

УДК 636.5-053.2:612.11/3

М. П. БАБИНА, И. М. КАРПУТЬ,

Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины

КОРРЕКЦИЯ ИММУННОГО СТАТУСА У ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ МИКРОБНЫМ ПОЛИСАХАРИДОМ

При современном ведении птицеводства все большее внимание уделяется созданию новых препаратов целенаправленного воздействия на иммунную систему организма и стимулирующих прирост массы организма.

Поэтому ведется активный поиск препаратов, способных оказывать эффективное иммунокорригирующее действие при различных заболеваниях. В многочисленных исследованиях последних лет приводятся данные о хорошем эффекте иммунокорректоров бактериального происхождения из цельных бактерий, лизатов их стенок (2, 4, 5). К недостаткам этих препаратов относятся различные токсические и пирогенные реакции, значительно ограничивающие их применение. В последние годы большое внимание уделяется изучению иммунной активности микробных полисахаридов. Это объясняется их низкой токсичностью и высокой фармакологической активностью по сравнению с корпускулярными препаратами и липополисахаридами. В связи с этим создание высокоэффективных, в то же время малотоксичных и дешевых иммуномодуляторов остается актуальной задачей современной клинической иммунологии.

Целью данной работы явилось разработать, изучить и внедрить в производство новый микробный полисахарид для коррекции иммунного статуса у цыплят-бройлеров и профилактики желудочно-кишечных заболеваний. Препарат представляет собой комплекс полисахаридов и пептидов, полученных из биомассы бактерий *Salmonella pullorum-gallinarum*.

Предварительно на мышах и цыплятах была изучена безвредность препарата: острая и хроническая токсичность и местнораздражающее действие.

Опыты по выяснению острой токсичности полисахарида проведены на 20 белых мышах массой 18–20 г и 16 цыплятах-бройлерах (40–42 г). Подопытные животные были разделены на две группы по 10 среди мышей и по 8 цыплят-бройлеров. Препарат вводили внутрь белым мышам с помощью шприца и обрезанной, отшлифованной инъекционной иглы, а птице дозатором. Доза полисахарида была максимально возможной для введения белым мышам 0,6 мл, цыплятам 2,0 мл. Контрольным группам задавали изотонический раствор натрия хлорида в объеме, соответствующем объему раствора, задаваемого мышам и цыплятам подопытных групп. За экспериментальными животными и птицей вели постоянное клиническое наблюдение в течение 14 дней. При этом учитывалось общее состояние, внешний вид и поведение, отношение к пище и воде, подвижность, ритм и частота дыхания и сердцебиения, выживаемость.

Установлено, что введение полисахарида белым мышам не влияло существенно на общее состояние. После введения препарата отмечалось кратковременное (в течение двух часов) и слабовыраженное угнетение, понижение подвижности и вялость, а также учащение дыхания и сердцебиения, связанное с введением большого объема препарата в желудок. В остальное время общее состояние всех мышей оставалось удовлетворительным, аппетит выраженным. Они были подвижны, рефлексы сохранены. Введение контрольным белым мышам такого же объема изотонического раствора вызвало аналогичные изменения. В опытах на цыплятах-бройлерах также не отмечено токсического влияния полисахарида. Показатели пульса, температуры, дыхания на протяжении всего срока наблюдения оставались в пределах физиологической нормы. Изменений веса, общего состояния и поведения у них не регистрировали.

Таким образом, полисахарид обладает слабой острой токсичностью для животных и птицы (согласно классификации химических веществ при однократном оральном пути вве-

дения препарат относится к малотоксичным, так как величина ЛД₅₀ при введении через рот больше 1000 мг/кг и составила для мышей 30000 мг/кг, а для цыплят 50000 мг/кг.

Эксперименты по изучению хронической токсичности проведены на 9-дневных цыплятах-бройлерах, разделенных на шесть равных групп по 5 в каждой. Цыплята первой группы получали полисахарид в дозе 0,04 мл, второй — 0,2 мл, третьей — 0,4 мл, четвертой — 0,8 мл, пятой — 2,0 мл и шестая группа служила контролем. Подопытным цыплятам-бройлерам препарат принудительно вводили внутрь ежедневно в течение 10 дней, контрольные препараты не получали, а им выпаивалась вода в таком же объеме. Перед началом опыта цыплят взвесили, определили клинический статус. В последующем за птицей вели наблюдение в течение 20 дней, обращая внимание на общее состояние, аппетит, поведение, функциональное состояние систем и органов, некоторые показатели крови и вес. Взятие крови производили в начале, середине и в конце опыта. В крови по общепринятым методам определяли содержание гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, общего белка и белковые фракции. По истечении сроков наблюдения часть подопытных цыплят убивали с целью изучения патологоанатомических и гистологических изменений в органах. На основании полученных данных судили о токсичности препарата.

Установлено, что многократное применение полисахарида не оказывает вредного влияния на цыплят. На всем протяжении опыта общее состояние цыплят было удовлетворительным, аппетит сохранялся. Клинически выраженных нарушений функций жизненно важных органов и систем организма не отмечалось. Живая масса цыплят как в подопытных, так и в контрольной группах по мере продолжения эксперимента постепенно увеличивалась. Причем цыплята в подопытных группах давали достоверно больший прирост живой массы, чем в контрольной. Применение препарата в дозе 0,04 мл существенно не отражалось на живой массе цыплят. Назначение полисахарида в дозе 0,2 мл в начале опыта оказывало стимулирующее действие на живую массу цыплят, наиболее выраженное на 12-й день опыта, потом живая масса снижалась. Назначение полисахарида в дозе 0,4 мл на цыпленка вызывало наиболее интенсивное увеличение массы на всем протяжении опыта (табл. 1). Наиболее высокая живая масса наблюдалась на 12-й день опыта, она составила 376,0±4,04. Применение препарата в дозе 0,8 мл на цыпленка и 2,0 мл в первые 12 дней опыта вызывало достоверное увеличение их массы, а в последующем происходило снижение. Наиболее выраженное увеличение наблюдалось на 12-й день опыта. Масса опытных цыплят при назначении дозы 0,8 мл составила 357±7,96 г и при дозе 2,0 — 318,7±8,11 г, в то время как в контроле 290,6±4,81 г. К 20-му дню исследований происходило снижение живой массы опытных цыплят начиная с дозы 0,8 мл. Микробный полисахарид не вызывал видимых клинических признаков интоксикации. Общее состояние птицы было удовлетворительным.

Следовательно, применение полисахарида в дозе 0,4–0,8 мл оказывает на протяжении всего периода опыта наиболее выраженное стимулирующее действие на прирост массы цыплят.

Результаты морфологического исследования крови показывают, что под влиянием полисахарида закономерно увеличивалось количество эритроцитов с самого начала опыта, а потом и лейкоцитов. Наиболее выраженное увеличение эритроцитов происходило у цыплят, получавших полисахарид в дозе 0,8 и 2,0 мл, а лейкоцитов в дозе 0,4 и 0,8 мл. Содержание гемоглобина вначале существенно не изменялось,

а потом увеличивалось у цыплят, получавших полисахарид в дозе 0,4—0,8 мл (табл. 2). Величина этих показателей была в пределах физиологической нормы.

При изучении белкового состава сыворотки крови опытных цыплят, получавших микробный полисахарид в различных дозах и при многократном назначении, имелась тенденция увеличения общего белка в начале опыта при применении дозы 2,0 мл, а в последующем наиболее высокое содержание общего белка наблюдалось у цыплят, которым задавали дозу 0,4 мл. Увеличение общего белка происходило за счет постальбуминов, трансферринов, α_2 -макроглобулина и иммуноглобулинов преимущественно класса G. Так, при дозе 0,4 мл они составляли 3,4+0,10 г/л, в дозе 0,8 — 4,0+0,12 г/л, в контроле — 2,5+0,20 г/л.

Спустя 20 дней после окончания 10-дневного курса применения препарата убили по 50% цыплят из каждой группы. При патологоанатомическом исследовании органов цыплят (легкие, сердце, печень, желудок, кишечник, почки) видимых изменений не установили. При гистологическом исследовании из этих же органов структурных изменений не обнаружено.

Таким образом, проведенные исследования хронической токсичности показывают, что полисахарид в вышеуказанных дозах не оказывает отрицательного действия на прирост массы цыплят-бройлеров, гематологические и биохимические изменения в сыворотке крови. В то же время доза 0,4—0,8 мл при многократном назначении оказывает стимулирующее действие на рост цыплят, гемопоэз и увеличение в сыворотке крови общего белка, трансферринов и иммуноглобулинов класса G.

Опыты по изучению местнораздражающего действия

Таблица 1

Влияние полисахарида на живую массу цыплят при многократном назначении ($M \pm m$, P)

Группы	Дни исследования				
	1-й	4-й	8-й	12-й	20-й
1	87,5±2,63	107,3±4,70	182,5±2,24	278,8±3,28	625,7±4,53
2	89,4±2,71	112,5±3,55	187,7±4,48	315,7±2,96*	630,0±5,29
3	87,8±4,63	115,7±4,49	215,0±2,65**	376,0±4,04***	634,3±4,67
4	87,2±4,57	123,7±2,52*	216,0±3,21	357,7±7,96**	591,0±11,59*
5	85,9±4,73	137,8±1,59***	224,3±2,60***	318,7±8,11*	570,3±5,36**
контроль	87,6±2,47	108,0±1,73	182,3±2,96	290,0±4,81	638,3±4,91

Примечание: * — уровень значимости критерия достоверности $P < 0,05$;

** — $P < 0,01$;

*** — $P < 0,001$ (к контролю).

Таблица 2

Гематологические показатели крови цыплят в зависимости от дозы применения полисахарида ($M \pm m$, P)

Группы	Эритроциты, $10^{12}/л$	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, $10^9/л$
В начале опыта			
	2,25±0,002	86,7±1,28	23,2±0,32
В середине опыта			
1	2,44±0,083	81,3±1,38	24,8±0,33**
2	2,55±0,046*	81,8±1,76	27,5±1,04
3	2,25±0,049	83,1±1,91	23,5±0,58**
4	2,48±0,042*	78,7±1,16*	27,5±0,87
5	2,48±0,039*	78,7±1,33*	32,5±0,58
Контроль	2,37±0,022	83,5±1,07	30,0±1,00
В конце опыта			
1	2,58±0,069	92,4±1,09	27,5±0,58
2	2,48±0,020*	88,8±1,79	32,5±2,02*
3	2,28±0,061	93,1±2,96	30,0±1,16*
4	2,62±0,028*	97,4±1,59	30,5±1,16*
5	2,74±0,030*	88,3±2,58	30,0±1,43*
Контроль	2,23±0,026	91,0±1,94	26,8±0,60

Примечание: * — уровень значимости критерия достоверности $P < 0,05$;

** — $P < 0,001$ (к контролю).

проведены на цыплятах, которым перорально вводили полисахарид в дозах от 0,5 мл до 6 мл. Эти опыты показали, что препарат не влияет на макро- и микроскопические изменения в слизистой оболочке ротовой полости, пищевода, зоба, желудка и кишечника.

Для изучения иммуномодулирующего действия полисахарида экспериментальные исследования проведены в условиях клиники кафедры терапии на 120 цыплятах и производственный опыт на 1100 цыплятах на Витебской бройлерной птицефабрике.

Экспериментальные цыплята по принципу аналогов были разделены на три подопытные группы. Цыплятам первой группы препарат задавали с водой первый раз в 9-дневном возрасте в дозе 0,5 мл, второй раз в 20-дневном возрасте в дозе 1,0 мл. Вторую группу обрабатывали аэрозольно в эти же сроки с учетом жизненной емкости легких. Сроки обработки определены с учетом иммунологической перестройки организма цыплят. Третья группа цыплят служила контролем. В период проведения экспериментальных и производственных опытов за всеми цыплятами велось клиническое наблюдение, определялся гематологический и иммунобиохимический статус, состояние микробиотенноза кишечника, учитывалась заболеваемость и отход молодняка. По завершении опытов после убоя цыплят определялась категориальность продукции и проводилось бактериологическое исследование на обсемененность сальмонеллами.

Ранее нами установлено (1, 3), что в постовариальном онтогенезе у цыплят-бройлеров выделяются три возрастных иммунных дефицита на 3—5, 12—28-й день и к концу второго месяца жизни. Наиболее выраженный возрастной иммунодефицит наблюдается на третьей неделе жизни. Для него характерно снижение в сыворотке крови иммуноглобулинов, особенно классов M, потом G и в меньшей степени A. На первых порах гуморальная иммунная недостаточность компенсируется усилением клеточных факторов защиты, что проявляется увеличением в крови количества лейкоцитов,

Таблица 3

Клеточные и гуморальные факторы защиты цыплят, получавших микробный полисахарид ($M \pm m$)

Показатели	Гр	Начало опыта	Дни жизни			
			20-й	28-й	36-й	52-й
Лейкоциты, $10^9/л$	1	30,6±5,51	30,0±1,18	25,4±0,99	33,6±0,56	36,7±0,68
	2	30,6±5,51	26,9±0,51	28,0±2,71	32,2±0,78	33,1±2,05
	3	30,6±5,51	23,8±1,40	23,3±2,72	31,1±0,98	30,0±2,25
Лимфоциты, $10^9/л$	1	16,1±1,13	22,1±0,26	15,3±0,78	19,9±0,83	21,4±2,50
	2	16,1±1,13	16,8±1,36	17,4±1,56	18,5±0,85	17,8±1,80
	3	16,1±1,13	15,6±0,96	13,5±2,43	16,9±0,67	17,7±1,44
Т-лимфоциты, $10^9/л$	1	10,4±1,30	13,4±0,18	8,5±0,42	11,5±0,57	12,1±1,43
	2	10,4±1,30	9,8±0,89	9,6±0,95	10,7±0,71	10,2±0,54
	3	10,4±1,30	8,2±0,64	8,3±2,27	10,5±0,75	10,5±1,17
В-лимфоциты, $10^9/л$	1	5,0±0,51	6,9±0,06	5,7±0,47	6,9±0,49	7,8±0,96
	2	5,0±0,51	5,6±0,49	6,5±0,65	6,5±0,67	6,2±0,54
	3	5,0±0,51	6,1±0,37	4,2±0,88	5,2±0,78	5,6±0,75
Фагоцитарная активность, %	1	69,3±0,54	65,3±1,44	51,0±1,77	61,0±1,01	66,0±1,49
	2	69,3±0,54	63,5±1,92	54,5±2,77	57,3±1,07	60,7±2,88
	3	69,3±0,54	55,5±2,90	45,3±3,57	53,0±2,05	58,7±2,68
Иммуноглобулины, г/л	1	5,8±0,10	5,8±0,18	7,7±0,28	9,3±0,12	8,7±0,05
	2	5,8±0,10	6,3±0,33	6,8±0,15	8,0±0,37	8,3±0,40
	3	5,8±0,10	5,5±0,62	6,8±0,23	7,8±0,35	8,3±0,45
Ig A, г/л	1	2,0±0,02	1,9±0,03	2,2±0,09	3,0±0,02	2,9±0,06
	2	2,0±0,02	2,0±0,03	2,0±0,06	2,5±0,06	2,7±0,07
	3	2,0±0,02	1,8±0,03	1,8±0,07	2,2±0,07	2,6±0,09
Ig G, г/л	1	2,6±0,10	3,0±0,15	4,1±0,23	5,0±0,11	4,8±0,08
	2	2,6±0,10	3,1±0,25	3,7±0,19	4,0±0,05	4,3±0,32
	3	2,6±0,10	2,9±0,41	3,5±0,17	3,9±0,16	4,0±0,10
Ig M, г/л	1	1,1±0,02	0,9±0,08	1,4±0,03	1,3±0,06	1,2±0,04
	2	1,1±0,02	1,2±0,07	1,1±0,09	1,5±0,05	1,3±0,06
	3	1,1±0,02	0,8±0,02	1,5±0,06	1,7±0,20	1,7±0,26

Примечание:

- 1 — цыплята, получавшие полисахарид энтерально;
- 2 — цыплята, обработанные аэрозольно;
- 3 — цыплята контрольной группы.

тимусных лимфоцитов и фагоцитарной активности псевдоэозинофилов. На 21-й день жизни цыплят на низком уровне остаются гуморальные и происходит снижение клеточных факторов защиты.

В эти периоды возрастает заболеваемость молодняка гастроэнтеритами, респираторными болезнями и гиповитаминозами.

С учетом этих периодов и проводилась обработка цыплят микробным полисахаридом.

При изучении эффективности применения нового микробного полисахарида для профилактики иммунной недостаточности и возникающих на ее фоне гастроэнтеритов у цыплят выявлено, что наиболее выраженный и длительный иммуностимулирующий эффект оказывает данный препарат при пероральном способе применения в вышеуказанных дозах. У подопытных цыплят достоверно увеличивалось количество лейкоцитов ($30,0 \pm 1,18 \times 10^9/\text{л}$, в контроле — $23,8 \pm 1,40 \times 10^9/\text{л}$) первоначально за счет Т-, а потом В-лимфоцитов, усиливалась фагоцитарная активность псевдоэозинофилов ($65,3 \pm 1,44\%$ против $55,5 \pm 3,90\%$), возрастала бактерицидная и лизоцимная активность сыворотки крови, а также происходило увеличение уровня иммуноглобулинов до $7,7 \pm 0,28$ г/л за счет классов А и G против $6,8 \pm 0,23$ г/л в контроле. Достоверные различия по большинству иммунологических показателей наблюдались через семь дней после обработки птицы и сохранялись в течение двух недель (табл. 3). В содержимом кишечника стабильными оставались содержание бифидо- и лактобактерий. У подопытных цыплят не регистрировались желудочно-кишечные заболевания и гиповитаминозы группы В.

При аэрозольном способе наблюдаются сходные результаты, некоторые из них возникают раньше, но слабее выражены. Так, на седьмой день после обработки количество лейкоцитов при аэрозольном способе было $26,9 \pm 0,54 \times 10^9/\text{л}$, при энтеральном — $30,0 \pm 1,18 \times 10^9/\text{л}$, лимфоцитов соответственно — $16,8 \pm 1,36 \times 10^9/\text{л}$ и $22,1 \pm 0,26 \times 10^9/\text{л}$, фагоцитарная активность псевдоэозинофилов — $63,5 \pm 1,92\%$ и $65,3 \pm 1,44\%$. Лизоцимная, бактерицидная активность сыворотки крови и содержание иммуноглобулинов существенно не отличалось.

Исследования, проведенные в условиях производства, показывают, что микробный полисахарид способствует повышению естественной резистентности и иммунной реактивности, стимулирует рост и развитие цыплят, предотвращает развитие гастроэнтеритов и гиповитаминозов группы В. Так, сохранность цыплят в подопытной группе составила $97,65\%$,

в контроле — $86,47\%$. Выход продукции I категории соответственно — $77,45\%$ и $61,26\%$, II категории — $18,82\%$ и $20,23\%$, санубой — $1,62\%$ и $4,48\%$. При бактериологическом исследовании тушек обсемененности сальмонеллами в подопытной и контрольной группе не выявлено.

Заключение

Микробный полисахарид, изготовленный из биомассы пуллорных бактерий *Salmonellum pullorum-gallinarum*, безвреден, не оказывает побочного действия при применении на лабораторных животных и цыплятах.

Препарат обладает иммуномодулирующим действием, затрагивающим различные звенья иммунной системы. Под влиянием препарата у подопытных животных увеличивается количество лейкоцитов за счет лимфоцитов тимусного и костномозгового происхождения, усиливается фагоцитарная активность микрофагов, возрастает бактерицидная и лизоцимная активность сыворотки крови, происходит увеличение в ней уровня иммуноглобулинов, преимущественно за счет классов А и G.

Назначение нового микробного полисахарида перорально с водой позволяет корректировать иммунный статус в возрастных критических периоды и профилактировать развитие гастроэнтеритов и гиповитаминозов, а также увеличивает прирост массы и выход продукции первой категории.

Литература

1. Бабина М.П. Критические иммунологические периоды в жизни цыплят-бройлеров // Неинфекционная патология тварин / Материалы науково-практичної конференції м. Біла Церква, 7-8 червня 1995 р. Частина 1. — с.26–27.
2. Земсков В.М., Барсуков А.А., Безносенко С.А. и др. Исследование иммуностимулирующих свойств сальмозана // Иммунология, 1989. — № 5. — с.29–32.
3. Карпуть И.М., Бабина М.П. Постовариальная иммунология цыплят-бройлеров и ее коррекция пробиотиком бактрилом // Весці Акадэміі аграрных навук Беларусі — 1998. — №1. — с.65–68.
4. Лазарева Д.И., Алехин Е.К. Стимуляторы иммунитета. — М.: Медицина, 1985. — 256 с.
5. Санин А.В., Краснянская Т.А., Мысякин Е.Б. и др. Стимуляция регенерации гемопоэза и изменения в кровяной системе мышей под действием бактериального полисахарида — сальмозана // Иммунология, 1988. — №1 — с.54–56.

ГУСАКОВ В.К., КУДРЯВЦЕВА Е.Н., САМСОНОВИЧ В.А.,
Витебская государственная академия ветеринарной медицины

СОДЕРЖАНИЕ КАЛЬЦИЯ, НЕОРГАНИЧЕСКОГО ФОСФОРА И ПРОЧНОСТЬ КОСТНОЙ ТКАНИ У КУР

Минеральные вещества играют важную и чрезвычайно разнообразную роль в организме животных. Знание закономерностей обмена макроэлементов, раскрытие их биологической роли открывает перспективу более направленного воздействия на обмен веществ, а следовательно, на продуктивность сельскохозяйственных животных и качество продукции, позволяет обеспечивать профилактику заболеваний, связанных с нарушением минерального обмена.

Целью данной работы явилось изучение содержания кальция и неорганического фосфора в сыворотке крови и большеберцовой кости кур различных возрастных групп и определение механических характеристик костной ткани.

Работа проведена в лаборатории кафедры физиологии Витебской государственной академии ветеринарной медицины и на городокской птицефабрике Витебской области. Исследования выполнены на курах-несушках кросса «Беларусь-9». Куры получали полноценные корма, в качестве под-

кормки использовали ракушку.

Для опыта были отобраны цыплята следующего возраста: суточные, 15-, 35-, 48-, 57-, 87-дневные и куры 160- и 330-дневного возраста. Материалом для исследования служила сыворотка крови и большеберцовые кости, взятые после убоя птиц. Перед исследованием с кости удаляли мягкие ткани, включая надкостницу.

Содержание кальция и неорганического фосфора в костях определялось в соответствии с методическими указаниями по зоотехническому анализу кормов, разработанными на кафедре кормления сельскохозяйственных животных ВГАВМ (1997 г.). Большеберцовые кости измельчали, сжигали в муфельной печи и из золы готовили раствор, в котором после отстаивания определяли содержание кальция и неорганического фосфора с помощью наборов «КлиниТест-Са» и «КлиниТест-НФ» (1999 г.). Полученные результаты представлены в диаграмме 1.