиков, рекомендованные ВГНКИ ветеринарных препаратов, по следующей схеме:

Группа (препарат)	Показатель	Возраст	
		1–14 суток	15–30 суток
1 гр. «Алифт-П»	Кол-во цыплят	60	50
	Доза	1,0 мл/гол	1,5 мл/гол
2 гр. «Бифинорм»	Кол-во цыплят	60	50
	Доза	0,5 мл/гол	1,0 мл/гол
3 гр. Контроль	Кол-во цыплят	60	50

«Алифт-П» – комплексный пробиотический препарат, представляющий собой ассоциированную культуру молочнокислых бактерий – *Lactobacterium acidophilus* (80%), стрептококков – *Streptococcus diacetylactis*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus thermophilus* (15–20%) и пропионовокислых бактерий (<5%). Данные виды бактерий выделены от здоровой птицы, а подобранные комбинации позволяют получать в кишечнике устойчивые микробные популяции. В препарате содержатся биологически активные вещества, ферменты и витамины. «Алифт-П» является биологически чистым препаратом, не токсичен и не вызывает побочного действия и осложнений, не накапливается в органах и тканях, противопоказаний не имеет. Убой птицы после применения препарата можно проводить без ограничений.

«Бифинорм» – полужидкий препарат бифидобактерий, выращенных на кукурузно-лактозной среде. Выработан с использованием специально выбранного штамма *Bifidobacterium adolescentis* MC-42. Штамм обладает выраженной антагонистической активностью в отношении многих патогенных и условно-патогенных микроорганизмов и сохраняет это свойство на фоне антибиотикотерапии за счет устойчивости к ряду антибиотиков. Штамм обладает высокими адгезивными свойствами, обеспечивая нормобноз кишечника.

Для установления продуктивных показателей проводилось еженедельное взвешивание, с использованием электронных весов «Rolsen» (погрешность измерения $\pm 1,0$ гр). Определялись абсолютный прирост, среднесуточный прирост массы тела и относительная скорость прироста, которую вычисляли по формуле Броди: $P_{\text{отн}} = (M_2 - M_1) / (M_2 + M_1) \cdot 2$.

Для контроля за физиологическим состоянием птицы проводили морфологический анализ крови в 1, 15 и 30-суточном возрасте. Определяли уровень гемоглобина, количество эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов; для подсчета форменных элементов мазки окрашивали по Романовскому-Гимзе.

Для изучения гистологической картины органов опытных и контрольных цыплят на 1, 15 и 30-сутки проводили убой и отбор материала у 10 голов из каждой группы. Производили отбор образцов сердца, печени, почек, поджелудочной железы, Гардеровой железы, дивертикула Меккеля, кишечных тонсилл, медиального и апикального дивертикулов слепых кишок.

Гардерева железа располагается в глубине периорбиты на медиальной поверхности глазного яблока. При взятии материала извлекали глазное яблоко вместе с мышцами и соединительно-тканной прослойкой. Гардерову железу брали вместе с сетчатой оболочкой глаза, мышцами и соединительной тканью. Дивертикул Меккеля располагается почти посредине тощей кишки в виде цилиндрического возвышения. Материал брали вместе с участком кишки, на котором он находится. Апикальный дивертикул находится в дистальных участках слепых кишок, в начальных участках располагаются слепокнишечные миндалины. В подвздошной кишке возле отхода слепых кишок находятся кишечные тонсиллы. Взятие материала осуществляли в комплексе с подвздошной кишкой и начальными отрезками слепых кишок (миндалины).

Материал, зафиксированный в жидкости Карнуа, обезживали и заливали в парафин по схеме Г.А.Меркулова (1969). С помощью роторного микротом^а получали срезы толщиной 5-6 мкм и после депарафинации окрашивали их гематоксилином и эозином. Коллагеновые волокна выявляли по Ван - Гизону. Дезоксирибонуклеопротенды (ДНП) и рибонуклеопротенды (РНП) - по L.Einarson (1951), по J.Brachet (1953), по R.U.Felgen & H.Rossenbec (1924), гликоген и нейтральные гликозаминогликаны - по А.Л.Шабадашу (1949), Мак-Манусу (), кислые гликозаминогликаны - по H.F.Steedman (1950). Из материала, фиксированного в 10% водном растворе формалина, получали срезы на замораживающем микротоме и окрашивали суданом черным по Лизону, суданом III по Дадди (Кононский, 1976). Тучные клетки (лаброциты) выявляли в срезах окрашенных паноптическим методом по Паппенгейму (Pappenheim A., 1912) и Романовскому - Гимзе.

С помощью окуляр микротометра определяли морфометрические показатели печени (размер печеночной пластинки, диаметр желчных протоков и сосудов, размеры лимфоидных скоплений), почек (диаметр почечного тельца, просвет между капсулой нефрона и сосудистым клубочком, диаметр извитых и прямых канальцев, высоту эпителия канальцев), поджелудочной железы (размер лимфоидных скоплений), Гардеровой железы (размер дольки, альвеолы и железы, высота дольки, ширину лимфоцитарного и железистого слоев, размер протока),

дивертикула Меккеля, кишечных тонсилл, медиального и апикального дивертикулов слепых кишок (высота ворсинок и эпителия, размеры слизистой, мышечной и серозной оболочек, диаметр лимфонидных узелков).

Окрашенные срезы исследовали с использованием микроскопа Lomo MicMed-5 (окул. $\times 10$, объек. $\times 4$, $\times 10$, $\times 40$), фотографировали цифровой фотокамерой марки Nikon cool pix 4500 с использованием оптико-механического адаптера для цифрового фотоаппарата АМФЦ – 11 – 01.

Данные подвергали математической и статистической обработке с помощью прикладных программ на персональном компьютере с использованием критерия Стьюдента.

2 Результаты собственных исследований

2.1 Динамика живой массы цыплят при применении пробиотиков

За период исследования средняя живая масса птицы всех групп увеличилась в 9,3–10,3 раза. Цыплята, получавшие пробиотические препараты, к 30 суткам превышали по массе контрольных на 8,4% (1 группа–Алифт-П) и на 9,9% (2 группа–Бифинорм). Разница показателей живой массы среди опытных групп не достоверна ($P > 0,05$).

Группы	Живая масса цыплят 30 сут., г	Среднесуточный прирост за период 1-30 сутки, г	Относительный прирост массы, %			
			1 нед.	2 нед.	3 нед.	4 нед.
1 (Алифт-П)	355,9 $\pm$ 6,9	10,7 $\pm$ 0,2	57,8	68,6	47,3	43,8
2 (Бифинорм)	361,8 $\pm$ 8,1	10,9 $\pm$ 0,3	56,5	61,9	60,2	40,6
3 (Контроль)	325,9 $\pm$ 9,2*	9,7 $\pm$ 0,3*	38,6	63,8	65,1	41,4

Среднесуточный прирост цыплят опытных групп на 1 неделе превышает контроль на 41,0% (Алифт-П) и 39,1% (Бифинорм). Относительный прирост массы тела цыплят контрольной группы составил 38,6%, что меньше, чем в 1-й и 2-й группах, в 1,50 и 1,46 раза. Это свидетельствуют о благотворном влиянии пробиотиков при преодолении производственных стрессов, возникающих в первые дни после вылупления. За период с 1 по 30 сутки среднесуточный прирост 1-й и 2-й опытных групп выше контроля на 9,3 и 10,9% соответственно. Разница между цыплятами, получавшими «Алифт-П» и «Бифинорм», не достоверна. Разброс показателей относительного прироста массы между группами на 2, 3 и 4 недели опыта незначительный.

Разница показателей живой массы в контрольной группе к 30 суткам составляет 30,0 гр с 1-й группой (Алифт-П) и 35,9 гр со 2-й (Бифинорм).

2.2 Морфологические показатели крови

По результатам морфологического исследования крови установили, что количество эритроцитов у цыплят 1-й группы 15-дневного возраста меньше по сравнению с птицей 2-й группы на 26,9% и контролем на 32,4%. Количество гемоглобина у цыплят 1-й группы незначительно меньше, чем во 2-й группе (4,3%),

а разница с контролем недостоверна, в результате чего цветной показатель цыплят 1-й группы превышает 2-ю группу и контроль на 22,2 и 27,8% соответственно.

Низкое количество эритроцитов у цыплят 1-й группы по отношению к птице других групп сохраняется к 30-суточному возрасту, находясь ниже 2-й группы на 32,8% и контроля на 30,4%. Наряду с незначительным превышением количества гемоглобина ($P>0,05$), цветной показатель в этой группе превышает аналогичные показатели во 2-й группе на 30% и на 34% в контроле.

Количество лейкоцитов у цыплят контрольной группы в 2-недельном возрасте больше по сравнению с 1-й и 2-й группами на 31,3 и 35,5% соответственно. Несмотря на увеличение к 30 суткам количества лейкоцитов в опытных группах на 15,2 (1 группа) и 22,5% (2 группа), в контроле этот показатель больше на 14,2 и 11,8% соответственно, чем в группах, получавших пробиотики «Алифт-П» и «Бифинорм».

Выраженные изменения морфологических показателей крови между опытными и контрольной группами подтверждает и лейкоцитарная формула. В месячном возрасте выражена разница относительного количества лимфоцитов. Соотношение больших, средних и малых лимфоцитов в 1-й группе 1:2,3:1,9, во 2 группе – 1:1,8:1,7, в контрольной – 1:2,6:3,4. Количество средних и малых лимфоцитов в крови контрольных цыплят больше чем в 1-й группе на 52,91 и 76,12%, во 2-й группе – на 35,32 и 57,14%. Эти данные свидетельствуют о более низком лимфопоэзе у контрольных цыплят.

При подсчете псевдоэозинофилов, из-за их небольшого количества, не проводилась дифференцировка на юные, палочкоядерные и сегментоядерные. Показатели количества базофилов и миелоцитов являются недостоверными, так как их обнаружили у одной или двух птиц из групп. Количественное соотношение моноцитов между группами на 15-е сутки не сохраняет свою тенденцию к месячному возрасту. По нашему мнению, система мононуклеарных фагоцитов в крови приобретает свое значение в условиях воспалительной реакции, нежели в отношении к вакцинным антигенам. Видимо, баланс данных клеток связан, прежде всего, с индивидуальной адаптацией птицы.

2.3 Морфологические изменения периферических органов иммунной системы цыплят

Гардерова железа

Результаты морфометрического исследования Гардеровой железы показали, что размер долек и альвеол, просвет центрального протока и ширина лимфоидного слоя значительно больше в группах, получавших пробиотические препараты. По результатам измерений можно сделать вывод, что размер органа зависит от степени развития лимфоидных образований, так как ширина железистого слоя во всех группах одинакова.

По результатам гистологического исследования капсула и трабекулы Гардеровой железы цыплят контрольной группы утолщены за счет мукоидного набухания, разрастания соединительной ткани и инфильтрации лимфоидными клетками. Сосуды переполнены кровью, повышена их проницаемость, вследствие чего образуется отек соединительной ткани. Выражено разделение железы на

секреторный и лимфоидный отделы. Секреторные трубки выстланы однослойным эпителием, клетки его набухшие, неравномерно воспринимают окраску, границы неразличимы. Протоки содержат большое количество оксифильного секрета. В центральной части железы трубочек значительно меньше, основную массу занимают скопления лимфоидной ткани с образованием небольших узелков. Скопления представлены малодифференцированными лимфоцитами, реактивные центры не выявляются, что свидетельствует о низкой активности железы как периферического иммунного органа. В скоплениях встречается большое количество тучных и плазматических клеток, различимы псевдоэозинофилы и макрофаги.

В 1-й группе (Алифт-П) у 15-суточных цыплят под капсулой встречаются полиморфно-клеточные инфильтраты. Трабекулы разделяют железу на четко выраженные дольки. Эпителий железистой части имеет выраженную структуру, равномерно окрашивается, границы клеток различимы. Протоки содержат небольшое количество секрета. В лимфоидной ткани скопления образуют фолликулы с едва заметной соединительнотканной капсулой. Реактивный центр смещен к краю, ближе к трабекулярной перегородке и содержит большое количество плазматических клеток и макрофагов. К 30 суткам инфильтрация подкапсулярной области не выражена, лимфоидная часть увеличивается и скопления лимфоцитов внедряются в междольковые прослойки железистой части.

Эпителий секреторных трубочек во 2-й группе (Бифинорм) набухший, встречаются гиперплазированные клетки, но границы клеток и ядерный рисунок различимы. В диффузных лимфоидных скоплениях встречается много клеток лимфоцитопозитического ряда, образуются небольшие фолликулы с тонкой соединительнотканной капсулой. Увеличивается размер лимфоидного отдела и происходит внедрение его в железистую часть.

Таким образом, при морфологическом исследовании Гардеровой железы контрольных цыплят обнаружен полиморфно-клеточный инфильтрат под капсулой, отек, происходит утолщение трабекул. Лимфоидные скопления представлены малодифференцированными клетками, расположенными диффузно, без образования фолликулов. В опытных группах инфильтрация подкапсулярной области менее выражена, эпителий секреторных трубочек хорошо развит, протоки содержат умеренное количество секрета. Лимфоидные скопления образуют фолликулы, к месячному возрасту происходит их активация. Выражено увеличение лимфоидной ткани и внедрение ее в железистую часть.

Дивертикул Меккеля

Результаты морфометрического исследования показывают, что в 15-суточном возрасте разница показателей среднего диаметра дивертикула между группами незначительна ($P > 0,05$). К 30 суткам в опытных группах за счет образования лимфоидной ткани дивертикул крупнее, чем в контроле, на 7,0% в 1-й группе и на 10,1% во 2-й.

При гистологическом исследовании дивертикула Меккеля определили, что стенка состоит из слизистой, мышечной и серозной оболочек. Серозная оболочка представлена однослойным плоским эпителием и соединительнотканной пластинкой. Мышечная оболочка образована гладкой мышечной тканью и со-

стоит из кольцевого и продольного слоев. На слизистой оболочке находятся ворсинки, покрытые однослойным цилиндрическим эпителием. В подслизистом слое находятся лимфоидные скопления.

Дивертикул Меккеля контрольной группы относительно невысокий, шарообразной формы, диаметром $252,0 \pm 7,0$ мкм. Границы между клетками реснитчатого эпителия плохо различимы, наблюдается гиперсекреция бокаловидных клеток. В основании некоторых ворсинок встречаются скопления лимфоидной ткани, помимо малодифференцированных лимфоцитов в их состав входят макрофаги и плазматические клетки.

Рисунок ворсинок дивертикула 1-й группы (Алифт-П) четко выражен, ворсинки невысокие, плотно прилегают друг к другу, на поверхности и в криптах имеется небольшое количество слизи. Отмечается миграция лимфоцитов через клетки эпителия. В верхушке дивертикула расположено скопление лимфоидной ткани, занимающее всю область подслизистого слоя. В массе диффузно расположенных лимфоцитов находятся фолликулы на разных стадиях формирования размером 2,5–5,6 мкм. В срезе наблюдаются 9–12 фолликулов. Они покрыты соединительнотканной капсулой, вокруг много кровеносных сосудов. В одних фолликулах происходит развитие центра размножения, состоящего преимущественно из малодифференцированных клеток лимфоцитопоэтического ряда и единичных макрофагов. У других центральная зона слабо выражена, соотношение незрелых и активных лимфоцитов одинаково, большое количество митотически делящихся клеток. В самых крупных фолликулах различим реактивный центр, корковый и мозговой слои. Выражена активация иммунокомпетентных клеток и распространение диффузных образований с верхушки к центру дивертикула.

Диаметр дивертикула во 2-й группе («Бифинорм») в месячном возрасте $280,0 \pm 7,3$ мкм. Четкий рисунок ворсинок различим только в основании дивертикула, на поверхности большое количество секрета. В большей части дивертикула наблюдается утолщение слизистой оболочки, прорастание соединительной тканью подслизистого слоя, серозной и мышечной оболочек, набухание коллагеновых волокон, периваскулярный отек, инфильтрация лимфоцитами. В верхушке дивертикула имеются обширные скопления лимфоидной ткани, в которой располагаются небольшие фолликулы $4,8 \pm 0,4$ мкм. Большинство из них представлены малодифференцированными клетками лимфоцитопоэтического ряда в состоянии митотического деления и единичными макрофагами. Снаружи фолликулы покрыты соединительнотканной капсулой. В некоторых фолликулах начинаются процессы активации лимфоцитов, различим реактивный центр, но разделение на корковую и мозговую зоны не выражено.

Таким образом, по результатам морфологического исследования следует, что к месячному возрасту у цыплят контрольной группы дивертикул Меккеля выполняет только трофическую функцию. В подслизистом слое едва различимы увеличение количества иммунокомпетентных клеток и процессы пролиферации лимфоцитами. В опытных группах дивертикул кроме трофической функции начинает выполнять роль периферического органа иммунной системы.

Происходит активация и дифференциация лимфоидных фолликулов, более выраженная в группе, получавшей пробиотик «Алифт-П».

Кишечные тонзиллы

Результаты морфометрического исследования размера лимфоидных фолликулов кишечных тонзилл свидетельствуют, что достоверной разницы этого показателя между опытными и контрольной группами нет. Уменьшение высоты ворсинок происходит за счет увеличения общего количества лимфоидной ткани.

Гистологическое исследование кишечных тонзилл цыплят контрольной группы показало, что слизистая оболочка образует небольшие ворсинки, границы клеток эпителия хорошо различимы. В подслизистом слое волокна набухшие, инфильтрированы лимфоцитами, макрофагами и псевдоэозинофилами.

В 1-й группе (Алифт-П) на одной стороне кишечной трубки слизистая оболочка образует небольшие ворсинки $22,4 \pm 5,2$ мкм. На другой ворсинки сильно утолщены, всю площадь занимают диффузные скопления лимфоидной ткани, образующие фолликулы. Диаметр фолликулов $13,1 \pm 3,9$ мкм, количество их в срезе достигает 6-8. Они покрыты соединительнотканной капсулой, во многих различим герминативный центр.

Во 2-й группе (Бифинорм) в тонзиллах находится большое количество фолликулов, диаметром от 5,8 до 16,4 мкм. Они покрыты соединительнотканной капсулой, в срезе встречается 10-12. Большинство из них находятся в начальной стадии формирования, в некоторых различимы светлые реактивные центры.

Таким образом, результаты морфологического исследования кишечных тонзилл показывают, что функционирование их как периферического органа иммунной системы выражено слабо. В опытных группах размеры лимфоидных скоплений значительно крупнее, чем в контрольной, больше фолликулов, имеются фолликулы с реактивными центрами, но основная их масса представлена малодифференцированными лимфоцитами.

Слепокишечные миндалины

В контрольной группе слизистая оболочка слепых кишок образует небольшие, но широкие ворсинки. Почти всю их толщу занимают скопления лимфоидной ткани. Имеется небольшое количество мелких фолликулов, диаметром $3,4 \pm 0,8$ мкм. Центры размножения представлены малодифференцированными клетками лимфоцитопозитического ряда в состоянии митотического деления.

В 1-й группе (Алифт-П) всю площадь подслизистого слоя занимают диффузные скопления лимфоидной ткани. Образуются фолликулы диаметром $10,4 \pm 3,2$ мкм. В срезе встречаются 3-4 фолликула, они покрыты тонкой соединительнотканной капсулой, в некоторых образуется светлый реактивный центр.

Во 2-й группе различимы фолликулы разного размера, количество их в срезе 10-12. Большинство из них находится в начальной стадии формирования. В некоторых фолликулах происходит развитие герминативных центров.

Таким образом, морфологическое исследование слепокишечных миндалин опытных и контрольных цыплят показало, что процессы образования лимфоидной ткани и активации фолликулов более выражены в опытных группах.

Апикальный дивертикул

Результаты морфометрического исследования апикального дивертикула слепых кишок свидетельствуют о том, что изменение высоты ворсинок, размеров лимфондных скоплений и фолликулов в группах не имеет выраженной закономерности.

При гистологическом исследовании апикального дивертикула у цыплят контрольной группы слизистая оболочка дистальных концов слепых кишок образует ворсинки высотой $19,0 \pm 3,3$ мкм. В подслизистом слое различимо набухание коллагеновых волокон, клеточный инфильтрат представлен лимфоцитами, макрофагами и псевдоэозинофилами. В утолщенном основании ворсинок встречаются диффузные скопления лимфоидной ткани. Узелки и фолликулы не выражены, основная масса образований представлена малодифференцированными лимфоцитами и единичными макрофагами.

В 1-й группе (Алифт-П) происходит прорастание соединительной тканью подслизистого слоя, инфильтрация лимфоцитами, макрофагами и лейкоцитами. Встречаются обширные скопления лимфоидной ткани, в состав которых входят малодифференцированные клетки лимфоцитопозитического ряда в состоянии митотического деления и единичные макрофаги. Образование узелков и фолликулов не выявлено. Рядом с лимфондными скоплениями находится большое количество кровеносных сосудов.

Во 2-й группе (Бифинорм) большую часть дивертикула занимают диффузные скопления лимфоидной ткани. В скоплениях различимы небольшие фолликулы, покрытые соединительнотканной капсулой, состоящие из малодифференцированных лимфоцитов. Реактивные центры не выявлены, формирование центров размножения характерно для начальной стадии развития фолликулов.

Таким образом, по результатам морфологического исследования можно сделать вывод, что в апикальном дивертикуле процессы закладки лимфоидной ткани находятся на начальном этапе. Дивертикул контрольной группы участвует только в процессах пищеварения. В опытных группах увеличение количества лимфоидной ткани более выражено, во 2 группе начинают образовываться фолликулы, но данные структуры не активизированы.

2.4 Морфологические изменения в паренхиматозных органах

Печень

У цыплят контрольной группы в 2-недельном возрасте капсула печени сильно растянута, утолщена соединительнотканная пластинка. Дольчатое строение органа сильно нарушено, отмечается дискомплектация пластинок, распад их на отдельные клеточные элементы. Под капсулой встречаются отдельно лежащие гепатоциты, ядра одних находятся в состоянии пикноза, другие погибли по типу лизиса. Почти все гепатоциты находятся в состоянии мелкокапельной жировой дистрофии. Данные изменения характерны для процессов адаптации организма к высокопротеиновым рационам, а так же являются сопутствующими признаками дисбиозов. Артерии и вены кровенаполнены, отмечается значительный периваскулярный отек, застойные явления капиллярного русла. К 30

суткам дольчатое строение более выражено, различаются границы долек и отсутствуют признаки дисконплектации пластинок. Лимфоидные скопления располагаются возле крупных сосудов, изредка встречаются диффузные скопления размером до 9,2 мкм, основу их составляют малодифференцированные лимфоциты.

Морфологические изменения печени в I группы (Алифт-II) характеризуются образованием под капсулой крупных лимфоидных фолликулов 8,0-11,6 мкм в диаметре, окруженных тонкой соединительнотканной капсулой. Дольчатая структура выражена, белок гепатоцитов хорошо воспринимает окраску, ядра одинакового размера, равномерно окрашены. В паренхиме органа встречаются лимфоидные образования от едва заметных до весьма обширных диффузных полей, либо фолликулов размером от 6,7 до 12,4 мкм в диаметре. Основной клеточной популяцией образований являются лимфоциты, значительно меньше макрофагов и псевдоэозинофилов.

В системе триад артерия, вена и желчный проток четко выражены, в периваскулярном пространстве находится полиморфноклеточный инфильтрат, образующий своеобразные муфты.

При гистологическом исследовании печени цыплят 2-й группы (Бифинорм) выявили определенные различия. В расположенных под капсулой гепатоцитах встречаются липидные включения, наряду с жировой дистрофией происходит дисконплектация дольчатого строения. В более глубоких слоях такие изменения не встречаются. Дольчатое строение хорошо различимо, гепатоциты хорошо воспринимают окраску. Крупные сосуды и капилляры переполнены кровью, в некоторых случаях наблюдается повышение проницаемости сосудистой стенки и, как следствие, периваскулярный отек.

Лимфоидные скопления встречаются повсеместно, размеры их значительно варьируют от едва заметных диффузных образований возле капилляров до фолликулов, диаметром 7,4-10,8 мкм. Встречаются обширные лимфоцитарные поля (17,2-24,6 мкм). Большая часть образований состоит из клеток лимфоцито-поэтического ряда в состоянии митотического деления, встречаются крупные макрофаги и псевдоэозинофилы.

Таким образом, основные морфологические изменения в печени контрольных цыплят характерны для процессов адаптации к высокопротейновым рационам и сопутствуют дисбалансу микробной популяции кишечника. В опытных группах хорошо выражены лимфоидные фолликулы, происходит их активизация.

Почки

У цыплят контрольной группы почечные клубочки разной величины, выражена гиперемия сосудов с явлениями застоя в корковой области, там же наблюдается лимфоцитарный инфильтрат. Эпителий собирательных канальцев набухший, просвет узкий заполнен секретом. В извитых канальцах процессы зернистой дистрофии. Атрофия почечных телец наблюдается в 15-суточном возрасте, в 30 суток процессы атрофии не встречаются. В паренхиме почки скопления лимфоидной ткани не выражены.

В 1-й группе (Алифт-П) рисунок почек хорошо выражен, почечные тельца равной величины. Границы клеток эпителия собирательных канальцев хорошо выражены, просвет $0,70 \pm 0,13$ мкм, в нем различим белковый секрет. Сосуды переполнены кровью, скопления лимфоидной ткани не обнаружены.

Во 2-й группе (Бифинорм) клубочковый аппарат хорошо выражен, равномерно развит. Под капсулой лимфоцитарный инфильтрат. Эпителий собирательных канальцев слегка набухший, границы клеток выражены, просвет узкий $0,52 \pm 0,14$ мкм, заполнен секретом. Сосуды в состоянии гиперемии, лимфоидная ткань не встречается.

Таким образом, морфологическое исследование почек показало, что у цыплят контрольной группы выражена зернистая дистрофия собирательных канальцев, гиперемия кровеносных сосудов, лимфоцитарный инфильтрат в корковой зоне и атрофия почечных телец. У опытных цыплят идет равномерное развитие клубочкового аппарата и системы собирательных канальцев.

Поджелудочная железа

У цыплят контрольной группы трабекулы, отходящие от капсулы поджелудочной железы, утолщены за счет выраженной васкуляризации. Дольчатое строение слабо выражено. Окраска панкреоцитов неравномерная, плохо различимо деление на зернистую и гомогенные зоны. В микроциркуляторном русле наблюдаются застойные явления и как, следствие, полиморфноклеточные инфильтраты, отек подкапсульной области, очаги некроза и лимфоцитарный инфильтрат. В просвете протока оксифильный секрет. Данные изменения характерны для процессов адаптации к высокопротеиновым рационам и сопутствуют нарушению баланса микробной популяции кишечника. Лимфоциты образуют небольшие скопления $6,4-9,2$ мкм в диаметре. Реактивный центр не всегда различим, большую массу фолликула составляют малодифференцированные лимфоциты.

Строение поджелудочной железы 1-й группы (Алифт-П) характеризуется выраженным рисунком паренхимы. Дольки состоят из клеток треугольной или призматической формы, разделенных на две зоны: гомогенную, окрашенную в синий цвет, и зернистую, розового цвета. В сосудах умеренное количество крови. Размеры лимфоидных скоплений $9,27-16,20$ мкм. В капсуле лимфоидных фолликулов различимы коллагеновые волокна, опоясывающие незрелые лимфоциты, макрофаги и тучные клетки.

Во 2-й группе («Бифинорм») лимфоидные скопления образуют небольшие узелки ($8,5$ мкм) и крупные фолликулы размером до $42,28$ мкм в диаметре. Фолликулы покрыты тонкой соединительнотканной капсулой, вокруг реактивного центра много клеток лимфоцитопозитического ряда, обнаруживаются единичные макрофаги, плазматические и тучные клетки.

Таким образом, морфологическое исследование поджелудочной железы цыплят опытных групп показало, что дольчатая структура органа хорошо выражена, различимо деление панкреоцитов на гомогенную и зернистую зоны. Протоки содержат умеренное количество секрета, лимфоциты образуют сформированные фолликулы. У контрольных цыплят наблюдаются отек и некрозы под капсулой, периваскулярные инфильтраты, застойные явления в протоках,

характерные для кишечных дисбиозов. Лимфоидные скопления не активизированы.

Сердце

Миокард цыплят контрольной группы неравномерно окрашен, наблюдается глыбчатость структур. Широкие прослойки соединительной ткани между мышечными пучками инфильтрированы клетками полиморфного состава. В зонах перичелюлярного отека наблюдается разволокнение мышечных пучков. Поперечная исчерченность не выражена, имеется большое количество анастомозов, но мало вставочных дисков. Ядра кардиомиоцитов различные по величине и степени окраски. Сосуды миокарда спавшиеся, но процессы перичелюлярного отека и пролиферации адвентиции хорошо выражены.

В 1-й группе (Алифт-П) эндокард и эпикард четкие по структуре, не образуют складок, разрывов и утолщений. Окраска миокарда равномерная, процессы перичелюлярного отека, инфильтрации слабо выражены. Проплиферация адвентиции крупных сосудов и периваскулярный отек выражены достаточно хорошо.

Во 2-й группе (Бифинорм) эндокард без разрывов, утолщений и складок. Окраска миокарда равномерная, границы миоцитов хорошо выражены, просматривается поперечно-полосатая исчерченность и большое количество вставочных дисков. Процессы перичелюлярного отека заметны только в мышцах, расположенных под эпикардом. Сосуды содержат умеренное количество крови, но периваскулярный отек крупных сосудов выражен хорошо.

Таким образом, морфологическое исследование сердца опытных и контрольной групп показало, что в миокарде птиц контрольной группы отмечаются признаки зернистой дистрофии, перичелюлярного и периваскулярного отека, гемодинамические нарушения. У цыплят, получавших пробиотики, признаки дистрофических изменений, нарушения крово- и лимфообращения не выражены.

ВЫВОДЫ

1. Применение пробиотиков способствует ускорению роста цыплят опытных групп на 8,4% («Алифт-П») и 9,9% («Бифинорм») за счет увеличения среднесуточного прироста живой массы на 1,0 и 1,2 г/сут соответственно.

2. Морфологические показатели крови свидетельствуют об оптимизации лимфопоэза у цыплят, получавших пробиотики, за счет увеличения относительного количества больших лимфоцитов.

3. Возрастная морфология периферических органов иммунной системы цыплят, получавших пробиотические препараты, характеризуется активацией лимфоидных фолликулов в Гардеровой железе, сменой трофической функции дивертикула Меккеля на иммунную, за счет формирования в нем лимфоидных фолликулов, увеличением объема лимфоидной ткани в кишечных тонзиллах, слепкишечных миндалинах и апикальном дивертикуле. Все это свидетельствует об ускорении процессов формирования, созревания и активации периферических органов иммунной системы цыплят под действием пробиотиков.

4. Морфологические изменения в паренхиматозных органах цыплят контрольной группы указывают на признаки белково-жировой дистрофии, дискомплектации долек печени. Наблюдаются нарушения крово- и лимфообращения в поджелудочной железе, развиваются процессы зернистой дистрофии эпителия собирательных канальцев и атрофия сосудистых клубочков почек. Определены признаки зернистой дистрофии, перичелюлярного и периваскулярного отека, гемодинамические нарушения в миокарде. Все это характерно для процессов адаптации к высокопротенновым рационам и дисбалансу микробной популяции кишечника. Применение пробиотиков «Алифт-П» и «Бифинорм» снижает степень развития этих адаптационных и патологических изменений, способствует формированию и активизации лимфоидных фолликулов.

5. Морфологическое исследование внутренних органов и анализ крови показывают, что пробиотики в применяемых дозах (1,0–1,5 мл «Алифт-П» или 0,5–1,0 мл «Бифинорм» одной птице) не оказывают патогенного воздействия на организм птицы, стимулируют рост и развитие птиц в первый месяц после вылупления.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Препараты «Алифт-П» и «Бифинорм» целесообразно применять для ускорения роста и развития цыплят, стимуляции иммунной системы птицы в первый месяц жизни, при вакцинациях и клинических показаниях в профилактических дозах как отдельно, так и в комбинации.
2. Так как периферические органы имеют важнейшее значение для формирования иммунитета и повышения защитных сил организма, особенно у взрослой птицы, при определении влияния биологически активных веществ и фармакологических препаратов на организм птиц, целесообразно проводить морфологическое исследование не только тимуса, фабрициевой бursы и селезенки, но и отслеживать изменения в Гардеровой железе, дивертикуле Меккеля, кишечных тонзиллах, слепокнишечных миндалинах, апикальном дивертикуле и др.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Деблик А.Г. Влияние пробиотиков на рост массы тела цыплят / А.Г. Деблик, Е.Н. Сквородин // Повышение эффективности и устойчивости развития агропромышленного комплекса. Мат. Всероссийской науч.-практ. конференции, ч. 4. – Уфа: Изд-во БГАУ, 2005. – С.53-56.
2. Деблик А.Г. Опыт применения пробиотиков для профилактики дисбактериозов в промышленном птицеводстве / А.Г. Деблик, Л.З. Бадретдинова // Молодежная наука и АПК: проблемы и перспективы. Мат. научн.-практ. конф. молодых ученых, аспирантов и студентов, посвящ. 60-летию Великой Победы. – Уфа: Изд-во БГАУ, 2005. – С.79-81.
3. Деблик А.Г. Показатели крови цыплят при применении пробиотиков / А.Г. Деблик, Е.Н. Сквородин // Актуальные проблемы патологии животных. Мат. Междун. съезда терапевтов, диагностов. – Барнаул, 2005. – С.47-49.

4. Деблик А.Г. Соотношение клеток белой крови цыплят при применении пробиотиков / А.Г. Деблик, Е.Н. Сковородин // Роль науки в развитии АПК. Мат. науч.-практ. конференции технолог. факультета. – Пенза, 2005. – С.39-42.
5. Деблик А.Г. Возрастная морфология сердца цыплят на фоне применения пробиотиков / А.Г. Деблик, К.Е. Деблик // Инновации молодых ученых – развитию АПК России. Мат. науч.-практ. конференции, ч.1. – Великие Луки, 2006. – С.120-123.
6. Деблик А.Г. Морфология печени цыплят при применении лакто- и бифидобактерийных пробиотиков / А.Г. Деблик, К.Е. Деблик, Д.А. Ижбулатова, Е.Н. Сковородин // Молодые ученые в решении актуальных проблем современной науки. Сб. науч. тр. Межрегион. научн.-практ. конф. молодых ученых, аспирантов и студентов. – Чебоксары, 2006. – С.84-85.
7. Деблик А.Г. Морфология поджелудочной железы цыплят при применении пробиотиков / А.Г. Деблик, Е.Н. Сковородин // Молодые ученые в реализации приоритетного национального проекта «Развитие АПК». Мат. 1 Всероссийской науч.-практ. конференции молодых ученых, ч. 2. – Уфа: Изд-во БГАУ, 2006. – С.10-12.
8. Деблик А.Г. Особенности морфологии почек цыплят при использовании пробиотических препаратов / А.Г. Деблик, Д.А. Ижбулатова, А.Р. Маликова, К.Е. Деблик и др. // Молодые ученые в реализации приоритетного национального проекта «Развитие АПК». Мат. 1 Всероссийской науч.-практ. конференции молодых ученых, ч. 2. – Уфа: Изд-во БГАУ, 2006. – С.12-14.
9. Ижбулатова Д.А. Морфометрические показатели слепых кишок цыплят при применении лакто- и бифидобактерийных пробиотиков / Д.А. Ижбулатова, А.Г. Деблик, К.Е. Деблик, А.Р. Маликова и др. // Молодые ученые в реализации приоритетного национального проекта «Развитие АПК». Мат. 1 Всероссийской науч.-практ. конференции молодых ученых, ч. 2. – Уфа: Изд-во БГАУ, 2006. – С.14-16.
10. Деблик А.Г. Влияние пробиотиков на функциональную морфологию органов цыплят / А.Г. Деблик, А.Р. Маликова, Д.А. Ижбулатова, Е.Н. Сковородин // Нива Поволжья. – №1, 2006. – С.45-48.
11. Деблик А.Г. Влияние пробиотиков на морфологию органов цыплят / А.Г. Деблик, А.Р. Маликова, Д.А. Ижбулатова, Е.Н. Сковородин // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. – №4, 2006. – С.39-41.

Лицензия РБ на издательскую деятельность № 0261 от 10 апреля 1998 года
Подписанов в печать 11 01 2007г. Формат 60х84. Бумага типографская.

Гарнитура Таймс. Усл. печ. л. 1, 16

Тираж 100 экз. Заказ № 18

Издательство Башкирского государственного аграрного университета
Типография Башкирского государственного аграрного университета
Адрес издательства и типографии: 450001. г. Уфа, ул. 50 лет Октября, 34