

8. Omura T., Sato R., Cooper D.Y. // Fed. Proc. 1965. Vol. 9. Boggaram V., Brobjer T., Larson K., Mannervik B. Purification of Glutathione reductase from porcine erythrocytes by the use of affinity chromatography on 2',5'-ADP-sepharose 4B and crystallization of the enzyme // Anal. Biochem. – 1979. – Vol. 98. – P. 335-340.
9. Schulz G.E., Schirmer R.H., Pai E.F. FAD-binding site of Glutathione reductase // J.Mol. Biol. – 1982. – Vol. 160. – P. 287-308.
10. Mills G.C., Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. J. Biol. Chem. – 1957. – V. 229. – P. 189-194.
11. Feeding times: «Значение селена для различных видов животных»: Т. 7, №. 2, 2002 г. 32 с.
12. Stocks J. The auto oxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide / J. Stocks, T. L. Dormandy // British Journal of Haematology. – 1971. – Vol. 20. – P. 95-111.

УДК:619:616-092:636.4

ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА ПОРОСЯТ ОТЪЕМНОГО ВОЗРАСТА

Д.В. Воронов

УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь, 230008

***Аннотация.** В статье приведены результаты исследований, полученные при использовании фистульных методов ветеринарной медицины.*

Цель работы: установление показателей и особенностей функционирования тонкого кишечника у поросят-отъемышей. В результате проведенных исследований установлены микробиальный фон кишечника, уровень активности альфа-амилазы и особенности всасывания углеводов в тонком кишечнике у подопытных поросят.

***Summary** The results of researches received at use of fistula-methods of veterinary medicine are shown in the article .*

The purpose of activity is to determine the indexes and specificity of functioning of the intestine of post-weaning pigs. The microbiocenosis of intestine, enzyme activity of alpha amylase and specifics of absorption of carbohydrates in intestine at experimental pigs were established as the result of investigations.

Введение. Большим препятствием в решении задач, стоящих перед животноводством Республики Беларусь, являются незаразные болезни молодняка свиней, наносящие существенный экономический ущерб народному хозяйству вследствие гибели, затрат на лечение, снижение продуктивности и племенных качеств переболевших животных. Один из самых критических периодов выращивания свиней является отъем поросят. В связи с этим ведущее место среди болезней молодняка в промышленном свиноводстве занимают послеотъемные гастроэнтериты [4].

Развитие гастроэнтерита у поросят-отъемышей сопровождается снижением поступления с кормом питательных веществ, нарушением метаболических процессов. [2, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 13].

Все вышесказанное подтверждает, что ветеринарная наука должна сфокусировать свое внимание на детальном изучении процессов, которые протекают в организме животных. Это позволит открыть новые возможности в профилактике и лечении, основанные на тонком понимании функционирования организма животного. По этой причине по-прежнему остается актуальным изучение вопросов нарушения функционирования пищеварительного тракта у поросят в послеотъемный период.

Микроэкологическая система желудочно-кишечного тракта является открытым биоценозом, то есть между микрофлорой окружающей среды и микрофлорой пищеварительного тракта происходит постоянная циркуляция микроорганизмов. Таким образом, кишечная микрофлора представляет собой сложную ассоциацию микроорганизмов, влияющих на жизнедеятельность друг друга и находящихся в тесной взаимосвязи с организмом животного [6].

Однако особая динамичность пищеварительных процессов создает сложности в его изучении. А само распределение микробов, ферментов в кишечном канале неравномерное и неодинаковое, поэтому копрологическое исследование не позволяет объективно оценить состав микрофлоры и особенности пищеварения в тонком отделе кишечника.

Известно, что в ветеринарии, экспериментальной медицине и биологии наиболее значительные научные результаты были получены с применением хирургических методов, а в гастроэнтерологии – посредством фистульных методик [1, 11, 12].

Основываясь на этом, нами при выполнении поставленных задач была применена методика наложения еюнальной фистулы для аспирационной биопсии слизистой оболочки, введения необходимых веществ и получения содержимого тонкого отдела кишечника.

Цель работы. Установить показатели функционирования тонкого кишечника у поросят отъемного возраста.

Материалы и методы исследования. Для исследования использовали поросят 35-40-дневного возраста. Нормофлору тонкого кишечника изучали путем исследования химуса и пристеночного содержимого кишки, полученные через еюнальную фистулу. Определение активности альфа-амилазы осуществляли в жидкой части кишечного содержимого, в биоптате в трех десорбируемых фракциях и в ткани слизистой оболочки. Полостное и пристеночное пищеварение, всасывание и

утилизацию глюкозы в организме поросенка оценивали с использованием еюнального нагрузочного теста, разработанного в УО «ВГАВМ» под руководством профессора В.А. Телепнева.

Основные моменты хода операции по постановке фистулы заключаются в следующем. Лапаротомия производится по белой линии живота. После этого отыскивают начало тощей кишки. Отмеривается около 60 см тощей кишки, производится её тотальная резекция и биопсия. Такая точка для наложения фистулы избрана нами по той причине, что здесь уже происходит равномерное смешивание желудочного содержимого, секретов поджелудочной железы, печени и кишечника, и в этом отрезке кишечника интенсивно протекают все фазы кишечного пищеварения и абсорбция.

Проходимость кишки восстанавливается посредством энтеростома "конец в бок". Образуется своеобразный тройник, в который вшивается фистула. Канюлю выводят через прокол правой брюшной стенки в 3-5 см от места лапаротомии. Все вышеперечисленное позволяет длительное время использовать подопытное животное в исследовательских целях.

Бактериологическое исследование материала (химуса, фекалий) проводили общепринятыми методами [7].

Для забора материала использовали стерильную, предварительно взвешенную емкость, куда собирали материал. Проба исследовалась в течение 2-х часов с момента забора. После взвешивания пробу разводили в 10 раз. Из основного разведения делали ряд последующих.

Посевы делали на среды: желточно-солевой агар (ЖСА), Эндо, Сабуро, свежескошенный мясопептонный агар (МПА), Блаурокка и бифидум. Учет результатов посева осуществлялся через 24, 48 часов. Рост на бифидосреде и на среде Сабуро наблюдали через 2-4 суток. Через 24 часа инкубации в термостате делали последующие высевы на соответствующие среды.

При осуществлении еюнального глюкозо-сахарозного нагрузочного теста у поросенка в специальном станке без жесткой фиксации из вены уха брали пробу крови (исходный показатель). Затем в полость тощей кишки через фистулу в течение 3-5 минут вводили подогретый до 40 °С 10%-ый раствор глюкозы из расчета 1,0 г/кг живой массы поросенка. После начала введения кровь отбирали через 15, 30, 45, 60 и 90 минут.

Отмечу, что вся работа проведена на базе клиники факультета ветеринарной медицины и научно-исследовательской лаборатории УО «ГГАУ».

Результаты исследований и их обсуждение. Работа по определению качественного и количественного состава микрофлоры кишечника проводилась в два этапа. В рамках первого этапа было установлено оптимальное разведение исследуемого материала. Второй этап был связан с определением микробиального фона кишечника у поросят в послеродовый период.

Оптимальное разведение исследуемого материала отражено в таблице 1.

Таблица 1 – Оптимальное разведение материала, полученного из кишечника экспериментальных поросят

Название среды	Разведение исходного материала			Название микроорганизмов
	Фекалии	Химус	Слизистая оболочка тощей кишки	
ЖСА	10^{-4} - 10^{-8}	10^{-3} - 10^{-4}	10^{-2} - 10^{-3}	Стафилококки
Эндо	10^{-4} - 10^{-8}	10^{-2} - 10^{-4}	-	Эшерихии
Блаурокка	10^{-2} - 10^{-6}	10^{-6} - 10^{-8}	10^{-2} - 10^{-6}	Лактобактерии
Бифидо	10^{-2} - 10^{-8}	10^{-6} - 10^{-8}	10^{-8}	Бифидобактерии
Селенитовая	10^{-2}	-	-	Энтеробактерии
МПА	10^{-2} - 10^{-8}	-	-	Протей
Сабуро	10^{-2} - 10^{-8}	10^{-2} - 10^{-4}	-	Кандиды, грибы

Как видно из представленной таблицы, диапазон разведения наиболее широк при исследовании фекалий. Для оптимального учета результатов материал лучше разводить в 10^2 - 10^8 раз. При исследовании химуса диапазон разведения существенно уже, однако он варьирует от среды к среде. При посеве суспензированного и разведенного биоптата слизистой тощей кишки рост наблюдали только на средах ЖСА, Блаурокка и бифидо.

Микробиальный фон тонкого кишечника у поросят можно выразить с помощью колониеобразующей единицы (КОЕ).

КОЕ – это количество колоний, которые вырастают при посеве материала на питательную среду с учетом разведения. На основании КОЕ можно подсчитать количество микроорганизмов в единице посеянного материала.

КОЕ материала, полученного из тонкого кишечника поросят посредством еюнальной фистулы, приведены в таблице 2. Отмечу, что роста на средах МПА и селенитовая не наблюдали.

Таблица 2 – Количество колоний, выросших при посеве на среды материала (химуса), полученного из тонкого кишечника поросят

Среда	Степень разведение исходного материала				
	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
ЖСА	около 300	62	6	0	0
Эндо	136	92	85	0	0
Блаурокка	не поддается подсчету (много)			94	40
Бифидо	не поддается подсчету (много)			53	10
МПА (скошенный)	0	0	0	0	0
Сабуро	1	2	1	0	0

На основании полученных данных, отраженных в таблице 2, можно рассчитать количество микроорганизмов, заселяющих тонкий кишечник поросенка. Для этого использовали формулу 1:

$$A = B (KOE_1 + KOE_2) / 2 \quad [1],$$

где: А – количество микроорганизмов в 1 мл материала, ед/мл;

В – степень последнего разведения, в котором наблюдался рост колоний;

KOE_1 и KOE_2 – количество колоний в предпоследнем и последнем разведениях, соответственно.

Результаты вычислений приведены в таблице 3.

Как видно из указанной таблицы 3, микрофлора тонкого кишечника представлена в основном лакто- и бифидобактериями. Микроорганизмов этих групп насчитывается в среднем от 3×10^5 до 7×10^5 . Также присутствуют стафилококки, эшерихии и некоторое количество грибов. Однако этих групп микроорганизмов на 1, 2 порядка меньше, чем бифидо- и лактобактерий.

Таблица 3 – Количество микроорганизмов в 1 мл содержимого кишечника поросят послеотъемного возраста

Среда, использованная для посева	Название микроорганизмов	Количество микроорганизмов в 1 мл материала
ЖСА	Стафилококки	$3,4 \pm 0,21 \times 10^3$
Эндо	Эшерихии	$8,85 \pm 0,31 \times 10^3$
Блаурокка	Лактобактерии	$6,7 \pm 0,17 \times 10^5$
Бифидо	Бифидобактерии	$3,15 \pm 0,19 \times 10^5$
Сабуро	Кандиды, грибы	$1,5 \pm 0,2 \times 10^4$

Такая картина не противоречит описанным в литературе представлениям о составе микрофлоры тонкого кишечника поросят (М.А. Тимошко, 1973, Peach, 1979), а полученные данные позволяют судить о

микрофлоре тонкого кишечника у указанных выше экспериментальных поросят. Это необходимо для успешной научной работы с животными.

Результаты исследования активности амилалитического фермента приведены в таблице 4. Согласно полученным данным, альфа-амилаза, принимая участие в пристеночном пищеварении, довольно легко десорбируется, вследствие чего Д₃-фракция содержит уже незначительное количество фермента. Имеет значение определение фермента в биоптате ткани слизистой оболочки тонкой кишки (Г-фракция). Этот показатель получается статистически достоверным.

Таблица 4 – Количество альфа-амилазы в различных фракциях биоптата слизистой оболочки тощей кишки поросят (M±m)

Фракция	Концентрация альфа-амилазы, Е/л		
	Поросенок № 1	Поросенок № 2	Поросенок № 3
Д ₁	4,54±0,32	4,24±0,41	2,81±0,21
Д ₂	2,33±0,12	2,47±0,22	1,55±0,13
Д ₃	0,36±0,023	0,19±0,005	0,53±0,009
Г	20,6±1,35	11,9±1,1	10,42±0,9

При исследовании количества альфа-амилазы в жидкой части кишечного содержимого отбор материала осуществлялся на протяжении нескольких дней. Результаты отражены в таблице 5.

Таблица 5 – Количество альфа-амилазы в жидкой части тощей кишки экспериментальных поросят (M±m)

Дата исследования	Концентрация альфа-амилазы, Е/л		
	Поросенок № 1	Поросенок № 2	Поросенок № 3
6.12.07	769,8±74,1	558,7±40,9	315,7±26,1
7.12.07	820,6±80,3	557,7±22,9	369,5±19,7
10.12.07	614,2±75,9	535,6±40,1	367±29,7
11.12.07	840±63,4	531,1±50,3	349,2±30,0
12.12.07	777±69,2	731,2±51,2	317±26,1

Как видно из таблицы 5, для каждого поросенка характерен определенный уровень амилалитического фермента. Так, уровень альфа-амилазы у поросенка № 1 варьирует в пределах от 614 Е/л до 820 Е/л, а у поросят под номерами 2 и 3 количество фермента в течение 5 дней было более стабильным.

Этот уровень может варьировать у одного животного в определенных пределах, что связано с физиологией кишечного пищеварения, индивидуальным уровнем тех или иных ферментов, особенностями функционирования эндокринной и нервной систем. Несмотря на это, выведение так называемой «нормы» для каждого животного по содержанию альфа-амилазы в кишечнике представляется возможным.

Результаты проведения еюнального нагрузочного теста отображены на рисунке 1.



Как видно из рисунка 1, в течение первых 30-45 минут после начала введения раствора глюкозы происходит постепенное повышение ее уровня в крови. Более стремительно этот процесс протекал у поросенка № 1. В течение второго получаса наблюдается резкое падение концентрации глюкозы в крови, а к концу всего 90-минутного периода она возвращается к исходному уровню. Пики концентрации углевода в крови у поросят регистрировали в различное время. Так, у поросенка № 1 – к 15 минуте, поросенка № 2 – к 45, у поросенка № 3 – к 30. Характер гликемической кривой у животного позволяет отразить особенности всасывания и утилизации глюкозы в организме.

Заключение. На основании вышесказанного можно судить об особенностях пищеварения в тонком кишечнике у исследуемых поросят.

Исследования показали:

- 1) обсемененность фекалий свидетельствует об относительно высокой концентрации микроорганизмов в полости прямой кишки;
- 2) в тонкой кишке микробов содержится на несколько порядков меньше. Это говорит об относительной стерильности верхних отделов тонкой кишки (двенадцатиперстная и тощая) у поросят, особенно в межпищеварительный период;
- 3) микробный фон тонкого кишечника у поросят-отъемышей достаточно постоянен, а изменения в нем могут приводить к нарушению процессов пищеварения, развитию в кишечнике воспаления. Все это может вызвать гибель животного;

4) для каждого поросенка характерен определенный уровень амилолитического фермента. Этот уровень может варьировать у одного животного в достаточно широких пределах;

5) получение типичной гликемической кривой позволяют охарактеризовать скорость всасывания и утилизации глюкозы у поросят, что необходимо для оценки состояния кишечника, поджелудочной железы и утилизирующей способности печени.

Таким образом, установлены основные показатели и определены особенности функционирования кишечника у подопытных животных. Полученные данные могут быть использованы при последующей экспериментальной работе с поросятами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алиев, А.А. Оперативные методы исследований сельскохозяйственных животных / А.А. Алиев. – Л.: Наука, 1974. – 336с.
2. Бабина, М.М. Пробиотики в профилактике желудочно-кишечных заболеваний и гиповитаминозов животных и птицы: Аналит. обзор / М.М.Бабина, И.М.Карпуть – Мн.: Белнаучцентр информмаркетинга АПК, 2001. – С. 11-16.
3. Бихардт, К. Клиническая ветеринарная патофизиология / Пер. с нем. В. Пулинец. – М.: «АКВАРИУМ ЛТД», 2001. – 400 с.
4. Болезни сельскохозяйственных животных / П.А. Красочко [и др.]; науч. ред. П.А. Красочко. – Мн.: Бизнесофсет, 2005. – С. 12-15.
5. Внутренние незаразные болезни животных: учебник / И.М. Карпуть [и др.]; под. ред. проф. И.М. Карпуця. – Мн.: Беларусь, 2006. – 679 с.
6. Дегтярева, И.И. Клиническая гастроэнтерология: Руководство для врачей / И.И. Дегтярева. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – С.169-186.
7. Дисбактериоз кишечника: диагностика, коррекции / В. С. Васильев [и др.]; науч ред. В.С. Васильев. – Минск, Гродно: 2002. – 25с.
8. Кудрявцев, А.А. Клиническая гематология животных / А.А Кудрявцев., Л.А. Кудрявцева – М.: «Колос», 1974. – С. 214-226.
9. Микроэлементозы сельскохозяйственных животных / А.И. Федоров [и др.]; науч. реценз. А.В. Жаров. – Мн.: Ураджай, 1986. – С. 25-29.
10. Профилактика заболеваний животных в промышленных комплексах. / Пер. с болг. К.С. Богданова и канд. с.-х. наук Л.Х. Левентуля. Под ред. и с предисл. д-ра вет. наук, проф. В.А. Аликаева– М.: «Колос», 1974. – С. 63-69.
11. Сапроненков, П.М. Иммунология желудочно-кишечного тракта / П.М. Сапроненков. – Л.: Наука, 1987. – 159 с.
12. Телепнев, В.А. Операционная биопсия слизистой оболочки тощей кишки/ Актуальные проблемы патологии сельскохозяйственных животных / В.А. Телепнев, В.В. Емельянов. – Минск: Бел. изд. тов-во «Хата», 2000. С. 566-569.
13. Szabo, P. Iron deficiency in outdoor pig production / P. Szabo, G. Bilkei // Journal Veterinary Medicine and Physiology, Pathology Clinical Medicine. – 2002. – Sept., Vol. 49, № 7. – P. 390-391