

Бессарабова -

На правах рукописи

Бессарабова
Екатерина Валерьевна

**«Применение микродисперсной формы пробиотика Лактобифадол в
птицеводстве»**

06.02.03 – ветеринарная фармакология с токсикологией

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Москва - 2011

Работа выполнена в Федеральном государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина» (ФГОУ ВПО МГАВМ и Б) на кафедрах фармакологии и токсикологии имени И.Е. Мозгова, птицеводства и болезней птиц

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук
Данилевская Наталья Владимировна

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук профессор,
ВНИИ Гельминтологии им.К.И. Скрябина
Абрамов Вячеслав Евгеньевич

доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории качества стандартизации лекарственных средств
ФГУ «ВГНКИ»
Бондаренко Владимир Олегович


Ведущая организация: ГОУ ВПО Московский государственный университет прикладной биотехнологии

Защита состоится «¹⁷» февраля 2011 ^{в 13⁰⁰} часов на заседании диссертационного совета Д 220.042.05 в Федеральном государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина» (109472, г. Москва, ул. Академика Скрябина, 23; тел. 377-93-83).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина»

Автореферат разослан «¹⁵» января 2011 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

 Волчкова Л.А.

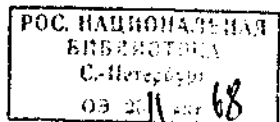
2011А
1690

1. Общая характеристика работы

Актуальность проблемы. В решении задач по обеспечению производства птицеводческой продукции и достижению параметров, определенных Доктриной продовольственной безопасности, возрастает роль ветеринарной службы (Бобылева Г.А., 2010). В условиях промышленного птицеводства в связи с высокой концентрацией поголовья важна профилактика инфекционных заболеваний, эффективность которой напрямую зависит от физиолого-биохимического и иммунологического статуса поголовья. В производственных условиях молодняк получает высокую степень контаминации патогенной микрофлорой, которая вытесняет нормальную микрофлору, что отрицательно влияет на его жизнеспособность (Фисинин В.И., 2006, Венгеренко Л.А., 2006, Панин А.Н., 2007, Данилевская Н.В., 2008). Снижаются среднесуточные приросты, иммунологический статус и сохранность птицы. В связи с этим актуальным является применение пробиотиков, что способствует поддержанию нормобиоза в ЖКТ и наиболее полному использованию птицей питательных веществ корма. Одним из пробиотиков, который широко используется в промышленном птицеводстве, является препарат Лактобифадол в виде лекарственной формы, полученной сорбционным методом на растительных носителях (Субботин В.В., 2008). Большую актуальность имеет разработка способов применения новой микродисперсной формы этого препарата, которую можно применять при посеве птицы на фоне кормления гранулированными кормами. При создании микродисперстной формы пробиотика Лактобифадол была использована технология микрогранулирования лакто- и бифидобактерий, подвергнутых предварительно лиофилизированию, что делает необходимым дополнительное изучение фармакологических свойств и эффективности новой лекарственной формы..

Целью работы являлась разработка научно-обоснованных, экологически безопасных методов фармакостимуляции птицы с использованием микродисперсной формы пробиотика Лактобифадол. Были поставлены следующие задачи:

1. Изучить острую токсичность микродисперстной формы пробиотика Лактобифадол на крысах и цыплятах.
2. Оценить влияние различных доз пробиотика при длительном применении на физиолого-биохимические показатели, рост и развитие крыс и цыплят.
3. Определить морфокинетическое действие пробиотика на цыплят современных кроссов яичного и мясного направления продуктивности.



4. Оценить эффективность различных схем применения пробиотика Лактобифадол и кокцидиоцида «Байкокс» при экспериментальном кокцидиозе у цыплят.
5. Изучить эффективность применения пробиотика в промышленных условиях при выращивании бройлеров и кур яичного направления продуктивности.
6. Определить возможность применения микродисперсной формы пробиотика Лактобифадол декоративным птицам.

Научная новизна работы. Впервые были изучены фармакологические эффекты новой микродисперсной формы пробиотика Лактобифадол, определены параметры острой токсичности, изучено влияние различных доз на физиолого-биохимические показатели лабораторных животных и птицы, показано морфокиннетическое действие. Определена сравнительная эффективность различных схем применения пробиотика в сочетании с кокцидиоцидом «Байкокс» при экспериментальном кокцидиозе цыплят, проведены производственные испытания на цыплятах-бройлерах и курах-несушках, доказана экономическая эффективность его применения. Показана возможность использования пробиотика декоративным птицам.

Практическая значимость работы. Выполненные исследования содержат новые решения актуальной проблемы фармакостимуляции птицы с целью получения экологически безопасной продукции. Показано, что микродисперсная форма отечественного пробиотика Лактобифадол, предназначенная для группового применения с водой, технологична, биологически и экономически эффективна. Благодаря нормализации кишечной микрофлоры у бройлеров повышается сохранность, снижается конверсия корма, увеличивается выход съедобных частей тушки за счет лучшего формирования мышечной массы. Результаты исследования внедрены в промышленном птицеводстве, используются в учебном процессе ФГОУ ВПО МГАВМиБ. Разработаны методические указания по применению микродисперсной формы пробиотика Лактобифадол в птицеводстве.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Данные по изучению острой токсичности препарата на мышах и цыплятах.
2. Физиолого-биохимические показатели и поведенческие реакции при длительном применении разных доз пробиотика у крыс как модельных объектов.
3. Влияния разных доз пробиотика Лактобифадол при длительном применении на физиолого-биохимические показатели цыплят кросса «Птичное».

4. Данные о фармакологических эффектах при сочетанном применении пробиотика и кокцидицида «Байкокс» при экспериментальном кокцидиозе цыплят.
5. Испытания пробиотика Лактобифадол в производственных условиях при выращивании бройлеров и кур-несушек.
6. Возможность применения пробиотика декоративным птицам при сальмонеллезе.

Апробация и публикации. Материалы диссертационной работы доложены и одобрены на: VI-ом Международном ветеринарном конгрессе по птицеводству (Москва, 2010), международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Вопросы ветеринарии и биотехнологии» (Москва, 2009); международной конференции, посвященной 80-летию Самарской НИВС Россельхозакадемии (Самара, 2009), международном семинаре Евроазиатской региональной ассоциации зоопарков и аквариумов (Москва, 2009 года), межкафедральном совещании (ФГОУ ВПО МГАВМиБ, Москва, 2010). По материалам диссертации опубликованы 6 работ, в том числе 3 в рецензируемых печатных изданиях, рекомендованных ВАК.

Структура и объем работы. Материалы диссертационной работы изложены на 158 страницах. В работе приведено 28 рисунков, 53 таблицы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований, результатов экспериментов и их обсуждения, выводов, списка литературы и приложения. Список литературы включает 191 источник (из них 111 отечественных, 80 зарубежных).

2.1. Материалы и методы. Проведено 8 серий экспериментов (табл. 1).

Таблица 1 – Серии экспериментов

№	Серия эксперимента	Количество голов
1	Определение острой токсичности на белых мышах	24
2	Определение острой токсичности на цыплятах	25
3	Изучение влияния разных доз микродисперсной формы пробиотика Лактобифадол на крыс	40
4	Изучение влияния разных доз (1, 100) пробиотика на физиолого-биохимические показатели цыплят	90
5	Изучение сравнительной эффективности различных схем сочетанного применения пробиотика и кокцидицида «Байкокс»	60
6	Производственные испытания на бройлерах кросса «Жобб-500».	64800
7	Производственные испытания на курах «Хайсекс коричневый»	80520
8	Применение пробиотика декоративной птице	30

Проанализировано 2700 биохимических, 640 гематологических, 82 иммуноло-

гических, 57 гистологических образцов. Лабораторные эксперименты были проведены в ФГОУ ВПО МГАВМиБ, производственные проверки – на Константиновской и Майдаровской птицефабриках. За рекомендуемую дозу микродисперсной формы пробиотика Лактобифадол во всех экспериментах принимали 16 млн. КОЕ бифидобактерий и 200тыс. КОЕ лактобактерий на 1кг массы тела.

В 1 серии эксперимента при изучении острой токсичности использовались белые лабораторные мыши живой массой $19,5 \pm 1,5$ г. Пробиотик вводили в виде микродисперсной суспензии на стерильном физиологическом растворе однократно per os в 100-кратной и 1000- кратной рекомендуемой дозе на одно животное. Срок наблюдения – 15 дней. Во 2 серии эксперимента при изучении острой токсичности использовали 30-ти дневных цыплят кур кросса «Птичное» средней живой массой $310,0 \pm 8,8$ г. Препарат вводили разово per os в 1-кратной, 100-кратной и 1000-кратной рекомендуемой дозе, наблюдение - в течение 10 дней.

В 3 серии экспериментов для изучения влияния разных доз микродисперсной формы пробиотика Лактобифадол было сформировано 4 группы по 10 голов в каждой. Использовали 40 неполовозрелых самцов и самок крыс линии Вистар в возрасте двух месяцев. Первая опытная группа получала препарат в рекомендуемой дозе, вторая опытная – в 500-кратной, третья опытная – в 1000-кратной дозе. Крысы контрольной группы пробиотик не получали. Препарат применяли с питьевой водой в течение 30 дней. Ежедневно проводили клинический осмотр крыс, один раз в неделю – индивидуальное взвешивание на весах AND ек-200i и ВЛК-500. В ходе эксперимента проводилась гексеналовая проба, исследовались поведенческие реакции (проба с лабиринтом и т.д.)(Mark A. Suckov, 2006).

В 4 серии экспериментов сформировали 3 группы цыплят кросса «Птичное» (n=30) для изучения влияния разных доз пробиотика на физиолого-биохимические показатели. Цыплята первой опытной группы получала Лактобифадол в рекомендуемой дозе, второй опытной группы – в 100-кратной; цыплята контрольной группы пробиотик не получали. Каждые 10 дней проводили индивидуальное взвешивание цыплят, взятие крови для биохимических исследований, определения массы внутренних органов, гистологических исследований (по 7 голов из каждой группы). В 16-ти дневном возрасте проведена вакцинация птицы вирусвакциной сухой против ньюкаслской болезни «Владивак «Ла-Сота» (серия 9, контроль 9), утвержденной Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода от 27.12.95г., интрана-

зально, по 1 капле в нос. До и после вакцинации проведены иммунологические исследования.

В 5 серии эксперимента по изучению сравнительной эффективности различных схем сочетанного применения пробиотика Лактобифадол и кокцидиоцида «Байкокс» использовали цыплят кросса «Птичное» с суточного возраста (табл. 2).

Таблица 2 – Схема эксперимента по сочетанному применению Лактобифадола и Байкокса при экспериментальном кокцидиозе кур.

№	Назначение группы (n=10)	Препарат Лактобифадола		Заражение кокцидозом	«Байкокс»
		Форма пробиотика	Сроки введения (сут)		
1	Контрольная	вода	-	-	-
2	Опытная 1	вода	-	+	+
3	Опытная 2	порошок на отрубях	1 - 45	+	+
4	Опытная 3	микродисперсная	1 - 45	+	+
5	Опытная 4	порошок на отрубях	20 - 45	+	+
6	Опытная 5	микродисперсная	20 - 45	+	+

В 20-дневном возрасте птиц опытных групп заражали оральным методом индивидуально по 0,5 мл культурой кокцидий штамма E. tenella, полученной из музея ФГУ ВНИВИП г. Ломоносова. После появления клинических признаков кокцидоза птица получала препарат «Байкокс» в дозе 1 мл на 1 литр питьевой воды согласно инструкции по применению препарата. В конце эксперимента у всех цыплят исследовали гематологические и биохимические показатели крови, проводили гистоморфологический анализ внутренних органов.

Производственные испытания (серия экспериментов 6) проводили в условиях ЗАО «Константиновская птицефабрика» на бройлерах кросса «Кобб-500». Сформировали опытную и контрольную группы по 32400 голов. Лактобифадол цыплятам опытной группы давали через день с 16 суток до конца откорма из расчета 16 млн. КОЕ бифидобактерий и 200тыс. КОЕ лактобактерий на 1кг массы птицы. Птица контрольной группы пробиотик не получала. На убое проводили изучение морфокинетиических показателей, взяли внутренние органы для гистоморфологического анализа. Изучили фармакоэкономические показатели.

Внедрение микродисперсной формы пробиотика Лактобифадол (7 серия эксперимента) проводили в производственных условиях Майдаровской птицефабрики. Использовали кросс «Хайсеке коричневый» в возрасте 22 недели. Птица опытной группы (n = 40620) получала Лактобифадол в рекомендуемой дозе ежедневно в те-

чение 160 дней, контрольная ($n = 39900$) – Лактобифадол не получала. Проводили клинические, зоотехнические, фармакоэкономические исследования.

Восьмую серию экспериментов проводили в условиях питомника декоративных птиц г. Москвы на волнистых попугаях. Сформировали 2 группы птиц по 15 голов с диагнозом сальмонеллез. Птица опытной группы получала левомицетин в дозе 0,125 мг/голову на фоне непрерывного курса пробиотика в течение 10 дней. Птица контрольной группы получала только левомицетин.

Биохимические исследования крови во всех сериях экспериментов проводили в «Центре молекулярной диагностики» при ФГУ ВГНКИ на автоматическом биохимическом анализаторе Olympus AU400 по стандартному протоколу, гематологические показатели крыс исследовали на гематологическом анализаторе PCE-90vet, кур - по стандартной методике (М.В. Васильев, 2003). Серологические исследования проводили в лаборатории ЗАО «Моссельпром» Константиновской птицефабрики (Е.С.Воронин, А.М.Петров, М.М.Серых, Д.А.Девришов, 2002).

Для гистологических исследований были взяты участки сердца, легких, селезенки, тимуса, фабрициевой сумки, печени, почек, органов ЖКТ, поджелудочной железы, которые фиксировали в 10% растворе формалина с фосфатным буфером. На микротоме Mikrom HMM 355s (Mikrom, Гейдельберг, Германия) одноразовыми гистологическими бритвами изготавливали срезы толщиной 5 μm . Препараты окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной схеме. Гистологические препараты просматривали в микроскопе AxioImager Z2 (Carl Zeiss, Германия).

Обработка результатов исследования выполнена с использованием пакета программ прикладного статистического анализа SPSS 11.5 с помощью двухвыборочного t -критерия Стьюдента. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали $\leq 0,05$ (Меркурьева Е.К., 1970).

3. Результаты собственных исследований

3.1. Изучение острой токсичности микродисперсной формы пробиотика Лактобифадол. По результату опыта, выполненного на белых мышах, отмечено, что в течение срока наблюдения (15 дней) животные всех опытных групп оставались клинически здоровыми. Патоморфологические и гистологические исследования внутренних органов мышей, проведенные по окончании срока наблюдения, не показали видимых изменений. ЛД₅₀, ЛД₁₀₀ не определяли, т.к. падеж отсутствовал.

Изучение острой токсичности на 30-ти дневных цыплятах кросса «Птичное» подтвердило полученные результаты. В течение срока наблюдения (10 дней) цыплята были клинически здоровы. Изучение гематологических, биохимических и патологоанатомических показателей статистически значимых изменений не выявило. LD_{50} , LD_{100} не определяли, т.к. вся птица осталась жива. Результаты исследования позволяют сделать вывод о том, что микродисперсная форма Лактобифадола не обладает острой токсичностью в дозах, превышающих рекомендуемую в 100 и 1000 раз для теплокровных животных, не вызывает патологических изменений внутренних органов, относится к группе нетоксичных и малотоксичных соединений.

3.2. Изучение физиолого-биохимических показателей и поведенческих реакций у крыс при длительном применении разных доз микродисперсной формы пробиотика Лактобифадол. Результаты исследований показали, что при длительном применении микродисперсной формы пробиотика Лактобифадол у растущих крыс приводит к увеличению скорости роста (рис. 1). На 30 сутки эксперимента крысы опытной группы 1 превосходили по живой массе крыс контрольной группы на 4,3%, опытной группы 2 и 3 - на 5% и 10,5% соответственно при 100%-ной сохранности во всех группах. Токсических признаков (вялость, отказ от корма) при 1000-кратном увеличении дозы Лактобифадола не было выявлено.

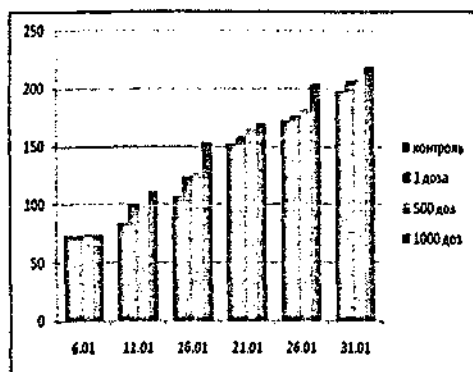


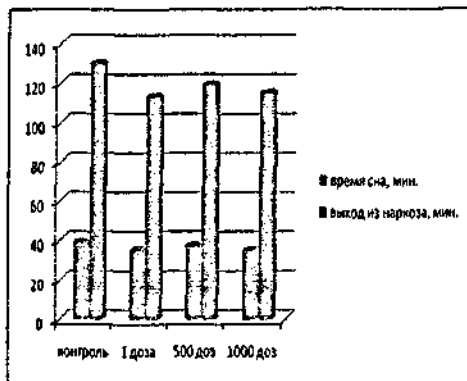
Рисунок 1 - Динамика живой массы крыс, получавших разные дозы микродисперсной формы Лактобифадола

При проведении пробы с гексеналом крысы контрольной и опытных групп входили в состояние наркоза одинаково. Это характерно для животных одного возраста со сходными параметрами физиологического состояния. Во всех опытных группах время сна и полного выхода из наркоза было сходным и меньшим по сравнению

Биохимические показатели (АсАТ, АлАТ, ЩФ) находились в пределах физиологических норм во всех четырех группах. Применение микродисперсной формы пробиотического препарата Лактобифадол даже в дозах, превышающих рекомендуемую в 500 и 1000 раз, не вызывало негативных воздействий на метаболизм.

нию с животными контрольной группы на 11-17 минут (рис. 2), что говорит о высокой ферментативной активности гепатоцитов и отсутствии их повреждений.

Данные о более быстром окислительном трансформировании гексенала на фоне изучаемого пробиотика согласуются с положительными результатами, полученными при определении маркеров состояния клеток печени при биохимическом анализе сыворотки крови у животных исследуемых групп. Статистически значимых различий между животными опытных и контрольных групп не установлено. При изучении поведенческих реакций в модели с крестообразным лабиринтом и вынужденным плаванием в тесте Порсона



установили, что применение разных доз Лактобифадола не влияет на нахождение пищи в лучевом лабиринте, формирование пространственной процедурной памяти не вызывает седации и аномальных поведенческих реакций.

Рисунок 2 – Время выхода крыс из сна при проведении гексеналовой пробы

3.3. Изучение влияния различных доз микродисперсной формы пробиотика Лактобифадол на физиолого-биохимических статус цыплят кур яичного направления продуктивности

В 4-ой серии экспериментов отмечено, что цыплята опытных групп, получавшие рекомендуемую и 100-кратную дозу микродисперстной формы Лактобифадола, за весь период наблюдений, были клинически здоровы, активны, подвижны, имели лучший аппетит. У 6% цыплят контрольной группы отмечали формирование фекальной пробки («заклейки»), нарушение аппетита и подвижности (табл.3).

Таблица 3 - Динамика живой массы цыплят кросса "Птичное", получавших микродисперсную форму пробиотика Лактобифадол за 45 дней выращивания, г (M±m)

Возраст птицы	Контрольная	Опытная 1	Δ	Опытная 2	Δ	Средняя норма для кросса
1 сутки	37.8 ± 0.27	37.7±0.28	-0.1	37.1±1.27	-0.64	36.7
10 сутки	72.6 ± 1.15	76.1± 0.99	3.51	72.7± 0.74	0.14	92.5
20 сутка	122.9± 1.41	126.8±1.0	3.80	126.6± 1.02	3.61	149.4
30 сутки	325.1± 4.1	345.9**± 3.67	20.81	355.4*± 1.11	30.31	307.4
45 сутки	552.2± 10.7	591.11 *± 12.9	38.89	635.0*** ± 4.24	82.87	559.5

* p ≤ 0,05, ** p ≤ 0,01

При индивидуальном взвешивании цыплят опытных и контрольной групп в возрасте 10-ти суток статистически значимой разницы в живой массе не установлено. В 20-ти дневном возрасте в опытной группе 1 живая масса увеличилась на 11,1% ($p \leq 0,05$), а в опытной группе 2 на 3,0 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с контролем. В 30-ти дневном возрасте в опытных 1-ой и 2-ой группах живая масса была выше на 9,3% ($p \leq 0,01$) и 7,5% ($p \leq 0,05$), а в 45 дней – на 15,1% и 13,9% ($p \leq 0,05$) соответственно по сравнению с контролем.

При ежедневном осмотре цыплят учитывали скорость отрастания четвертых маховых перьев первого порядка и хвостовых перьев. Установили, что длина махового пера первого порядка у курочек опытных групп в 10-ти дневном возрасте превосходила длину пера первого порядка цыплят контрольной группы в первой опытной группе на 63,6% ($p \leq 0,001$), во второй – на 31,8% ($p \leq 0,001$). На 20 суток этот показатель был выше контроля в первой группе на 16,9% ($p \leq 0,01$), во второй – на 13,6% ($p \leq 0,01$), на 30 суток на 15,9% и 14,1% ($p \leq 0,01$) соответственно. Полученные результаты свидетельствуют о благоприятном влиянии микродисперсной формы пробиотика Лактобифадол на организм цыплят, что подтверждается коэффициентом оперяемости (табл.4).

Таблица 4 - Коэффициент оперяемости цыплят контрольной и опытной групп, %

Показатели	Контроль	Опытная 1	Опытная 2
10 суток (n=30)	1,59	2,62	2,12
20 суток (n=23)	7,25	8,73	8,48
30 суток (n=16)	27,63	34,83	34,39

Коэффициент оперяемости у птиц опытных групп был выше контрольной в 10 суток на 1,03 и 0,53%, в 20 суток – на 1,23 и 1,48%, в 30 суток – на 7,20 и 6,76%.

При анализе развития внутренних органов в 45 суток установлено, что масса сердца в опытной группе 1 больше на 11,1 %, в опытной группе 2 на 13,9% по сравнению с контрольной. Масса печени у цыплят опытных групп 1 и 2 больше на 8,8% и 5,8%, масса селезенки на 44,1% и 40,0% соответственно. Масса мышечного и железистого желудков больше контроля на 0,6% и 4,2% и 4,1% и 9,1% соответственно. Длина кишечника больше у цыплят опытных групп на 3,4% и 8,9% соответственно. Масса лимфондных органов больше также в опытных группах (масса фабрициевой сумки на 27,1% и 27,9% , а масса тимуса на 8,4% и 8,8% соответственно). Положительное морфокинетическое действие микродисперстной формы пробиотика Лактобифадол статистически значимо, не отличалось при применении в рекомендуемой и 100-кратной дозах.

Показатели биохимических исследований сыворотки крови у цыплят опытных и контрольной групп по кальцию, фосфору, общему белку, альбумину, глюкозе, креатинину, мочеvine, общему билирубину соответствовали физиологической норме, статистически значимой разницы по сравнению с контролем не установлено (табл. 5). На 45 сутки у цыплят контрольной группы отмечен более высокий уровень ЩФ ($p \leq 0,01$) на 54% и 57,9% по отношению к опытной группе 1 и 2. Выявленная закономерность, по-видимому, связана с тем, что лакто- и бифидофлора, нормализует рециркуляцию желчных кислот, уменьшая их потери с фекалиями, снижая нагрузку на печень по их синтезу. Изучение морфологии внутренних органов контрольной и опытных групп, получавших Лактобифадола в 1 и 100 дозах, патологии не выявили.

Таблица 5 - Биохимические показатели крови цыплят в 45 суток (M±m), (n=9)

Показатель	Контроль	1 опытная	2 опытная
Альбумин, г/л	33.1± 0.21	32.3 ± 0.16	33.0 ± 0.36
Билирубин общий, мкмоль/л	1.48 ± 0.04	1.42 ± 0.12	1.58 ± 0.02
Общий белок, г/л	49.3± 1.42	49.5± 0.90	50 ± 1.29
Креатинин, мкмоль/л	0.25 ± 0.02	0.26± 0.01	0.24 ± 0.06
Мочевина, мкмоль/л	2.72 ± 0.09	2.98± 0.10	2.93 ± 0.13
Глюкоза, ммоль/л	5.43 ± 0.31	6.11 ± 0.19	5.84 ± 0.22
Щелочная фосфатаза, УЛ	3144.00 ± 452.00	1414± 59.4 **	1324± 44.6 **
Фосфор, ммоль/л	1.63± 0.20	1.64 ± 0.19	1.46 ± 0.18
Кальций, ммоль/л	5.31± 0.18	5.31 ± 0.21	5.32 ± 0.24

• $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$

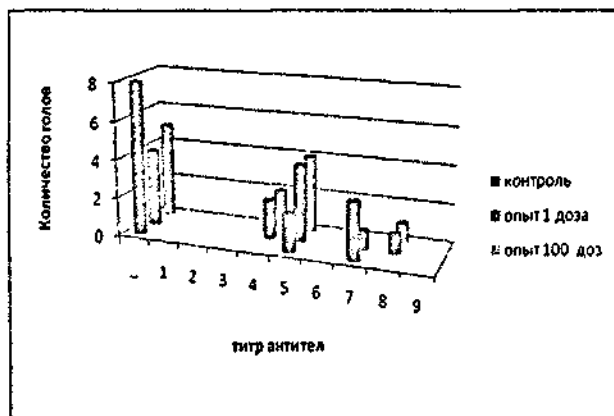


Рисунок 4 - Титры антител к ньюкаслской болезни по \log_2

Уровень титров антител к ньюкаслской болезни по \log_2 в опытных группах был выше контрольной при большей однородности показателя, что свидетельствует о более напряженном иммунном ответе (рис.4).

3.5. Сочетанное применение пробиотика Лактобифадола и кокцидиопида «Байкокс» цыплятам кросса «Птичное».

Результаты эксперимента показали, что первые 10 дней цыплята всех групп хорошо развивались, разницы в живой массе не отмечено. К 20-ти дневному возрасту

наблюдали статистически значимое увеличение живой массы на 8,9% и 6,6% у цыплят 2-ой и 3-ей опытных групп, получавших как форму на отрубях, так и микродисперстный вариант пробиотика Лактобифадол с 1 суток. Через 2 дня после заражения у цыплят 1, 4 и 5 опытных групп, которые не получали пробиотик, было отмечено снижение аппетита, усиление жажды, вялость, адинамия, взъерошенность перьевого покрова. Помет несформированный, темно-бурого цвета с примесью крови и слизи, что соответствует клинической картине кокцидиоза. У цыплят 2 и 3 опытных групп клинические признаки заболевания проявились на сутки позже (через 3 дня после заражения) и были выражены в меньшей степени. Птицы хуже потребляли корм, были менее подвижны, помет несформированный, но без примеси крови. Таким образом, профилактическое применение как сорбированной на отрубях формы пробиотика Лактобифадол, так и микродисперсной формы уменьшает степень выраженности клинических признаков при экспериментальном кокцидиозе. Цыплята контрольной группы оставались клинически здоровыми.

Цыплята 1 опытной группы, получавшие при лечении только кокцидицид «Байкокс», в течение 2 суток после экспериментального заражения полностью отказывались от корма, воду потребляли в большем количестве, в помете содержалось много крови и слизи. На 3 сутки после начала лечения цыплята начали потреблять корм, стали активнее, помет без примеси крови.

Цыплята 2 и 3 опытных групп на фоне сочетанного применения Лактобифадола и «Байкокса» уже на следующие сутки после начала лечения стали потреблять корм и воду в соответствии с нормативом, помет сформирован, без примеси крови. Процесс восстановления у цыплят 4 и 5 опытных групп проходил медленнее по сравнению со 2 и 3 опытными группами, но быстрее, чем в 1 опытной группе. На 2 сутки цыплята 4 и 5 опытных групп начали потреблять корм в небольшом количестве, помет оформленный, без примеси крови. На 3 сутки цыплята стали активнее и потребляли корм согласно нормативам, рекомендуемым для кросса «Птичное».

В конце эксперимента цыплята, получавшие Лактобифадол с первых суток, имели живую массу на 18,6-23,5% больше по сравнению с цыплятами 1-ой опытной группы, не получавших пробиотик (табл.6).

Таблица 6 - Динамика живой массы цыплят после экспериментального заражения

Группа (n=10)	30 сутки	Δ	40 сутки	Δ	50 сутки	Δ
Контроль	289.0 ± 3.89	-	491.0 ± 4.18	-	609.0 ± 2.22	-

1 опытная	274.0 *± 4.67	-15.19	465.2 ***± 3.66	-25.92	500.5 ***± 8.18	-120.9
2 опытная	301.0 *± 1.30	12.01	502.6 *± 2.27	11.49	618.0 ± 1.51	9.27
3 опытная	297.0 ± 2.68	7.39	497.0 ± 2.09	6.53	613.1 ± 1.21	3.67
4 опытная	295.0 ± 2.86	5.12	492.33 ± 1.71	1.33	602.8 ± 3.37	-6.57
5 опытная	264.88 ± 2.65	-25.00	492.2 ± 2.79	1.20	593.6 ± 3.67	-15.77

* $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$

По окончании эксперимента уровень ферментов АСТ и АЛТ у цыплят 1-ой опытной группы был выше на 13,5% относительно контрольной группы и нормативу, а у цыплят всех групп на фоне пробиотика уровень ферментов соответствовал норме, что свидетельствует о его положительном влиянии на состояние печени. пробиотика как сорбированного на отрубях, так в микродисперсной форме.

Уровень ЩФ у цыплят 1 опытной группы был выше на 1,7 % относительно цыплят контрольной группы. У цыплят 2 и 3 опытных групп уровень ЩФ был ниже контрольной группы на 5,2% и 4,6 % соответственно. У цыплят 4 и 5 опытных групп уровень ЩФ был ниже на 4,5% и 0,24 % относительно контроля.

Уровень глюкозы был статистически значимо понижен (на 21,1%) у цыплят 1 опытной группы относительно контроля, что связано с длительной изнуряющей диареей, плохим усвоением корма, поражением паренхимы печени. Отмечена тенденция к увеличению уровня глюкозы во всех опытных группах, получавших пробиотик, (от 2,5% до 10,9%) относительно контроля. Уровень белка был выше во второй опытной группе относительно контрольной на 10,4% ($p \leq 0,05$). У цыплят 1 опытной группы снижение общего белка наблюдалось за счет нарушения всасывания белка и энтероколита. Уровень креатинина был ниже у цыплят всех опытных групп, получавших пробиотик, относительно контроля от 1,9% до 20,3%.

Во 2-ой – 5-ой группах уровень эритроцитов был выше относительно контрольной группы на 3,1-17,5 %, что говорит о положительном влиянии препарата на эритропоз. Уровень гемоглобина также был выше в тех же группах цыплят на 5,8-15,6% по отношению к контрольной группе. Уровень лейкоцитов был выше у цыплят первой экспериментальной группы на 14,8 % по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о воспалительном процессе.

Масса пищеварительных органов больше у цыплят, получавших Лактобифадол. Масса кишечника цыплят 2 опытной группы превышает на 6,8% массу кишечника цыплят контрольной группы, третьей опытной группы – на 8,6%, четвертой на 4,3%, пятой - на 5,1% соответственно при достоверности $p \leq 0,001$. Длина кишечника также отличалась у цыплят опытных и контрольных групп. У цыплят первой

опытной группы длина кишечника была меньше на 4,1% относительно контрольной группы при достоверности $p \leq 0,01$. Индекс массы кишечника в контрольной группе цыплят соответствует индексу массы 1 опытной группы. Относительная масса кишечника во всех остальных опытных группах больше контрольной на 0,34% во второй группе, на 0,52% - в третьей, на 0,3% - в четвертой, на 0,4% - в пятой при высоком уровне достоверности $p \leq 0,001$. Относительная масса фабрициевой сумки больше во всех опытных группах, получавших пробиотик ($p \leq 0,001$).

При гистологических исследованиях внутренних органов (печень, железистый и мышечный желудок, селезенка, фабрициева сумка, толстая кишка) наибольшие морфологические изменения отмечены в толстом кишечнике (табл. 7).

Таблица 7 - Морфологические изменения толстой кишки птиц при экспериментальном кокцидиозе

Морфологический признак	Группа цыплят					
	к	1	2	3	4	5
отёк слизистой оболочки	—	+++	±	±	+	++
полнокровие кровеносных сосудов слизистой оболочки	—	+++	+	+	++	+++
кровяизлияние в слизистую оболочку:						
петехиальные	—	+	±	±	+	++
очаговые	—	++	—	-	±	+
массивные	—	+++	—	-	—	—
фибриновые тромбы в микроциркуляторном русле слизистой оболочки	—	+	—	±	±	+
десквамация эпителия слизистой оболочки:						
мелкоочаговая	—	+	±	±	+	++
очаговая	—	++	—	±	±	+
массивная, со скоплением слущенного эпителия в просвете кишки	—	+++	—	-	—	—
острые язвы	—	++	—	-	—	—
кровь в просвете кишки	—	+++	—	-	—	±
полнокровие кровеносных сосудов серозной оболочки	—	+++	±	±	+	++
кровяизлияние в серозную оболочку	—	++	—	-	±	+
петехиальные	—	+	—	-	±	+
очаговые	—	++	—	-	±	+
массивные	—	+++	—	-	—	—

+ - выраженный признак, - отсутствие признака

В толстой кишке птиц опытных групп наблюдается картина острого катарально-либо фибринозного колита с различной величины очагами десквамации эпителия слизистой оболочки, отека и полнокровия собственной пластинки слизистой и серозной оболочек с очаговым тромбозом (фибриновые тромбы) микроциркуляторного русла. Во 2-ой и 3-ей группах признаки колита были выражены слабее.

3.6. Производственная проверка использования микродисперсной формы пробиотика Лактобифадол (Константиновская птицефабрика) на цыплятах-

бройлерах кросса «Кобб-500». Установлено, что микродисперсная форма не вызывает засора nippleных поилок, коррозии металла, технологична. Применение пробиотика оказало положительное влияние на сохранность птицы (на 3,8%), выход съедобных частей (на 7%), однородность тушек (на 2,07%), средняя масса тушки в опытном птичнике составила – 2052 г, в контрольном - 2071 г при диапазоне колебаний живой массы, в опытной группе - 1744,2-2359,8 г, в контрольной группе - 1760,4-2381,7 г (табл. 8,9). Конверсия корма была меньше в опытной группе (1,87кг), чем в контрольной (1,93кг).

Таблица 8 - Основные зоотехнические показатели по результатам откорма бройлеров

Показатели	Контроль-ная	Опытная	% к контрольной группе
Начальное поголовье, голов	32400	32400	-
Конечное поголовье	29447	30678	+ 4,2
Сохранение, %	90,9	94,7	+ 3,8
Среднесуточный прирост живой массы, г/гол.	53,7	53,5	- 0,4
Средняя живая масса одной головы, г	2071	2052	- 0,9
Живая масса всего поголовья, сданного на убой, кг	60994,4	62954,6	+ 3,2
Собестоимость по птичнику одной головы, руб.	45,1	45,5	+ 0,9
Расход корма в птичнике за период откорма, кг	115280	115610	+ 0,3
Расходы на корма, руб.	1658077,6	1663539,1	+ 0,3
Конверсия корма, кг/кг	1,93	1,87	- 3,1
ЕРЕФ на 1 кг живой массы	262	278	- 6,1
Прибыль на 1000 голов, руб.	35294,2	38704,2	+ 9,7

Данные по съедобным и несъедобным составляющим статистически достоверны ($p \leq 0,05$), следовательно, пробиотик оказывает положительное влияние на мясную продуктивность птицы (табл. 9).

Таблица 9 - Результаты выращивания цыплят-бройлеров кросса «Кобб-500»

Показатели	Опытная	Контрольная
Живая масса, г	2052±23.5	2071±31.9
Убойная масса, г	1958.9±6.9	1978.9±7.2
Масса мышц, г	490.5	458.3
Масса костей, г	553.3	560.2
Масса съедобных частей, г	722,1	678,6
Соотношение съедобных частей к несъедобным	1,3	1,2

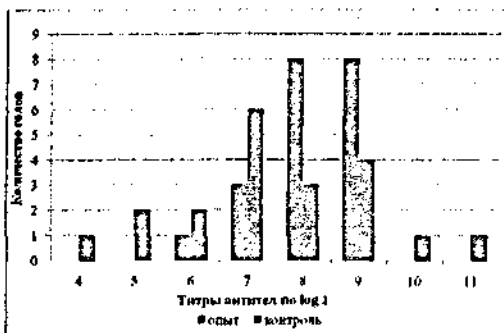


Рисунок 5 - Уровень титров антител к ньюкаслской болезни в опытной и контрольной группах (log 2).

Биохимические показатели статистически значимо не отличались в опытной и контрольной группе, уровень титров антител к ньюкаслской болезни более однороден у цыплят опытной группы, что говорит о более стойком иммунном ответе

Предотвращенный экономический ущерб в опытном птичнике - 35718,47 руб. Экономическая эффективность от применения микродисперстной формы Лактобифадола составляет 60256,52 руб., дополнительная прибыль на 1000 голов в опытном птичнике 3410,0 руб. и превышает дополнительные затраты в 151,6 раз.

3.7 Производственные испытания микродисперстной формы пробиотика Лактобифадол на курах «Хайсекс коричневый». Результаты, полученные при внедрении Лактобифадола в производственных условиях Майдаровской птицефабрики на кроссе «Хайсекс коричневый» в возрасте 22 недели представлены в таблице 10. Дополнительная прибыль на 1000 голов в опытном птичнике составила 7928,37руб. по отношению к контрольному при стоимости препарата 69,9 руб. на весь курс.

Таблица 10 – Фармакоэкономический эффект применения микродисперсной формы пробиотика Лактобифадол курам-несушкам

Показатель	Птичник	
	15 корпус опытный	16 корпус контрольный
Кол-во голов на начало эксперимента	40620	39900
Кол-во голов в конце эксперимента	39320	37785
Сохранность за период эксперимента, %	96,8	94,7
Валовое производство яиц за период эксперимента, шт.	6754930	6323559
Кол-во яиц на среднюю несушку за период эксперимента, шт.	169	162,8
Стоимость препарата, руб.	250	-
Прибыль от реализации 1000 яиц, руб.	1051,3	1043,2

3.8. Сочетанное применение пробиотика Лактобифадол с левомицетином при лечении сальмонеллеза у волнистых попугаев. Результаты исследований показали, что у попугаев контрольной группы после применения левомицетина с целью лечения сальмонеллеза было отмечено улучшение общего состояния. На 5 сутки у 7 попугайчиков из 15 была отмечена «лакированность перьев» в области клоаки, несколько снижены аппетит и двигательная активность. На 15 сутки 2 попугая пали

(13% от птиц контрольной группы). При микробиологическом исследовании фекалий сальмонелл и патогенных эшерихий обнаружено не было, количество лактобактерий составляло 4 lg/g, бифидобактерий – 2 lg/g, что можно характеризовать как дисбактериоз. Состояние остальных 13 попугаев было удовлетворительным. В опытной группе в результате использования метода селективной деконтаминации (антибиотик на фоне пробиотика) на 5-е сутки аппетит у всех птиц отмечали хороший аппетит и нормальную двигательную активность. Падеж отсутствовал.

Выводы:

1. При изучении острой токсичности микродисперсной формы пробиотика Лактобифадол на белых мышах и цыплятах в дозах, превышающих рекомендуемые в 1000 раз, не отмечено изменений клинического состояния, токсического воздействия, летальности. Препарат относится к группе нетоксичных и малотоксичных соединений.
2. Длительное применение различных доз микродисперсной формы пробиотика Лактобифадол положительно влияет на крыс в период роста. На 30 сутки эксперимента крысы, получавшие рекомендуемую дозу пробиотика, превосходили по живой массе животных контрольной группы на 4,3%; 500-кратную и 1000-кратную - на 5% и 10,5% соответственно при 100%-ной сохранности во всех группах, токсических признаков не выявлено, что подтверждено гематологическими и биохимическими исследованиями. Применение различных доз Лактобифадола не влияет на формирование пространственной процедурной памяти, не вызывает седации и аномальных поведенческих реакций.
3. Использование микродисперсной формы пробиотика Лактобифадол положительно влияет на физиолого-биохимический статус цыплят. При непрерывном использовании с 1-ых по 45-ые сутки выращивания, на фоне рекомендуемой и 100-кратной дозы, живая масса цыплят увеличилась по сравнению с контролем соответственно на 9,3% и 7,5% ($p \leq 0,01$ и $p \leq 0,05$), в 45 дней - на 15,1% и 13,9% ($p \leq 0,05$) при 100% сохранности и отсутствии нарушений клинического состояния. Биохимические показатели сыворотки крови цыплят соответствовали физиологической норме. Напряженность иммунитета по результатам определения поствакцинальных титров антител к Ньюкаслской болезни были выше и однороднее у цыплят опытных групп.
4. Микродисперсная форма пробиотика Лактобифадол оказывает положительное морфокинетиическое действие. Коэффициент опережаемости у цыплят, получавших

рекомендуемую и 100-кратную дозу препарата с суточного возраста непрерывным курсом, выше контроля в 20-ти дневном возрасте на 1,23 и 1,48%, на в 30-ти дневном возрасте - 7,20 и 6,76% соответственно. У цыплят яичного направления продуктивности в конце эксперимента (45 дней) масса мышечного и железистого желудка больше контроля на 0,6-9,1%, длина кишечника на 3,4-8,9%. Отмечено лучшее развитие лимфоидных органов у цыплят опытных групп: масса фабрициевой сумки больше у цыплят опытных групп на 27,1-27,9%, а масса тимуса на 8,4-8,8%.

5. Профилактический и клинический эффект микродисперсной и сорбированной на отрубях формах пробиотика Лактобифадол эквивалентен при экспериментальном кокцидиозе у цыплят. Снижаются тяжесть клинического проявления заболевания, что подтверждено меньшей выраженностью картины острого катарального либо фибринозного колита, величины очагов десквамации эпителия слизистой оболочки, отека и полнокровия собственной пластинки слизистой и серозной оболочек с очаговым тромбозом (фибриновые тромбы) микроциркуляторного русла.

6. Применение пробиотика Лактобифадол в сочетании с кокцидиоцидом «Байкокк» с лечебной целью при экспериментальном кокцидиозе, положительно влияет на гомеостаз. Уровень эритроцитов был выше во всех группах цыплят, получавших пробиотик, относительно контрольной группы на 3,1-17,5%, уровень гемоглобина - на 5,8-15,6%. Уровень глюкозы на 21,1% был статистически значимо ниже у цыплят 1 опытной группы относительно контроля, что связано с более длительной изнуряющей диареей, плохим усвоением корма и поражением паренхимы печени, во всех относительных опытных группах имел характер тенденции к повышению относительно контроля на 2,5 – 10,9%. Уровень белка был выше во 2 опытной группе относительно контрольной на 10,4% ($p \leq 0,05$) за счет нарушения всасывания белка и энтероколита.

7. При испытании пробиотика Лактобифадол в производственных условиях на бройлерах повысилась сохранность птицы на 3,8%, выход съедобных частей на 7,0%, однородность тушек на 2,1%, снизилась конверсия корма на 3,1%. Дополнительная прибыль на 1000 голов составила 3410,0руб., что превышает дополнительные затраты на препарат в 151,6 раз.

8. Применение пробиотика в производственных условиях на курах-несушках способствовало повышению яйценоскости на 4% и получению дополнительной прибыли 7928,37руб на 1000 голов.

9. Применение Лактобифадола для лечения декоративной птицы в сочетании с антибиотиком Левомецитин оказало положительное влияние на общее состояние птицы, ускорило процесс выздоровления.

Сведения о практическом использовании результатов исследований.

Результаты исследований внедрены в производственные условия ЗАО Майдаровская птицефабрика и доведены до сведения специалистов птицеводческих хозяйств, используются в декоративном птицеводстве. Экспериментальные данные используют в учебном процессе при преподавании курса лекций по фармакологии и болезням птиц студентам факультета ветеринарной медицины.

Рекомендации по использованию научных выводов.

Рекомендовать птицефабрикам и птицеводческим фермам для повышения качества получаемой продукции, повышения сохранности цыплят яичного и мясного направлений продуктивности применение микродисперсной формы пробиотика Лактобифадол в дозе 16 млн. КОЕ бифидобактерий и 200 тыс. КОЕ лактобактерий на 1 кг живой массы.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Бессарабова, Е.В. «Пробиотик Лактобифадол при выращивании бройлеров»// Е.В. Бессарабова, Птицеводство, №12- 2009 г., стр.41-42
2. Бессарабова, Е.В. «Применение различных доз водорастворимой формы пробиотика Лактобифадол курам кросса «Птичное»//Е.В. Бессарабова, Н.В. Данилевская. Ветеринария и кормление, № 6-2009 г., стр. 96-97
3. Бессарабова, Е.В. «Опыт лечения декоративных птиц в условиях питомника»// Е.В. Бессарабова, Н.В. Данилевская. Российский ветеринарный журнал, №3-2009 г., стр. 11-13
4. Данилевская, Н.В. «Опыт комплексного лечения кишечных бактериальных инфекций у декоративных птиц в условиях зоопарков и питомников»// Н.В. Данилевская, Е.В. Бессарабова, Актуальные ветеринарные проблемы в зоопарках. Москва, 2009г., стр.43-48.
5. Данилевская, Н.В. «Применение пробиотика на финишном этапе откорма бройлеров» //Е.В. Бессарабова, Н.В. Данилевская. Материалы международной конференции, посвященной 80-летию Самарской НИВС Россельхозакадемии. Самара-2009.- С. 97 – 101..
6. Бессарабова, Е.В. «Опыт применения микродисперсной формы пробиотика Лактобифадол курам» //Е.В. Бессарабова, VI-ой Международный ветеринарный конгресс по птицеводству, Москва, 2010, стр. 158-163

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ:

АЛТ – аланинаминотрансфераза;
АСТ – аспаратаминотрансфераза;
ЩФ – щелочная фосфатаза;
КОЕ – колониобразующие единицы;

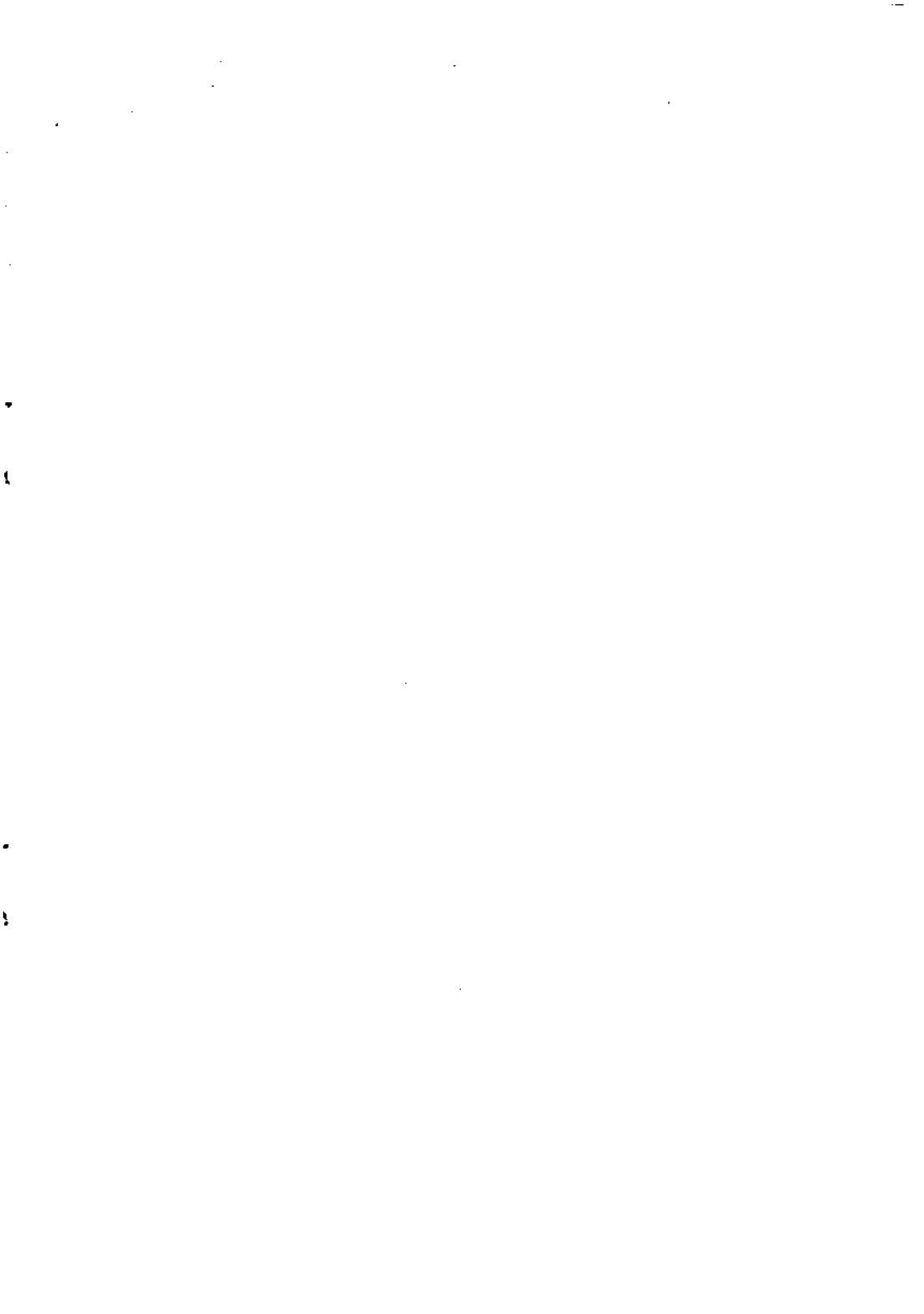
Отпечатано в ООО «Компания Спутник+»

ПД № 1-00007 от 25.09.2000 г.

Подписано в печать 13.01.2011

Тираж 100 экз. Усл. п.л. 1,5

Печать авторефератов (495)730-47-74, 778-45-60



2011A

B-16901690