

перьях домашних птиц // В сборнике: International innovation research. / Сборник статей XII Международной научно-практической конференции: в 3 частях. 2018. – С. 22-25.

8. Пономарев В.А., Нода И.Б., Клетикова Л.В., Пронин В.В., Якименко Н.Н. Содержание тяжелых металлов в перьевом покрове птиц разных экологических групп // В сборнике: Актуальные исследования в

области биологии и смежных наук. / Материалы Всероссийской научной конференции. Редколлегия: Н.В. Жукова, О.Г. Гришуткин. 2018. – С. 69-74.

9. Jörn Theuerkauf, Tokushi Haneda, Nozomu J. Sato, Keisuke Ueda, Ralph Kuehn, Roman Gula and Izumi Watanabe. Naturally high heavy metal concentration in feathers of the flightless Kagu *Rhynchotus juba-tus* // Ibis. V. 157. – P. 177–180.

УДК 619-079.1;616-002.91;616.34;636.5

ЭКСПРЕСС-МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В КИШЕЧНИКЕ СВИНЕЙ И ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Фролова О.А. – асп.каф. анатомии, патологической анатомии и хирургии ФГБОУ ВО "Красноярский ГАУ", Афонюшкин В.Н.- к.биол. н., зав.сектором молекулярной биологии СФНЦА РАН, Бобикова А.С.- асп.каф. акушерства, анатомии и гистологии ФГБОУ ВО "Новосибирский ГАУ", ПарлюкА.О.- студент 1-го курса лечебного факультета ФГБОУ ВО "Новосибирский государственный медицинский университет", Сигарева Н.А., к.биол.н., доц.каф. акушерства, анатомии и гистологии ФГБОУ ВО "Новосибирский ГАУ",

Ключевые слова: диагностика, Индикал, помёт, свиньи, цыплята-бройлеры, фекалии, эймериоз, экспресс-метод, энтерит.

Key words: diagnostics, Indical, droppings, pigs, broiler chickens, feces, eimeriosis, express method, enteritis.



РЕФЕРАТ

Оригинальный экспресс-метод позволяет диагностировать энтериты различной этиологии у свиней и птиц. Способ оценки функции кишечника заключается в использовании индикаторной бумаги "Индикал" с нанесённым на неё мелкодисперсным сухим красителем. Оценка резорбтивной функции кишечника осуществляется с помощью визуального метода путём измерения площади образовавшегося под фекалиями пятна, которая находится в прямой зависимости с объёмным или процентным содержанием влаги в фекалиях животного или птицы. Это позволяет наглядно оценить количество содержащейся в них влаги. Программа "ImageJ" с интуитивно понятным интерфейсом позволяет измерить площадь пятна, что значительно упрощает визуальную оценку результата и повышает точность исследования. Применение данного экспресс-метода в промышленном свиноводстве и птицеводстве с использованием программного обеспечения создаёт условия для наиболее рационального метода диагностики. Чувствительность теста обеспечивает дополнительное выявление животных с повышенным уровнем экссудативных процессов в кишечнике, которые на основании клинической диагностики ошибочно могут быть отнесены к здоровым. Метод удобен не только для экспериментальных исследований, но и для

применения в условиях напольного содержания цыплят-бройлеров при диагностике эймериоза и других заболеваний с нарушениями функции кишечника. Процесс диагностики с помощью теста "Индикал" можно разделить методически на 2 этапа: опытный – проведение сбора фекалий за определённое время у группы животных и аналитический – проведение обработки полученных данных с использованием программного обеспечения Excel и "ImageJ". Для клинически здоровых свиней показатель объёмного индекса влажности должен быть равен $4,7 \pm 0,8$, а для клинически здоровых цыплят-бройлеров – $5,04 \pm 0,60$. Предложенный диагностический тест является наиболее эффективным и быстрым по сравнению с уже существующими методами диагностики воспалительных процессов в кишечнике свиней и птиц.

ВВЕДЕНИЕ

Птичий помёт – это продукт обмена веществ коллоидной консистенции, серо-зелёного цвета, комковато-пористой структуры, выделяемый из организма птицы в виде смеси мочи и фекалий. Влажность помёта здоровой птицы может быть от 64 % у индеек до 82% у гусей. У цыплят-бройлеров в среднем влажность помёта составляет 68 % [7]. Заболевания, связанные с нарушением резорбтивной функции кишечника домашних свиней и птицы, широко распространены во многих странах мира, особенно в хозяйствах промышленного типа, что наносит значительный экономический ущерб [5]. Он связан с гибелью, снижением производственных показателей за счёт уменьшения суточного прироста живой массы из-за потери аппетита и увеличения неоднородности стада [10,4]. К известным способам диагностики воспалительных заболеваний кишечника относятся: общий анализ крови, определяющий наличие дегидратационных процессов, сдвиги в содержании гемоглобина, свидетельствующие о развитии анемии, повышение уровня лейкоцитов и изменения лейкограммы, указывающие на развитие воспалительного процесса; биохимический анализ крови, позволяющий диагностировать изменение электролитного баланса и снижение уровня общего белка, глюкозы и других показателей [3]. Анализ крови является косвенным методом диагностики, так как отклонения от нормы в результате могут быть связаны с другими патологиями в организме. Общий и биохимический анализ фекалий, определяющий состав каловых масс, содержание в них жидкости и др. [6]. Этот анализ требует

множества косвенных тестов, а определение влажности кала требует много времени и специализированного оборудования. Рентгенологическое исследование, относящееся к визуальным методам диагностики; эндоскопическое исследование, позволяющее взять биоптат слизистой оболочки кишечника для микроскопического исследования. В гуманной медицине предложен метод использования путеспецифичных маркеров для диагностики синдрома раздражённого кишечника и целиакии, суть которого заключается в разработке и применении панели серологических маркеров [9,11]. Известно также много способов диагностики паразитозов желудочно-кишечного тракта животных, связанных с флотацией. Но они предусматривают оценку взаимодействия яиц гельминтов и ооцист простейших с флотационной жидкостью, что не позволяет диагностировать воспалительные заболевания кишечника иной этиологии.

Для современных свиноводства и птицеводства актуальными задачами являются упрощение методов и сокращение времени на определение уровня содержания влаги в фекалиях свиней и помёте птицы, а также разработка быстрых диагностических методов для выявления нарушений резорбтивной функции кишечника, это и стало целью наших исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для оценки влажности помёта использовали оригинальный экспресс-метод [8] на основе выявления повышенной влажности фекалий. Он представляет собой лист специальной бумаги, на одну сторону которого нанесён тонкодисперсный порошок водорастворимого красителя

Light Green SF Yellowish и изолирован от поступления влаги с этой стороны листом прозрачного полимера на клеящей основе (Рис. 1). На внешней стороне нанесена шкала с шагом в 10 мм.

Пробу фекалий помещали на индикаторную бумагу, реакция влаги из помёта с мелкодисперсным красителем приводила к образованию окрашенного пятна. На основании измерения площади пятна определяли содержание влаги в пробе. Предварительно выявляли зависимость между объёмом внесённой влаги и площадью окрашенного пятна.

Площадь окрашенного пятна на индикаторной бумаге определяли с использованием программы "ImageJ".

Данные обрабатывали методом вариационной статистики с расчётом U-критерия Манна-Уитни и использованием программного обеспечения Excel. Коэффициент корреляции рассчитывали по Пирсону.

Для оценки точности и чувствительности предложенного теста было сформировано 2 группы поросят породы РИСв возрасте 45 дней и 2 группы цыплят-бройлеров кросса Hubbard f15 в возрасте 20 дней с наличием клинических признаков диарейного синдрома и клинически здоровых.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для иллюстрации метода оценки содержания влаги в фекалиях животных и помёта птицы на тест нанесли дистиллированную воду в объёме 100, 50 и 10 мкл

(Рис. 2). При измерении площади пятен были получены данные, которые приведены в табл. 1.

Как следует из таблицы 1 точность метода варьировала от 4,7% до 13,5%.

Из полученных данных был выведен коэффициент корреляции равный 0,99. График вычисленных значений представлен на рис. 3. На основании данных исследования было выведено уравнение регрессии. Коэффициент регрессии отражает зависимость объёма жидкости от площади пятна, и чем он ближе к 1, тем модель наиболее достоверна. В наших расчётах коэффициент регрессии составил 0,984. График свидетельствует о прямой зависимости площади пятна от количества влаги: чем больше жидкости попадает на бумагу теста, тем большей площади образуется пятно.

Для иллюстрации практического значения и наглядной демонстрации эффективности данного экспресс-метода были взяты фекалии свиней в количестве 9 проб, из которых 6 имели клинические признаки энтерита, а 3 были клинически здоровы и 8 проб помёта цыплят – 5 проб от больных и 3 пробы от здоровой птицы. Использовали тест-бумагу в виде квадратов со стороной 70 мм. Предварительно была определена масса каждого квадрата. Затем на каждый квадрат поместили фекалии в количестве от 5 до 50 г. После просушивания проб естественным путём течение 30 минут, квадраты с фекалиями

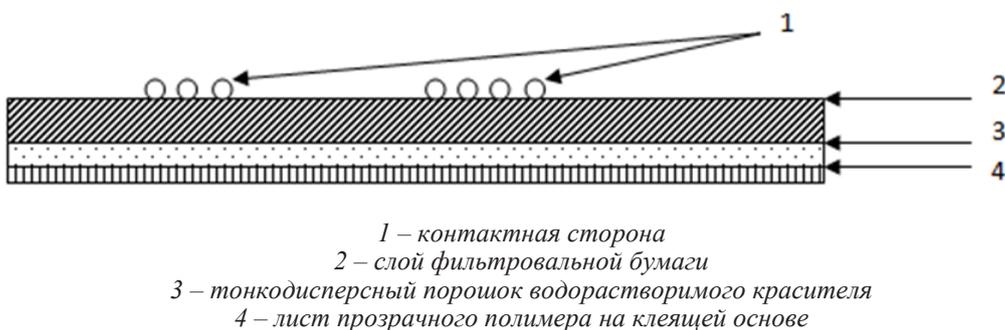


Рис. 1. Схема экспресс-теста

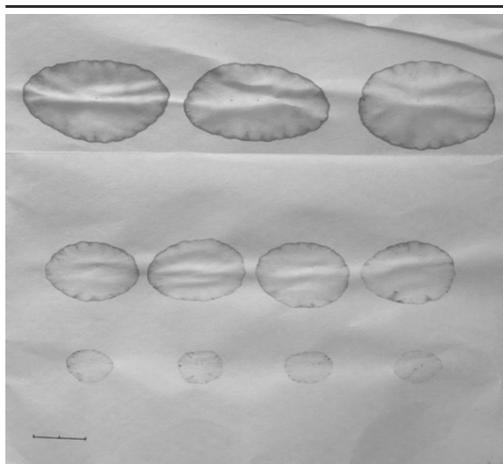


Рис. 2. Пример использования метода

повторно взвесили и измерили площадь образовавшегося на них пятна. С помощью разности массы до и после нанесения фекалий вычислили массу фекалий. Полученные результаты представлены в табл. 2 и 3.

Клинически больные животные характеризуются большим разбросом значений, так как нарушен гомеостаз и как следствие большие колебания по влажности фекалий. Полученное эмпирическое значение $U_{эмп}(5.5)$ по массе фекалий при расчёте U -критерия Манна-Уитни [1] находится в зоне незначимости, то есть их вес статистически значимо не различался. Площадь пятна (зависящая от влажности фекалий) статистически значимо $U_{эмп}(0)$ находится в зоне значимости. У больных животных размер пятна достоверно больше, чем у здоровых. Значение объёмного индекса влажности, рассчитанное по этому критерию, находится в зоне значимости $U_{эмп}(0)$, то есть объёмный индекс влажности у больных также достоверно больше.

Чувствительность теста обеспечила дополнительное выявление животного с

повышенным уровнем экссудативных процессов в кишечнике, которое изначально, на основании клинической диагностики, было отнесено в группу здоровых свиней.

Таким образом, клинический анализ состояния фекалий менее точен, чем использование предлагаемого экспресс-метода диагностики. Вычитывая объёмный индекс влажности по соотношению площади пятна к массе фекалий или помёта, можно говорить о наибольшем содержании влаги в испражнениях больных животных. У цыплят среднее значение объёмного индекса влажности по больным в 6,9 раз превышает индекс по здоровым птицам, а у свиней – в 5,7 раза. Вычитав стандартное отклонение для здоровых животных, можно говорить о нормальном распределении влаги на фильтровальной бумаге. При этом индекс для здоровых свиней равен $4,7 \pm 0,8$, а для цыплят $-5,04 \pm 0,60$.

ОБСУЖДЕНИЕ

Диарея – это симптом вирусных, воспалительных и паразитарных заболеваний у животных и птиц. Энтеровирусные инфекции, поражающие желудочно-кишечный тракт, полиэтиологичны. В настоящее время известны, по крайней мере, десять групп вирусов, причастных к возникновению острых кишечных расстройств. К ним относятся рота-, парарота-, корона-, энтеро-, адено-, рео-, астрокалици-, пести- и парвовирусы, которые при снижении общей резистентности организма могут вызвать существенные экономические потери вследствие наложения других болезней [2]. Из паразитарных болезней, вызывающих нарушение функций кишечника у животных и птиц являются эймериозы (кокцидиозы). Так как в настоящее время отсутствуют быстрые

Таблица 1

Площадь пятен $M \pm SD$ в зависимости от объёма жидкости

Объём жидкости (мкл)	Площадь пятен (mm^2) $\pm SD$	CV, %
10	$164,4 \pm 7,2$	4,7
50	$631,4 \pm 35,7$	5,6
100	$1360,1 \pm 184,3$	13,5

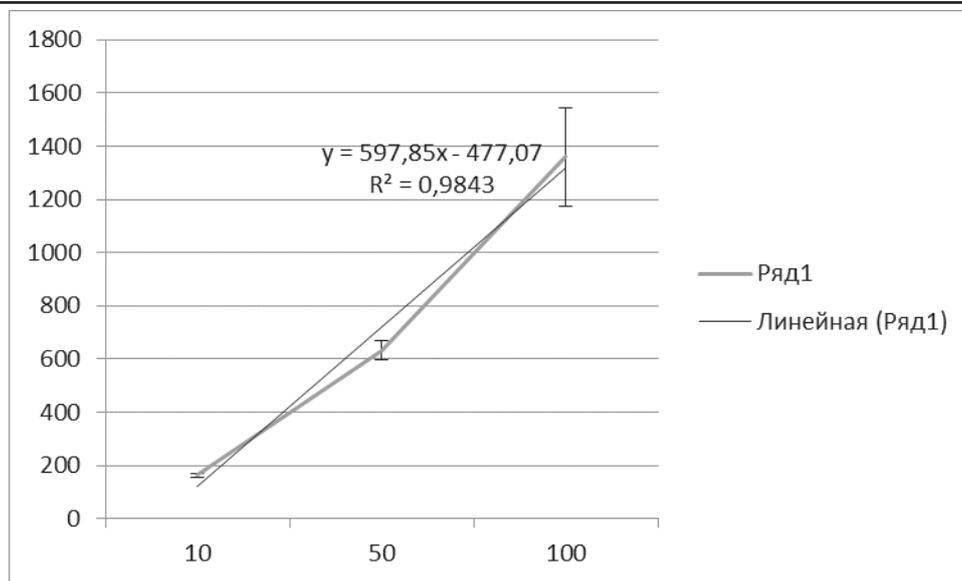


Рис. 3. Калибровочная кривая

Таблица 2

Результаты исследования фекалий свиней

№ группы	Клиническое состояние	Масса фекалий (г) \pm SD	Площадь пятна (мм ²) \pm SD	Объёмный индекс влажности \pm SD	CV, %
1	Больные	15,8 \pm 12,4	240,0 \pm 92,9	27,03 \pm 23,03	85,19
2	Здоровые	25,0 \pm 18,0	117,7 \pm 92,6	4,7 \pm 0,8	16,62

Таблица 3

Результаты исследования помёта цыплят

№ группы	Клиническое состояние	Масса помёта (г) \pm SD	Площадь пятна (мм ²) \pm SD	Объёмный индекс влажности \pm SD	CV, %
1	Больные	14,0 \pm 8,2	390,1 \pm 73,8	34,9 \pm 15,6	44,7
2	Здоровые	41,7 \pm 10,4	212,2 \pm 70,7	5,04 \pm 0,60	11,9

диагностические методы для выявления нарушений резорбтивной функции кишечника, то новый экспресс-метод позволит ускорить процесс диагностики воспалительных патологий кишечника сельскохозяйственных животных и птицы при заболеваниях, сопровождающихся увеличением влажности фекалий. Так же данный метод может быть актуальным при

оценке эффективности препаратов или методов профилактики при данных патологиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Процесс диагностики функционального состояния кишечника свиней и птицы путём изучения влажности фекалий с помощью теста "Индикал" целесообразно разделить методически на два этапа.

Первый – опытный: с проведением сбора фекалий за определённое время у группы животных. Второй – аналитический: проведение обработки полученных данных с использованием программного обеспечения Excel и "ImageJ".

Тест характеризуется линейной зависимостью между уровнем влаги в образце и площадью пятна на индикаторной бумаге (коэффициент корреляции 0,99).

У клинически здоровых свиней показатель объёмного индекса влажности был в 5,7 раз меньше, чем у клинически больных, а у здоровых цыплят – в 6,9 раз меньше по сравнению с больными.

Для клинически здоровых свиней показатель объёмного индекса влажности должен быть равен $4,7 \pm 0,8$.

Для клинически здоровых цыплят-бройлеров показатель объёмного индекса влажности должен быть равен $5,04 \pm 0,60$.

Предложенный диагностический тест более чувствительный в сравнении с клинической оценкой функционального состояния кишечника, и является наиболее эффективным и быстрым по сравнению с уже существующими методами диагностики воспалительных процессов в кишечнике свиней и птиц.

Методика может быть использована в экспериментальных целях и для инструментальной оценки эффективности ветеринарных мероприятий, использования кормовых добавок, при воспалительных заболеваниях кишечника на промышленных предприятиях у свиней и птицы.

EXPRESS DIAGNOSTIC METHOD OF THE INFLAMMATORY PROCESSES IN THE INTESTINE OF PIGS AND BROILERS

Frolova O. A – Leading Veterinary Surgeon, post-graduate student, KSI "Regional Veterinary Laboratory" Krasnoyarsk State Agrarian University; **Afonyushkin V.N.** – PhD. Biol. Sci., Head, Sector of Molecular Biology, Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences; **Bobikova A.S.** – postgraduate student of the Department of Obstetrics, Anatomy and Histology of Novosibirsk State Agrarian University; **Parlyuk A.O.** –

first-year student of the Medical faculty of Novosibirsk State Medical University; **Sigareva N.A.** – PhD. Biol. Sci., Associate Professor of the Department of Obstetrics, Anatomy and Histology of Novosibirsk State Agrarian University

SUMMARY

The original express method allows to diagnose enteritis of various etiology in pigs and birds. The essence of the method for assessing bowel function is to use indicator paper "Indic", coated with a fine dry dye. Assessment of the resorptive function of the intestine is carried out using the visual method by measuring the area of the stain formed by the faeces, which is directly dependent on the volume or percentage of moisture in the faeces of an animal or a bird. This allows you to visually assess the amount of moisture contained in them. The program "ImageJ" with an intuitive interface allows you to measure the area of the spot, which greatly simplifies the visual assessment of the result and increases the accuracy of the study. The use of this express method in industrial pig and poultry farming, using software, creates conditions for the most rational diagnostic method. The sensitivity of the test provides additional detection of animals with an increased level of exudative processes in the intestine, which, on the basis of clinical diagnostics, can be erroneously classified as "healthy". The method is convenient not only for experimental studies, but also for application in the conditions of floor keeping of broiler chickens, for the diagnosis of eimeriosis and other diseases, with impaired intestinal function. The diagnostic process using the "Indical" test can be divided methodically into 2 stages: experimental - collecting feces for a certain time from a group of animals and analytical - processing the data, obtained using Excel and "ImageJ" software. For clinically healthy pigs, the volumetric moisture index should be 4.7 ± 0.8 , and for clinically healthy broiler chickens - 5.04 ± 0.60 . The proposed diagnostic test is the most effective and rapid in comparison with the existing methods for diagnosing inflammatory processes in the intestines of pigs and birds.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автоматический расчёт U-критерия Манна-Уитни. [Электронный ресурс]. / URL <https://www.psychol-ok.ru/statistics/mann-whitney> (Дата обращения 11.09.2020).
2. Алиев А.С., Алиева А.К. Желудочно-кишечные болезни птиц вирусной этиологии. [Электронный ресурс]. / URL: www.webpticprom.ru (Дата обращения 01.09.2020).
3. Иванов А.А. Клиническая лабораторная диагностика: Учебное пособие. – СПб.: Издательство "Лань". 2017. – С. 313-415.
4. Илюшечкин, Ю.П. Эффективность различных кокцидиостатиков / Ю.П. Илюшечкин, А.И. Кириллов // Ветеринария. – 1981. – № 5. – С.40-42.
5. Мамедова С.А. Заражение протозойными и гельминтозными возбудителями домашних птиц в Азербайджане // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология и санитария. – 2018. – №1. – С. 3-6.
6. Мейер Д., Харви Дж. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика. Пер. с англ. – М. Софион. – 2007. – С. 244-296.
7. Новиков М.Н. Птичий помет – ценное органическое удобрение / М.Н. Новиков, В.И. Хохлов, В.В. Рябков // М.: Росагропромиздат, 1989.
8. Пат. 2701559 Российская Федерация, МПК G01N 19/10. Способ диагностики энтеритов сельскохозяйственных животных и птиц /патентообладатели: ФГБОУ ВПО "Новосиб. гос. аграр. ун-т". – №2019112325; заявл. 23.04.2019; опубл. 30.09.2019, бюл. №28. 9 с.
9. Пат. Российская Федерация № 2015155590 А от 22.05.2014 МПК G01N 33/68 (2006.01).
10. Хованских, А.Е. Кокцидиоз сельскохозяйственной птицы / А.Е. Хованских, Ю.П. Илюшечкин, А.И. Кириллов. – Л.: Агропромиздат. Ленинградское отделение, – 1990. – 152 с.
11. Cremonesi C. et al. Mucosal immune di-omarker sinpatient with IBS. UEG Journal. 2013, P. 390.

По заявкам ветспециалистов, граждан, юридических лиц проводим консультации, семинары по организационно-правовым вопросам, касающихся содержательного и текстуального анализа нормативных правовых актов по ветеринарии, практики их использования в отношении планирования, организации, проведения, ветеринарных мероприятий при заразных и незаразных болезнях животных и птиц.

Консультации и семинары могут быть проведены на базе Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины или с выездом специалистов в любой субъект России.

**Тел/факс (812) 365-69-35,
Моб. тел.: 8(911) 176-81-53, 8(911) 913-85-49**