

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Санкт-Петербургская государственная академия
ветеринарной медицины»

На правах рукописи

Сепп Анастасия Леонидовна

**Состояние мембранного пищеварения и микробиоценоза при гастроэнтерите
у поросят в период отъема**

4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и
токсикология

Диссертация

на соискание учёной степени
кандидата ветеринарных наук

научный руководитель:
доктор ветеринарных наук,
профессор Яшин Анатолий Викторович

Санкт-Петербург – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
1. ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	14
1.1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	14
1.1.1 Роль и место мембранного пищеварения в пищеварительной функции кишечника у животных.....	14
1.1.2 Функциональные нарушения пищеварения при желудочно-кишечных заболеваниях у животных.....	17
1.1.3 Связь микробиоценоза кишечника с процессами переваривания и всасывания пищевых веществ.....	20
1.1.4 Роль микрофлоры в развитии заболеваний желудочно-кишечного тракта.....	24
1.1.5 Гастроэнтериты у поросят в период отъема.....	27
1.1.6 Современные пробиотические препараты в клинической практике.....	30
2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	34
2.1 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	34
2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	48
2.2.1 Изучение влияния пробиотических штаммов <i>Enterococcus faecium</i> L-3 и <i>Enterococcus faecium</i> 1-35 в коррекции экспериментального дисбиоза у лабораторных животных	48
2.2.1.1 Изучение изменения массы тела и потребления корма на разных сроках эксперимента.....	48
2.2.1.2 Результаты биохимических показателей крови крыс при экспериментальном дисбиозе.....	50
2.2.1.3 Изучение состояния микробиоценоза кишечника у лабораторных животных.....	54
2.2.1.4 Определение массы слизистой оболочки и химуса кишечника у крыс.....	57

2.2.1.5	Изучение активности пищеварительные ферментов в гомогенате слизистой оболочки различных отделов кишечника.....	62
2.2.1.6	Активность пищеварительных ферментов в химусе различных отделов кишечника крыс.....	67
2.2.1.7	Активность пищеварительных ферментов в фекалиях на разных сроках эксперимента.....	72
2.2.2	Изучение терапевтической эффективности пробиотических штаммов <i>Enterococcus faecium</i> L-3 и <i>Enterococcus faecium</i> 1-35 при лечении поросят отъемышей больных гастроэнтеритом	75
2.2.2.1	Изучение этиологии и некоторых звеньев патогенеза гастроэнтерита у поросят в период отъема.....	75
2.2.2.2	Оценка эффективности использования <i>E. faecium</i> L-3 и <i>E. faecium</i> 1-35 на клиническое состояние поросят после лечения.....	79
2.2.2.3	Изучение влияния пробиотических энтерококков на биохимические и морфологические показатели крови	81
2.2.2.4	Изучение влияния пробиотических энтерококков на микробиоценоз кишечника при гастроэнтерите у поросят.....	86
2.2.2.5	Определение активности пищеварительных ферментов в гомогенате слизистой оболочки кишечника.....	89
2.2.2.6	Определение активности пищеварительных ферментов в химусе кишечника.....	91
2.2.2.7	Изучение изменений ферментативной активности в фекалиях поросят на различных сроках эксперимента.....	93
2.2.3	Гистоморфологические изменения кишечника поросят в ходе экспериментальных исследований.....	96
3.	ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	109
4.	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	124
5.	ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ.....	127
6.	РЕКОМЕНДАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	128

7. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	129
8. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	130
9. ПРИЛОЖЕНИЯ.....	158

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. В настоящее время, среди заболеваний у поросят отъемного периода чаще всего регистрируют гастроэнтериты неинфекционной природы, наносящие значительный ущерб свиноводству. Этот постнатальный период в жизни животных является критическим, так как организм лишается возможности поддержания приобретенного иммунитета, а собственные механизмы еще не функционируют в полной мере (Fan, M. Z. et al., 2003; Moeser, A. J. et al., 2017; Щербаков, Г. Г., 2018; Калюжный, И. И., 2019; Ковалев, С. П., 2020; Гертман, А. М., 2021). Синтез желудочного и кишечного соков еще не адаптирован к новому виду корма, в результате чего резкая смена типа кормления и воздействие стресс-факторов у поросят после отъема приводят к нарушениям не только обмена веществ, но и мембранного пищеварения, что в дальнейшем способствует снижению резистентности организма и возникновению различных заболеваний органов пищеварения. При таких условиях желудочно-кишечный тракт становится благоприятной средой для развития различных микроорганизмов, в том числе и патогенных (Maxwell, C. V. et al., 2001; Marion, J. et al., 2005; Панова, Н. А., 2007).

Любое нарушение в работе пищеварительной системы почти всегда сопровождается изменением количественного и качественного состава микробиоценоза кишечника. Не отвечая критериям самостоятельной нозологической единицы, дисбиоз кишечника является как следствием, так и одним из звеньев патогенеза заболеваний желудочно-кишечного тракта (McFarland, L., 1998; Бондаренко, В. М., 2004; Никитенко, В. И., 2004; Булатов, В. П., 2010; Барышникова, Н. В., 2014; Дроздова, Л. И., 2022). Для лечения и профилактики гастроэнтеритов ветеринарные специалисты часто применяют антибактериальные препараты, однако нерациональное их использование не только усугубляет дисбиоз желудочно-кишечного тракта, но и способствует развитию антибиотикорезистентности у большинства бактерий (Laskeygam, D. et al., 2010; Зубарев, А. Е., 2017; Намазова-Баранова, Л. С., 2017).

Ряд авторов указывают, что при заболеваниях желудочно-кишечного тракта происходят также выраженные нарушения механизмов, обеспечивающих полостное и мембранное пищеварение, а также всасывание питательных веществ (Bilski, J. et al., 2017; Komazin, G. et al., 2019; Ghosh, S. S. et al., 2020). Большой вклад в изучении этих вопросов внесли А. М. Уголев (1963, 1985, 1986), Г. Г. Щербаков (1969), Н. В. Данилевская (1987), А. М. Яковскис (1987), В. А. Пашкин (1993), А. В. Яшин (1997), Л. В. Лазаренко (1999), Г. Г. Егорова (2001), Л. В. Громова (2008), С. В. Старченков (2010), С. В. Винникова (2010). Ферменты, участвующие в мембранном пищеварении, помимо гидролиза пищевых веществ, реализуют также барьерную функцию кишечника (Riggle, K. M. et al., 2013; Singh, S. V. et al., 2020; Plaeke, P. et al., 2020).

Научные исследования последних лет свидетельствуют о все возрастающем интересе к использованию пробиотических штаммов микроорганизмов в медицине и ветеринарии (Дмитриенко, В. Г., 2004; Яшин, А. В., 2004; Елизаров, И. В. 2009; Пономарев, И. Н., 2010; Ермоленко, Е. И., 2014; Прусаков, А. В., 2020).

Молочнокислые бактерии *Enterococcus faecium* являются одними из основных обитателей кишечника животных и человека. Они синтезируют органические кислоты и спектр целлюлозно-литических ферментов, способствующих расщеплению клетчатки растительных кормов, улучшая тем самым их переваривание (Ермоленко, Е. И., 2009; Громова, Л. В., 2018; Лаптев, Г. Ю., 2019; Меликиди В. Х., 2020). Отечественные препараты на основе штаммов *Enterococcus faecium* широко применяются в лечебной практике людей и животных при различных патологических состояниях, обусловленных дисбиозами. Однако, до сих пор, не было предметом систематических исследований их влияние на обменные процессы в организме, микробиоценоз и мембранное пищеварение в кишечнике у поросят при гастроэнтерите.

Степень разработанности темы. Изучению заболеваний желудочно-кишечного тракта у животных посвящено значительное количество работ (Бригадиров, Ю. Н., 2012; Малашко, В. В., 2013; Самсонович, В. А., 2013; Новикова, С. В., 2014; Yang, Q. et al., 2017; Li, Y. et al., 2018).

Проводились также исследования по состоянию микрофлоры желудочно-кишечного тракта при различных заболеваниях животных (Храпова, Н. Н., 2000; Кудинова, Р. И., 2003; Муратова, Е. Т., 2010; Борщева, Ю. Ю., 2012; Лебедев, М. Н., 2021).

Имеется большое количество исследований по применению в животноводстве пробиотических препаратов, содержащих в своем составе, различные бактерии в том числе и *Enterococcus faecium* (Зубарев, А. Е., 2017; Лебедев, М. Н., 2019; Романов, В. Н., 2019; Йылдырым, Е. А., 2020; Котарев, В. И., 2020; Филатов, А. В., 2020; Стекольников, А. А., 2021; Карпенко, Л. Ю., Шинкаревич, Н. А., 2022). Вместе с тем, в литературе, как отечественной, так и зарубежной отсутствуют научные данные о влиянии бактерий *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 на мембранное пищеварение и микробиоценоз кишечника у поросят при гастроэнтерите.

Таким образом, существующие работы, направленные на изучение заболеваний желудочно-кишечного тракта у сельскохозяйственных животных, проводились фрагментарно и не имели комплексного подхода. Однако, для их успешного лечения и профилактики необходимо знать и учитывать закономерности изменения микробиоценоза кишечника и мембранного пищеварения в их взаимодействии.

Цель и задачи исследования. Цель исследования – изучить состояние мембранного пищеварения и микробиоценоза кишечника при гастроэнтерите у поросят в период отъема и установить терапевтическую эффективность использования пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35.

Для достижения поставленной цели перед нами стояли следующие **задачи:**

- изучить этиологию и патогенез гастроэнтерита у поросят в период отъема в условиях свиноводческого хозяйства;
- изучить изменения: состава кишечного микробиоценоза, активности пищеварительных ферментов в гомогенате слизистой и в химусе кишечника, а также структуры слизистой оболочки тонкой кишки на модели

экспериментального дисбиоза у крыс, индуцированного введением антимикробных препаратов;

– выявить эффективность коррекции экспериментального дисбиоза у крыс с использованием пробиотических бактерий *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35;

– оценить изменение биохимических и морфологических показателей крови, состояния микробиоценоза, а также активность пищеварительных ферментов при гастроэнтерите у поросят в период отъема;

– сравнить эффективность лечения гастроэнтерита поросят в период отъема с использованием пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35.

Научная новизна и ценность полученных результатов.

Впервые проведен комплексный подход по изучению влияния пробиотических штаммов бактерий *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 на организм лабораторных животных и поросят.

Впервые показано изменение биохимических показателей крови, состава микробиоценоза кишечника, а также активности ключевых мембранных пищеварительных ферментов (мальтазы, щелочной фосфатазы и аминопептидаза-N) после коррекции экспериментального дисбиоза у лабораторных животных с использованием пробиотических бактерий *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 на разных сроках эксперимента.

Впервые показано изменение активности ключевых мембранных пищеварительных ферментов (мальтазы, щелочной фосфатазы и аминопептидазы-N) в кишечнике поросят в зависимости от их возраста и клинического состояния.

Впервые изучено влияние пробиотических бактерий *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 на морфологические и биохимические показатели крови, на микробиоценоз кишечника, а также на активность ключевых мембранных пищеварительных ферментов, у поросят-отъемышей при неспецифическом гастроэнтерите.

Проведена гистологическая оценка состояния слизистой оболочки тонкой кишки у поросят при неспецифическом гастроэнтерите в сравнении с контрольными группами животных и после лечения с использованием пробиотических бактерий *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35.

Теоретическая и практическая значимость работы. Приоритетные данные, полученные в работе, способствуют пониманию процессов, которые могут происходить в кишечнике при использовании пробиотических бактерий *Enterococcus faecium* L-3, *Enterococcus faecium* 1-35 в лечебно-профилактических целях.

Новые экспериментальные данные о клинических и биохимических показателях крови, видовом составе микробиоценоза кишечника, а также об изменении активности пищеварительных ферментов, расширяют представления об этиологии и патогенезе неспецифического гастроэнтерита у поросят-отъемышей и представляют практическую ценность для постановки диагноза и разработки лечебно-профилактических мероприятий.

Полученные нами данные могут быть использованы в научно-исследовательской работе, в учебном процессе для чтения лекций по физиологии, энзимологии и микробиологии, а также в терапевтической практике ветеринарных врачей.

Полученные по результатам исследований данные об изменении активности пищеварительных ферментов, структурных элементов тонкой кишки, биохимических показателей крови и микробиоценоза кишечника, при коррекции экспериментального дисбиоза у крыс и лечении неспецифического гастроэнтерита у поросят с использованием пробиотических бактерий *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 используются в научно-исследовательской работе и в учебном процессе ряда ведущих высших учебных заведений Российской Федерации: ФГБОУ ВО «Великолукская государственная сельскохозяйственная академия»; ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I»; ФГБОУ ВО «Костромская государственная сельскохозяйственная академия»; ФГБОУ ВО «Саратовский государственный

университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова»; ФГБОУ ВО «Бурятская государственная сельскохозяйственная академия имени В. Р. Филиппова».

Методология и методы исследований. Для проведения исследований и решения поставленных задач применяли общеклинические, гематологические, биохимические, микробиологические, гистоморфологические, а также молекулярно-биологические (полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени) методы. Все исследования были проведены с использованием современного оборудования и программного обеспечения. Полученные данные подвергнуты статистической обработке с помощью компьютерных программ статистического анализа.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Характер изменения общего состояния, биохимических показателей крови, микробиоценоза кишечника, структурных показателей тонкой кишки, а также активности пищеварительных ферментов (мальтазы, щелочной фосфатазы и аминопептидазы-N) на модели экспериментального дисбиоза у крыс;

2. Особенности изменения клинического состояния, биохимических показателей крови, микробиоценоза кишечника, структурных показателей тонкой кишки, а также активности пищеварительных ферментов (мальтазы, щелочной фосфатазы и аминопептидазы-N) при коррекции экспериментального дисбиоза у крыс с использованием пробиотических бактерий *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35;

3. Характер изменения клинического состояния, биохимических показателей крови, микробиоценоза кишечника, структурных показателей тонкой кишки, а также активности пищеварительных ферментов (мальтазы, щелочной фосфатазы и аминопептидазы-N) при гастроэнтерите у поросят в период отъема;

4. Особенности изменения клинического статуса, биохимических показателей крови, микробиоценоза кишечника, структурных показателей тонкой кишки, а также активности пищеварительных ферментов (мальтазы, щелочной фосфатазы и аминопептидазы-N) при лечении гастроэнтерита у поросят в период отъема с

использованием пробиотических бактерий *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35.

Степень достоверности и апробация результатов подтверждаются: использованием сертифицированных приборов; использованием репрезентативной выборки объектов исследования, которая соответствовала целям и задачам исследования; применением комплекса передовых методов исследования биологического материала; достаточным объемом фактического материала, статистически обработанного при помощи корреляционного анализа и критерия (t) Стьюдента; публикацией результатов работы в рецензируемых журналах; справками о внедрении полученных результатов.

Основные результаты работы были представлены на российских и международных конференциях: Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны» (Санкт-Петербург, 2019); Всероссийская конференция с международным участием «Интегративная физиология» посвященная 170-летию со дня рождения И. П. Павлова (Санкт-Петербург, 2019); XV Международная научно-практическая конференция «Аграрная наука – сельскому хозяйству» (Барнаул, 2020); Вторая научная конференция с международным участием «Микробиота человека и животных» (Санкт-Петербург, 2020); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Современное состояние и перспективы развития ветеринарной и зоотехнической науки» (Чебоксары, 2020); Всероссийская конференция с международным участием «Интегративная физиология», посвящённая 95-летию Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (Санкт-Петербург, 2020); XXVII Всероссийская конференция молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины-2021» (Санкт-Петербург, 2021); 76-ая международная научная конференция молодых ученых и студентов СПбГУВМ (Санкт-Петербург, 2022); Международная научная конференция «Актуальные вопросы ветеринарной медицины», посвященная 100-летию кафедр клинической диагностики,

внутренних болезней животных им. Синева А.В., и акушерства и оперативной хирургии СПбГУВМ (Санкт-Петербург, 2022).

Публикация результатов исследования. По теме диссертационной работы опубликовано 14 печатных работ в сборниках всероссийских и международных конференций, центральных журналах и отдельных изданиях, в том числе – четыре в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ для публикации основных результатов диссертационной работы на соискание ученой степени доктора наук и кандидата наук (Международный вестник ветеринарии – 1; Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии имени В. Р. Филиппова – 1; Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии – 2), региональной печати – 10.

Личный вклад соискателя. Диссертация является результатом исследований, проведенных в период с 2017 по 2024 гг. Соискателем совместно с научным руководителем была выбрана тема исследования, определены его цель и задачи, составлен план проведения экспериментальных исследований. Соискатель лично осуществлял методическую подготовку экспериментов, отбор проб для исследований, а также их проведение и обработку полученных данных, принимал непосредственное участие в обсуждении полученных результатов, подготовке докладов и публикаций по результатам диссертационного исследования. В научных статьях, опубликованных совместно с А. В. Яшиным, А. В. Прусаковым, В. Д. Раднатаровым, М. П. Котылевой, Е. И. Ермоленко, Ю. К. Коваленком, С. А. Добровольским, Г. Г. Алехиной и Л. В. Громовой, основная часть работы выполнена диссертантом. Соавторы не возражают против использования данных результатов. Личный вклад соискателя в проведенных исследованиях составляет 90%.

Соответствие работы паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология, пункты: 3, 4, 6, 8, 21.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 167 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, практических предложений, рекомендаций и перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений, списка литературы и приложений. Список литературы включает в себя 246 источников, в том числе 132 отечественных и 114 иностранных авторов. Работа содержит 7 таблиц, 38 рисунков и 10 приложений.

1. ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1.1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1.1 Роль и место мембранного пищеварения в пищеварительной функции кишечника у животных

Традиционные взгляды на механизм пищеварения ранее основывались на представлении о существовании двух типов: внеклеточного и внутриклеточного. В конце пятидесятих годов прошлого столетия А. М. Уголевым был открыт мембранный тип пищеварения в кишечнике (Уголев, А. М., Иезуитова, Н. Н., Цветкова, В. А., 1986).

Мембранное пищеварение обладает некоторыми особенностями как внеклеточного, так и внутриклеточного пищеварения. У человека и высших животных заключительный этап гидролиза питательных веществ происходит в основном в тонком отделе кишечника мембранными ферментами, локализованными в гликокаликсе энтероцитов. К ним относятся: ферменты поджелудочной железы, которые адсорбируются на поверхности кишечных клеток, а также собственные кишечные ферменты, синтезирующиеся в энтероцитах (Уголев, А. М., 1991; Коротько, Г. Ф., 2022).

Активные центры мембранных ферментов ориентировано направлены в просвет тонкой кишки, что существенно отличает данный тип пищеварения от полостного и внутриклеточного (Мисаутова, А. А., 1986; Морозов, И. А., 1988; Tansey, T. et al., 2000; Метельский, С. Т., 2009).

По мере прохождения пищи через желудочно-кишечный тракт происходит последовательное и поэтапное её расщепление за счет пищеварительных ферментов. Данные ферменты относятся исключительно к гидролитическому типу.

У разных животных активность пищеварительных ферментов заметно отличается, из-за влияния адаптации к разным видам корма (Уголев, А. М., 1985; Тимофеева, Н. М., 2000).

Большинство углеводов, в рационе животных, имеет преимущественно растительное происхождение и представлены в основном крахмалом, сахарозой, лактозой, глюкозой и фруктозой. Расщепление крахмала у животных и человека начинается в полости рта под действием амилазы слюны.

В желудке гидролиз крахмала приостанавливается, поскольку там нет собственных карбогидраз, а амилаза инактивируется в кислой среде желудочного сока.

В тонкой кишке продолжается промежуточный гидролиз углеводов химуса под действием α -амилазы секрета поджелудочной железы. Участие в пищеварении у данных ферментов схожи у амилазы слюны и поджелудочной железы, однако они отличаются по своим свойствам и представляют собой отдельные изоферменты. Оба этих фермента осуществляют полостной гидролиз полисахаридов (Kushak, W. et al., 2005; Метельский, С. Т., 2010).

Олигосахариды (освобождаемые α -амилазой или поступающие с пищей) в дальнейшем гидролизуются кишечными карбогидразами – мальтазой, γ -амилазой, изомальтазой, сахаразой, лактазой и трегалазой до мономеров, которые всасываются в тонкой кишке (Уголев, А. М., 1985). Мальтаза играет ключевую роль в расщеплении углеводов, участвуя в конечных стадиях гидролиза крахмалов (Semenza, G. et al. 1981; Kushak, W. et al., 2005).

Переваривание белков пищи начинается в желудке благодаря воздействию соляной кислоты и последующему влиянию пепсина. В дальнейшем расщеплении белков участвуют протеолитические ферменты сока поджелудочной железы: трипсин, химотрипсин А, В и С, эластаза, карбоксипептидаза А и В (Коротько, Г. Ф., 2002).

В процессе участия собственно кишечных ферментов в пищеварении, происходит расщепление пептидных связей в области щёточной каймы

энтероцитов, где они расщепляются до аминокислот и затем всасываются в кровь (Kramer, W. et al., 2005; Nam, E., Lee, C., 2010).

Конечный этап гидролиза белков происходит преимущественно за счет аминопептидазы-N, которая представляет около 8,00% общего белка мембраны щеточной каймы энтероцитов тонкого кишечника и, в меньшей степени, толстой кишки. Она отсоединяет нейтральные и основные участки аминокислоты у субстратов, проявляя при этом специфичность (Уголев, А. М., 1985; Cong, Y. et al., 2015).

Триглицериды животного и растительного происхождения составляют основную массу пищевых жиров. Изначально их расщепление осуществляется в полости двенадцатиперстной кишки под действием липазы сока поджелудочной железы (Buchet, R. et al., 2013).

В процессах пищеварения немаловажную роль играет щелочная фосфатаза, которая у многих организмов экспрессируется преимущественно энтероцитами в двенадцатиперстной кишке и в значительно меньшей степени в тощей, подвздошной и толстой кишке, но практически отсутствует в желудке (Chen, K. T. et al., 2011; Martínez-Moya, P. et al., 2012). Она участвует в гидролизе моноэфиров ортофосфорной кислоты и имеет сложную молекулярную структуру (Lynes, M. et al., 2011; Moss, A. K. et al., 2013; Fawley, J. et al., 2016; Rader, B. A. et al., 2017).

Щелочная фосфатаза участвует в различных биосинтетических процессах, гидролизует глюкофосфаты, фосфолипиды, фосфонуклеотиды (Akiba, Y. et al., 2007; Geddes, K. et al., 2008).

Доказано отношение этого фермента к процессам всасывания углеводов, аминокислот, к их транспорту через клеточную мембрану, фосфорилированию, синтезу гликогена и другим процессам (Millan, J. L. et al., 2006; Goldberg, R. F. et al., 2008).

Содержание этого фермента отражает состояние пролиферативной активности клеток. При нарушении внутрисекреторной функции тонкого кишечника и специфического внутриклеточного обмена веществ происходят

значительные изменения активности щелочной фосфатазы (Морозов, И. А., 1988, 1990; Самсонович, В. А., 2013; Lassenius, M. I. et al., 2017).

Результаты ряда исследований (Estaki, M. et al., 2014; Полякова, Е. П., 2014) показали, что в процессе продвижения по кишечнику, ферменты сохраняют свою функцию и активность большинства пищеварительных ферментов наблюдается в химусе и в кале.

1.1.2 Функциональные нарушения пищеварения при желудочно-кишечных заболеваниях у животных

Пищеварительная система свиней имеет некоторые особенности. Сокращения желудка свиней слабые, пищевые массы смешиваются с желудочным соком по мере поступления корма в направлении снизу-вверх. Практически сразу после кормления, корм начинает переходить в кишечник. Также имеются выраженные возрастные особенности. До 3-недельного возраста у поросят наблюдается возрастная ахлоргидрия, характеризующаяся практически полным отсутствием выработки соляной кислоты в желудке, в результате чего ферменты желудочного сока пепсин, химозин и липаза не могут нормально участвовать в пищеварении, а также снижается бактерицидное свойство желудочного сока. К месячному возрасту содержание свободной соляной кислоты в желудке составляет 0,20%, а к 2,5-3-месячному формируется нормальное желудочное пищеварение. Все эти особенности увеличивают риск развития желудочно-кишечных заболеваний у поросят (Лаптев, Г. Ю., 2020).

В целом на ферментный спектр и распределение ферментов в тонкой кишке оказывают влияние две группы факторов: экзогенные (преимущественно типы питания) и эндогенные (гормональные и генетические), а также их определенные сочетания.

Отличительным признаком раннего постнатального периода является наличие в слизистой оболочке тонкого кишечника у большинства млекопитающих высокой активности некоторых ферментов, в частности лактазы и нейтральной β -галактозидазы. В месте с тем, тонкая кишка данных видов животных лишена или содержит недостаточные количества карбогидраз, необходимых для расщепления мальтозы, сахарозы и других дисахаридов в отличие от кишки взрослых (Коротько, Г. Ф., 2010; Кайбышева, В. О., 2017).

В случае генетических аномалий и отсутствия ферментов или белков-транспортеров, а также если их активность в пищеварительных процессах снижена, молекулы углеводов не могут полноценно быть подвержены гидролизу и дальнейшему всасыванию в системный кровоток через слизистую кишечника (Hammer, H. F. et al., 2012).

Углеводы, которые не были полноценно усвоены в тонкой кишке, в дальнейшем попадают в просвет толстой кишки, где подвергаются воздействию ферментов микробиоты с образованием короткоцепочечных жирных кислот, молочной кислоты, углекислого газа, метана, водорода и воды, вызывающих раздражение кишечника и активизацию его моторики (Lomer, M. C. E. et al., 2015).

Помимо пищевых особенностей, ключевую роль в изменении активности ферментов пищеварительного тракта в раннем периоде жизни животных играют гормональные. В начальный период развития, гормоны коры надпочечников вызывают характерные функциональные и морфологические сдвиги в желудочно-кишечном тракте. В частности, гидрокортизон оказывает влияние на активность сахаразы, мальтазы, щелочной фосфатазы и других ферментов, но не обладает такой эффективностью в отношении лактазы.

Воздействие различных стресс факторов приводит к нарушению барьерной функции кишечника под воздействием повышенных концентраций глюкокортикостероидов. В дальнейшем, длительное их воздействие приводит к воспалению в кишечнике, что способствует транслокации бактерий из кишечника в системный кровоток с последующим повышением концентрации

провоспалительных цитокинов, которые продуцируются клетками иммунной системы в ответ на происходящие изменения (Ивашкин, В. Т., 2017).

В своих работах А. М. Уголев (1963) отмечал, что щелочная фосфатаза и дисахаридазы участвуют в гидролизе пищевых субстратов находясь в составе клеток слизистой оболочки, а затем после их слущивания и разрушения в просвете кишки, выполняя тем самым свои функции и в полостном пищеварении.

А. М. Яковскис (1987) в результате проведенных исследований выявил, что у поросят, больных гастроэнтеритом, происходили изменения в полостном пищеварении, которые сопровождались повышением активности щелочной фосфатазы и снижением активности мальтазы в химусной фракции тонкой кишки, что связано с усиленным слущиванием эпителиальных клеток слизистой оболочки кишки и их распадом в просвете воспаленной кишки.

Результаты исследований Н. М. Алтухова (1989) показали, что заболевания желудочно-кишечного тракта у поросят сопровождаются выраженными нарушениями пищеварительных и транспортных функций в проксимальных участках тонкой кишки.

Л. В. Лазаренко (1999), проводя исследования при патологических состояниях органов пищеварения у поросят, установила, что активность пептидогидролаз возрастала в дистальных отделах тонкой кишки.

Аминопептидаза-N, являясь ключевым ферментом в заключительных стадиях гидролиза пищевых белков, участвует также в расщеплении биологически активных пептидов, в транспорте холестерина, в иммунных реакциях, а также может служить рецептором антигенов (Kramer, W. et al., 2005; Cong, Y. et al., 2015).

В своих работах ряд авторов указывает, что щелочная фосфатаза кишечника участвует в детоксикации провоспалительных микробных липополисахаридов (путем дефосфорилирования), предотвращает выход бактерий из просвета кишечника в организм, сохраняет нормальный гомеостаз кишечной микробиоценоза, а ее дисфункция наблюдается при воспалительных нарушениях (Millan, J. L. et al., 2006; Geddes, K. et al., 2008; Tuin, A. et al., 2009; Alam, S. N. et al.,

2014; Malo, M. S. et al., 2015; Lallès, J. P. et al., 2016; Lassenius, M. I. et al., 2017; Alvarenga, L. et al., 2020).

В целом ряде проведенных исследований доказано существование связи между повреждением гистоморфологических структур слизистой оболочки кишечника и ее функциональным состоянием (Мисаутова, А. А., 1986; Дмитриенко, В. Г., 2004; Муратова, Е. Т., 2010).

Проведенные исследования указывают на то, что патологии пищеварения во многом обусловлены структурными изменениями в слизистой оболочке и в дальнейшем приводят к нарушению всасывания нутриентов и обменных процессов в организме (Валенкевич, Л. Н., 1981; Гальперин, Ю. М., 1986; Shizgal, H. M. et al., 2001; Симаненков, В. И., 2002; Silk, D. V. et al., 2002; Johnson, L. R. et al., 2012).

1.1.3 Связь микробиоценоза кишечника с процессами переваривания и всасывания пищевых веществ

Для обозначения нормальной микрофлоры в современной литературе принято название «микробиоценоз» как эволюционно сложившееся сообщество разнообразных микроорганизмов, заселяющих открытые полости организма, определяющее биохимическое, метаболическое и иммунологическое равновесие макроорганизма.

По характеру взаимоотношений с макроорганизмом различают патогенную и непатогенную микрофлору. Если представитель факультативной микрофлоры вызвал воспалительный процесс, его рассматривают в качестве возбудителя оппортунистической инфекции.

Микробную популяцию кишечника условно разделяют на симбиотические и условно патогенные или так называемые оппортунистические микроорганизмы. В зарубежной литературе отсутствует термин «условно-патогенные микроорганизмы», в связи с чем обозначения «оппортунистические» и «условно-

патогенные» микроорганизмы используются как синонимы (Linskens, R. K. et al., 2001; Бондаренко, В. М., 2007; Рыбальченко, О. В., 2008).

Индигенная микробиота населяет как просвет кишечника, так и поверхность слизистой оболочки кишки, формируя при этом пристеночную, или мукозную, и полостную микрофлоры. Основную защитную функцию выполняет мукозная микрофлора (Минушкин, О. Н., 1999).

По приблизительным оценкам, кишечный микробиоценоз насчитывает 400 – 500 ее видов. Наибольшая плотность обсеменения отмечается в прямой кишке (400 миллиардов, или 4×10^{11} , на 1,0 г кишечного содержимого).

Исследования с использованием метагеномных методов показывают, что микробиоценоз кишечника свиней – это сложная экосистема, которая резко реагирует на различные сдвиги в общем состоянии организма животных и меняется в процессе жизни. Микробиота верхних отделов кишечника представлена в основном популяциями временно присутствующих транзиторных бактерий, которые попадают в просвет кишечника с кормом и не задерживаются на поверхности слизистой (Лаптев, Г. Ю., 2020).

В проксимальных отделах тонкой кишки обнаруживаются в основном грамположительные аэробные бактерии, такие как лактобациллы, а в дистальных отделах появляются грамотрицательные энтеробактерии (*E. coli*) и анаэробы (рода *Bacteroides*).

Наиболее разнообразен микробиоценоз толстого отдела кишечника, который представлен в основном такими микроорганизмами *Firmicutes* и *Bacteroidetes*, которые составляют до 90,0% всех бактерий (Williams, B. A. et al., 2001; Slifierz, M. et al., 2015; Нетребенко, О. К., 2021).

Микробиоценоз кишечника играет огромную роль в нормальной жизнедеятельности всего организма: подавляет рост патогенных бактерий; снижает количество продуктов белкового обмена (индола, фенола и др); участвует в синтезе витаминов, метаболизме желчных кислот, эстрогенов и билирубина (Henderson, P. et al., 2011).

Помимо нутриентов, из желудочно-кишечного тракта во внутреннюю среду организма поступает огромное количество нейропептидов и медиаторов, на выработку которых сильное влияние также оказывает микрофлора кишечника. (Никитенко, В. И., 2004; Алиев, А. А., 2007).

Бактериальная флора кишечника является своеобразным трофостатом, участвующим в расщеплении избыточных компонентов пищи и образовании недостающих продуктов для макроорганизма. Кроме того, некоторые продукты жизнедеятельности микробиоценоза принимают участие в регуляции многих процессов происходящих в организме животных (Flint, H. J. et al., 2008; Guevarra, R. V. et al., 2019).

Представители индигенной микробиоты кишечника благодаря собственным ферментам обладают способностью расщеплять муцины, которые в дальнейшем могут быть использованы в качестве источника углерода и энергии, а также позволяющие за короткое время утилизировать полисахаридные и белковые комплексы, в то время как подавляющее большинство условно-патогенных бактерий этой способностью не обладают (Карпунина, Т. И., 1998; Kim, H. V. et al., 2011; Pajarillo, E. A. V. et al., 2014).

Важную роль в переваривании кормов растительного происхождения у свиней, также как у жвачных животных, играют целлюлозолитические формы бактерий (кlostридии, руминококки, превотеллы и т.д.), которые могут представлять до 50-85% микробиоты слепых отростков кишечника (Лаптев, Г. Ю., 2020).

В большинстве бактерий *Firmicutes*, таких как *Roseburia*, *Faecalibacterium*, *Ruminococcus*, содержатся группы ферментов, которые принимают участие в расщеплении углеводов (глюкозид-гидролазы, карбогидрат-эстеразы, полисахарид-лиазы) с образованием моносахаров и короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), которые являются источником энергии для энтероцитов кишечника (Pácha, J., 2000; Zoetendal, E. G. et al., 2004; Atarashi, K. et al., 2011; Zhang, J. et al., 2015).

Ряд авторов указывает, что фирмикуты также участвуют в подавлении условно-патогенных микроорганизмов и защите от воспаления кишечника. Такие бактерии как *Lactobacillus* защищают от кишечных патогенов, конкурируя с грамотрицательными бактериями за участки связывания со слизистой оболочкой кишечника (Alain, B. et al., 2014; Нетребенко, О. К., 2021).

Желчные кислоты, поступившие в толстую кишку, расщепляются под воздействием ферментов анаэробных бактерий кишечника, что имеет важное значение, поскольку нерастворимые желчные кислоты плохо всасываются слизистой оболочкой кишечника (Шептулин, А. А., 1999; Nguyen, V. et al., 2017).

Бактерии, принадлежащие к роду *Bifidobacterium*, также являются одними из основных составляющих микробиоценоза кишечника человека и животных (Тоjo, R. et al., 2014).

Несмотря на достаточно небольшое содержание бифидобактерий в здоровом кишечнике, их присутствие благотворно влияет на организм благодаря участию в ферментации пищи и эндогенных углеводов таких как сахароза, галактоза, фруктоза, лактоза и некоторых олигосахаридов, присутствующих в грудном молоке. Также данные бактерии подавляют рост патогенных микроорганизмов за счет продукции органических кислот (уксусной, молочной) и бактериоцинов, конкурируя за рецепторы на кишечном эпителии, на которых может происходить фиксация патогенных микроорганизмов (Kato, K. et al., 2017; Bahmani, S. et al., 2019).

Бифидобактерии также участвуют в поддержании иммунной системы кишечника благодаря способностью изменять количество выделяемой слизи бокаловидными клетками и в восстановлении измененной микробиоты, существенно влияя на ее видовое разнообразие (Bahmani, S. et al., 2019).

В просвете кишечника обитают также энтерококки, которые относятся к группе молочнокислых бактерий и являются грамположительными. Большую часть энтерококков в желудочно-кишечном тракте представляют *Enterococcus faecalis*, за ними следуют *E. faecium*. Вместе с тем *E. avium* и *E. hirae*, также часто

встречаются в образцах фекалий млекопитающих (Layton, B. A. et al., 2010; Franz, C. M. et al., 2011).

Полезная роль этих бактерий для организма животных и людей развивалась на протяжении тысячелетий эволюции, однако за последние 20 лет все чаще встречается устойчивость энтерококков к противомикробным препаратам в результате чего они стали частыми представителями внутрибольничных инфекций (Leavis, H. L. et al., 2006).

Тем не менее, энтерококки обладают достаточным количеством полезных свойств, что позволяет использовать их при ферментации и консервировании пищевых продуктов, а многие применяют также в составе пробиотических препаратов и назначают для лечения людей и животных (Výrostková, J. et al., 2021).

Помимо этого, энтерококки участвуют в сбраживании и ферментации углеводов с образованием молочной кислоты (Рыбальченко, О. В., 2008).

Существуют также работы, которые показывают способность энтерококков влиять на активность ряда ферментов кишечника и вырабатываемых бактериями (Preter, V. et al., 2007; Ермоленко, Е. И., 2009).

Как утверждает в своей работе Гаврилов, В. А. (2016), не вызывает сомнения тот факт, что только симбиоз макроорганизма и микробиоценоза обеспечивает нормальное функционирование организма как животных, так и человека. Именно преобладание полезной микрофлоры в организме реализует генетический потенциал здоровья и продуктивности животных.

1.1.4 Роль микрофлоры в развитии заболеваний желудочно-кишечного тракта

В слизистой оболочке кишечника содержится около 80,00% клеток иммунного ответа, благодаря чему желудочно-кишечный тракт участвует в защите организма от проникновения в организм пищевых токсинов, патогенных

микроорганизмов и лекарственных препаратов (Николаева, Т. Н., 2004; Ручкина, И. Н., 2007).

Кишечная микрофлора участвует в поддержании колонизационной резистентности слизистой кишечника, тем самым предупреждая заболевания, которые связаны с чрезмерной контаминацией условно-патогенными микроорганизмами (Селиванова, И. Р., 2006, 2007; Leblois, J. et al., 2017).

Существует ряд механизмов, которые препятствуют избыточному росту бактерий в желудочно-кишечном тракте. К ним относятся: кислая среда желудочного сока, которая снижает рост числа микроорганизмов в тонкой кишке; сокращения кишечника, которые предотвращают застой кишечного содержимого; работа илеоцекального сфинктера, которая препятствует поступлению бактерий из толстой кишки в тонкую.

В своей работе Лизван, М. А. (2021) утверждает, что важную роль в защите от проникновения бактерий из кишечного содержимого играет слизистая оболочка желудочно-кишечного тракта. Основным барьером, который препятствует контакту внутрикишечных патогенов с эпителием является слой слизи, состоящий в основном из муцина, толщина которого увеличивается в сторону толстой кишки. Данный слой препятствует адгезии бактерий на поверхности кишечника. Стимулируют выделение слизи ряд гормонов желудочно-кишечного тракта. Под слоем слизи располагаются плотно связанные друг с другом эпителиальные клетки кишечника, которые также препятствуют проникновению бактерий во внутреннюю среду организма. В подслизистой основе сконцентрировано большое количество иммунокомпетентных клеток, которые секретируют иммуноглобулины и ряд активных веществ, а также в нем располагается сплетение энтеральной нервной системы, которое при воздействии на него ряда гормонов регулирует секрецию и моторику кишечника.

Поскольку скорость продвижения содержимого вдоль тонкой кишки превышает скорость размножения бактерий, микроорганизмы в данном участке кишечника могут находиться в течение длительного времени только благодаря их способности к адгезии на слизистой оболочке. Адгезии бактерий на поверхности

слизистой способствуют поверхностные структуры бактерий, содержащие гликолипиды (лектины), которые подходят к соответствующим рецепторам (гликопротеины) мембран энтероцитов, химический состав и структура которых заложены генетически (Карпунина, Т. И., 1998).

Одним из способов взаимосвязи непатогенной микробиоты с макроорганизмом, способствующим адекватному иммунному ответу, является способность бактерий стимулировать выработку цитокинов (Pie', S. et al., 2004).

Цитокины, как компонент гуморальных межклеточных взаимодействий в иммунной системе, являются медиаторами при гемопоэзе и развитии воспаления. Они играют значимую роль в процессе деления лимфоцитов, в первую очередь Т-клеток на субпопуляции Т-хелперов (Th) первого и второго типов, а также в дальнейшем определяют направление и исход развития иммунных процессов в сторону клеточного или гуморального ответа (Николаева, Т. Н., 2004; Pie', S. et al., 2004).

В стимуляции гуморального и клеточного иммунитета и поддержании колонизационной резистентности слизистых оболочек кишечника существенная роль отводится энтерококкам (Рыбальченко, О. В., 2008).

Как показывают результаты ряда исследований, развитие условно патогенных микробов часто связано с дефицитом бифидо- и лактофлоры. Снижение уровня бифидобактерий и лактобацилл оказывает отрицательное воздействие на секреторную функцию кишечника и на процессы всасывания, что в свою очередь, отражается на процессах белкового, липидного и минерального обменов (Карпунина, Т. И., 1998; Gänzle, M. G. et al., 2012).

Рядом авторов (Cani, P. D. et al., 2012; Нетребенко, О. К., 2021) было показано, что нарушение состояния кишечной микробиоты выражается в дисбиозе, который в дальнейшем приводит к воспалению, повышению проницаемости кишечной стенки и проникновению компонентов липополисахаридов бактериальной стенки в кровяное русло, что в дальнейшем может привести к развитию интоксикации и системного воспаления (Caesar, R. et al., 2010).

Дисбиозы кишечника сопровождаются также избыточной продукцией органических кислот, кишечного газа и этанола в результате усиленного гидролиза непереваренных компонентов корма микробами, что может повлечь за собой повышение осмолярности и снижение рН содержимого кишечника с активацией секреторной функции кишечного эпителия, изменение содержания и активности внутрипросветных и пристеночных ферментов, нарушение процессов переваривания и всасывания (Henderson, P. et al., 2011).

В большинстве случаев дисбиоз сопровождается развитием воспалительных изменений в слизистой кишки из-за прямого цитотоксического воздействия бактериальных токсинов, ферментов, липополисахаридов или антигенной стимуляции слизистой оболочки с формированием иммунных механизмов, которые могут привести к патологии в желудочно-кишечном тракте (Pie', S. et al., 2004; Cani, P. D. et al., 2012).

В результате нарушения двигательной активности кишечника, которая может протекать как с усилением, так и с замедлением его работы, нарастает количество токсических веществ, которые всасываются в кровь и лимфу (Carstensen, L. et al., 2005; Селиверстов, И. В., 2010; Полуэктова, Е. А., 2016).

Таким образом, любые нарушения в составе микробиоценоза кишечника так или иначе могут повлиять на работу всего организма. В частности, дисбактериозы в основном сопровождаются сдвигами рН кишечного содержимого и другими изменениями в работе кишечника, что в дальнейшем приводит к нарушениям мембранного пищеварения и соответственно к снижению ферментативной активности. Поэтому поддержание нормального микробиоценоза желудочно-кишечного тракта становится одной из важнейших задач в животноводстве. (Уголев, А. М., 1985; 1991; Точилина, О. А., 2015).

1.1.5 Гастроэнтериты у поросят в период отъема

В свиноводческих хозяйствах, одной из наиболее распространенных патологий, наносящих значительный экономический ущерб, являются острые кишечные заболевания поросят (Шахов, А.Г., 2003; Бригадиров, Ю. Н., 2012).

В условиях интенсификации животноводства усиливается техногенная и антропогенная нагрузка на организм животных. В этой связи, при нарушениях условий содержания, кормления и эксплуатации, происходит ослабление защитных функций организма, что способствует развитию незаразных болезней животных (Урбан, В. П., 1984; Ноздрин, Г. А., 2009; Боряева, Ю. А., 2009).

Такие патологии пищеварительного тракта, как диспепсия и гастроэнтериты занимают одно из ведущих мест неинфекционных заболеваний поросят. Отход животных при желудочно-кишечных болезнях достигает 40,00–50,00% (Урбан, В. П., 1987; Паршин, П. А., 2004; Lallès, J. P., 2007).

Период отъема – довольно сложный период в жизни поросят поскольку такие стрессовые факторы, как, смена рациона и режима кормления, скармливание неполноценных и неподходящих для данной возрастной группы животных кормов, нарушения в содержании, проведение ветеринарных мероприятий, перевод в другие помещения и перегруппировки приводят к сдвигам в работе в желудочно-кишечного тракта с последующим снижением потребления корма, возникновением диареи, замедлением роста и в дальнейшем являются причинами развития гастроэнтерита у поросят-отъемышей (Spreeuwenberg, M. A. M. et al., 2001; Stokes, C. R. et al., 2004; Спиридонов, А. Г., 2011; Li, Y. et al., 2018)

В своей работе П. А. Паршин (1999) указывает на то, что острое течение гастроэнтерита у поросят наблюдалось преимущественно в возрасте 28 – 30 дней в период отъема, а хроническое – в возрасте 45 – 60 дней в период перевода животных на откорм. При этом развивалось в основном катаральное воспаление слизистой оболочки желудка и кишечника, иногда с геморрагиями и фибринозными наложениями.

Многие изменения в физиологии кишечника делятся в течение двух недель после отъема (Boudry, G. et al., 2004).

Ряд авторов (Pierce, K. M. et al., 2007; Малашко, В. В., 2013), изучая патогенез развития гастроэнтерита, указывают на нарушение моторной, секреторной и всасывательной функций желудка и кишечника.

Поросята в «производственной» среде испытывают серьезные изменения в составе кишечной микробиоты (Hopwood, D. E. et al., 2004; Montagne, L. et al., 2004).

Основной предпосылкой развития кишечного дисбиоза является иммунодефицитное состояние, которое возникает в большинстве случаев из-за сниженного иммунного ответа в раннем возрасте животных, технологического стресса, перегруппировок, резкого перевода на новый вид корма, антибактериальной терапии, частых вакцинаций, дефицита белков и витаминов, снижения молозивного иммунитета и многих других причин, которые в дальнейшем приводят к нарушению пищеварения и баланса микробной популяции кишечника (Bruininx, E. M. et al., 2002; Konstantinov, S. R. et al., 2004; Bailey, M. et al., 2005).

Последствия иммунологической депрессии многогранны, но в первую очередь они проявляются сдвигом регуляторной функции макроорганизма, которая поддерживает баланс между нормальной и условно-патогенной кишечной микрофлорой (Панин, А. Н., 1996; Bailey, M. et al., 2001).

Установлено, что в кишечнике у поросят в период отъема значительно снижается количество бифидобактерий, лактобацилл и энтерококков по сравнению с сосунами и появляются представители условно-патогенной микрофлоры. На фоне стрессового состояния в период отъема, развивается воспаление в кишечнике, в результате которого происходит нарушение целостности эпителия кишечника и проникновение патогенов в кровеносное русло (Лаптев, Г. Ю., 2020).

Часто у поросят с дисбиозом наблюдается снижение относительной численности представителей *Firmicutes*, включая *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Ruminococcus* и *Blautia* (Yang, Q. et al., 2017).

В терапии гастроэнтеритов молодняка большое внимание уделяется борьбе с условно-патогенной микрофлорой с преимущественным использованием таких химиотерапевтических средств, как сульфаниламиды, нитрофураны и антибиотики, однако применение данных препаратов часто не оказывает ожидаемого эффекта, а способствует развитию устойчивых бактерий и дисбиозу кишечника (Бекасова, Т. П., 2003; Lalles, J. P. et al., 2007; Власова, Н. А., 2013; Терехов, В. И., 2015).

Несмотря на значительные успехи в решении данной проблемы, лечение гастроэнтеритов у поросят не всегда бывает эффективным, так как применяемые диагностические и лечебные мероприятия должны основываться на глубоком знании патогенеза болезни, который до последнего времени еще недостаточно изучен.

Поэтому в данный момент перед ветеринарной наукой стоит актуальная задача по поиску наиболее эффективных, доступных с экономической точки зрения и безопасности препаратов для терапии животных (Крашенникова, В. М., 1983; Паршин, П. А., 1999).

Стратегия лечения и профилактики острых желудочно-кишечных заболеваний поросят видится в превентивном регулировании микробиологических процессов в пищеварительном тракте животных (Huang, C. et al., 2004; Metzler, B. et al., 2005; Roselli, M. et al., 2005; Scharek, L. et al., 2005).

1.1.6 Современные пробиотические препараты в клинической практике

Широкое применение антибактериальных препаратов при терапии гастроэнтеритов часто приводит к изменению в составе и функции комменсальной кишечной микрофлоры с последующим чрезмерным ростом условно-патогенных бактерий. Это в первую очередь относится к таким сильнодействующим препаратам, как сульфаниламиды, действующие в просвете кишечника (фталазол,

сульгин, фтазин), антибиотики (пенициллины широкого спектра действия, цефалоспорины III поколения, тетрациклины), нитрофурановые вещества (Панова, Н. А., 2007; Власова, Н. А., 2013; Alam, S. N. et al., 2014).

С ограничениями на использование антибиотиков в кормах из-за растущей обеспокоенности общественности по поводу антибиотикоустойчивых бактерий как в животноводстве, так и у людей, свиноводство сталкивается с проблемами сохранения здоровья свиней, особенно после отъема (Xiong, X. et al., 2019; Uradhaya, S.-D., Kim, I.-H., 2021).

Для улучшения переваривания и усвоения организмом компонентов пищи, а также в комплексной терапии дисбиозов, в животноводстве в основном используются ферменты и пробиотики – биологические препараты из живых культур симбионтных микроорганизмов или продуктов их ферментации (Зинченко, Е. В., 2003; Voirivant, M., Strober, W., 2007; De Vrese, M., Schrezenmeir J., 2008).

Пробиотики, в отличие от антибиотиков, не вызывают привыкания со стороны условно-патогенных микроорганизмов, обладающих R-плазмидой, кодирующей устойчивость к антибиотикам (Huang, C. et al., 2004; Metzler, B. et al., 2005; Roselli, M. et al., 2005; Неминущая, Л. А., 2014; Gasbarrini, G. et al., 2016).

Опубликованные работы, доказывают, что при использовании пробиотиков наблюдаются иммунологические эффекты, включающие стимуляцию клеточного звена иммунитета и снижение роста условно-патогенной микрофлоры в кишечнике. Также некоторые пробиотические бактерии способны усиливать барьерные функции слизистой кишечника от патогенных микроорганизмов за счет повышения секреции муцина и усиления межклеточных контактов энтероцитов (Панин, А. Н., 2000; Symonds, E. L. et al., 2012; Chiang, M. L. et al., 2015; Reid, G. et al., 2017).

В то же время некоторые ученые считают, что пробиотики являются чужеродными для организма и не задерживаются в кишечнике вследствие отсутствия биологической совместимости, поскольку выращены в искусственных условиях на питательных средах. Помимо этого, есть мнения, что они могут

вызывать дисбаланс в микробной популяции кишечного микробиоценоза вследствие отличий пробиотических микроорганизмов с представителями собственной микробиоты (Дармов, И. В., 2012; Чичерин И. Ю., 2013).

Существуют также работы, указывающие на то, что сигналы от патогенных микроорганизмов и представителей нормальной микрофлоры могут по-разному восприниматься иммунной системой кишечника (Bubnov, R. V. et al., 2018; Abdelhamid, A. G. et al., 2019; Wang, H. et al., 2019).

Патогенные микроорганизмы стимулируют выход Т1-лимфоцитов в результате чего в дальнейшем происходит выработка провоспалительных цитокинов и развивается воспалительный процесс. Непатогенная микрофлора не воспринимается рецепторами иммунной системы и не активирует воспалительную реакцию. Разные штаммы пробиотиков также вероятно способны по-разному восприниматься иммунной системой кишечника (Scharek, L. et al., 2005; Lalles, J. P. et al., 2007; Shen, Y. B. et al., 2009).

В настоящее время рассматривается применение пробиотиков при разных заболеваниях у всех видов сельскохозяйственных животных. Не снижается интерес к использованию пробиотиков и в свиноводстве. Их используют в основном для профилактики желудочно-кишечных патологий, а также для увеличения привесов и снижения падежа поросят (Клименко, В. В., 2002; Елизаров, И. В., 2009).

При применении пробиотических препаратов снижается заболеваемость животных, а вместе с тем и затраты на лечение молодняка, что способствует повышению привесов, сохранности поголовья и, как следствие, увеличению валового выхода продукции (Селиванова, И. Р., 2006, 2007; Van der Peet-Schwering, C. M. C. et al., 2007; Nguyen, D. H. et al., 2018; He, Y. et al., 2020).

В настоящее время используется широкий ряд пробиотических препаратов. Это моно – и поливидовые препараты, различающиеся также по композиционному составу: бифидосодержащие, лактосодержащие, дрожжевые. Также в терапии часто применяют пребиотики, состоящие из компонентов, которые являются питательной средой для определенных микроорганизмов и синбиотики, представляющие комбинацию пре- и пробиотиков (Глушанова, Н. А., 2003;

Кудрявцева, А. В., 2007; Елизаров, И. В., 2009; Ильин В. К., 2013; Suvorov, A., 2013).

Некоторые авторы указывают на то, что конкретное воздействие на организм может быть подробно исследовано только по определенному штамму бактерий, но не видам и не целой группе микроорганизмов (Маевская, М. В., 2009).

Таким образом, в настоящее время пока до конца не выяснены общие механизмы и специфические особенности взаимодействия различных пробиотических бактерий с собственной микробиотой кишечника, лимфоидной и иммунной системой, что существенно затрудняет их использование в медицине и ветеринарии (Rambaund, J. C. et al., 2006; Delcenserie, V. et al., 2008; Borchers, A. T. et al., 2009; Ермоленко, Е. И., 2014).

Стоит также отметить, что в большинстве работ, по изучению применения пробиотических бактерий, нет убедительных доказательств их роли в лечении и поддержании ремиссии, что указывает на необходимость проведения дальнейших исследований (Барышникова, Н. В., 2014; Ивашкин, В. Т., 2017).

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на кафедре внутренних болезней животных им. А. В. Синева ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины». Изучение активности пищеварительных ферментов проводили в лаборатории физиологии питания ФГБУН «Института физиологии имени И. П. Павлова» Российской академии наук. Бактериологические исследования и полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени (ПЦР-РВ) проводили в лаборатории биомедицинской микробиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург.

Работа была выполнена на экспериментальных животных и поросятах в два этапа.

Первый этап был посвящен изучению влияния пробиотических штаммов энтерококков *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 на состояние организма, структурные изменения слизистой оболочки, микробиоценоз, и функциональную активность пищеварительного тракта на экспериментальной модели дисбиоза кишечника у лабораторных животных.

На втором этапе изучалось влияние пробиотических энтерококков *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 на общее состояние, клинико-биохимические показатели крови, микробиоценоз кишечника и активность мембранных пищеварительных ферментов при гастроэнтерите у поросят в период отъёма, а также на падеж, сохранность и прирост живой массы.

Исследования проводились в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях, Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных

целях, и мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных.

Во время проведения исследований, лабораторных животных содержали в клетках по четыре особи при постоянных условиях: комнатная температура (18,00–22,00 °С), 12-ч цикл свет/темнота, уровень шума не более 85,00 дБ, влажность 50,00–60,00%. У животных был постоянный доступ к воде и корму для лабораторных животных (ПК-120-1, гранулы диаметром 14,00 мм, Россия) (рисунок 1).



Рисунок 1 – Содержание лабораторных животных.

Первый этап исследований с экспериментальным дисбиозом кишечника проводили на 48 крысах («Вистар», самцы, масса тела 200,00–250,00 г). По принципу аналогов было сформировано четыре группы животных, которых содержали в одинаковых условиях при одинаковом кормлении. Животным контрольной группы (контроль 0) (n=12) в течение 17 дней вводили только дистиллированную воду. Экспериментальный дисбиоз кишечника у крыс в

контрольной группе (контроль 1) (n=12), опытной группе (опыт 1) (n=12) и группе (опыт 2) (n=12) вызывали ежедневным внутрижелудочным введением (с помощью иглы для кормления грызунов, 1,25×50,00 мм, изогнутая) в течение трех дней ампициллина (РУП «Белмедпрепараты», г. Минск, Республика Беларусь) в дозе 75,00 мг/кг массы тела и метронидазола (ООО «Озон», г. Жигулевск, Россия) в дозе 50,00 мг/кг массы тела, растворенные в 500,00 мкл дистиллированной воды (рисунок 2).



Рисунок 2 – Внутрижелудочное введение препаратов крысе.

Затем животным из контрольной группы (контроль 1) ежедневно в течение четырнадцати дней вводили 500,00 мкл дистиллированной воды. В опытной группе (опыт 1) крысам вводили в течение четырнадцати дней аналогичным способом и в таком же объеме пробиотический штамм *Enterococcus faecium* L-3 в дозе 1×10^8 КОЕ на животное. В опытной группе (опыт 2) крысам аналогично вводили антимикробные препараты, а затем в течение четырнадцати дней *Enterococcus faecium* 1-35 в дозе 1×10^8 КОЕ на животное. Схема первого этапа экспериментов представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Схема первого этапа экспериментов на лабораторных животных

Группа	Характер воздействия	
	1-3-й дни (в 11,00 ч. один раз в день)	4-17 дни (в 11,00 ч. один раз в день)
Контроль 0 (n=12)	Дистиллированная вода 500,00 мкл	Дистиллированная вода 500,00 мкл
Контроль 1 (n=12)	15,00 мг ампициллина и 10,00 мг метронидазола	Дистиллированная вода 500,00 мкл
Опыт 1 (n=12)	15,00 мг ампициллина и 10,00 мг метронидазола	500,00 мкл <i>Enterococcus faecium</i> L-3 1×10^8 КОЕ
Опыт 2 (n=12)	15,00 мг ампициллина и 10,00 мг метронидазола	500,00 мкл <i>Enterococcus faecium</i> 1-35 1×10^8 КОЕ

В литературных данных состояние дисбиоза в желудочно-кишечном тракте у животных характеризуется появлением клинических признаков, расстройства пищеварения и изменений в микробиоценозе кишечника (Бондаренко, В. М., 2004; Rambaud, J. С., 2006). В наших экспериментах дисбиоз кишечника мы подтверждали клинически и результатом бактериологического исследования состояния микробиоценоза.

В ходе проведения исследований регистрировали изменения в массе тела животных и количестве съеденного корма. Через три, семь и 14 дней использования пробиотических энтерококков от животных из всех групп отбирали пробы фекалий в стерильные пробирки типа эппендорф для анализа состояния микробиоценоза кишечника. Через три дня после начала применения пробиотических энтерококков из каждой группы выводили из эксперимента по четыре крысы, а через четырнадцать дней по восемь животных, путем декапитации. После этого из различных отделов тонкого и толстого кишечника отбирали пробы слизистой оболочки и химуса для определения в них активности мембранных пищеварительных ферментов: мальтазы (НФ 3.2.1.20), щелочной фосфатазы (НФ 3.1.3.1) и аминопептидазы-N (НФ 3.4.11.2). Также отбирали пробы крови для биохимического исследования.

Второй этап исследований проводили в свиноводческом хозяйстве Новгородской области на 40 поросятах породы крупная белая × ландрас в возрасте

24 дней на момент отъема. В возрасте 27 дней у животных появлялись симптомы гастроэнтерита.

До начала опыта были сформированы четыре группы животных по принципу аналогов с учетом возраста, живой массы и физиологического состояния из пометов разных свиноматок (n=10 в каждой):

- контроль 0 – клинически здоровые животные;
- контроль 1 – поросята с симптомами гастроэнтерита;
- опытная 1 – с симптомами гастроэнтерита, для лечения которых использовали пробиотический штамм *Enterococcus faecium* L-3;
- опытная 2 – с симптомами гастроэнтерита, для лечения использовали пробиотический штамм *Enterococcus faecium* 1-35 (рисунок 3).



Рисунок 3 – Формирование группы поросят.

В опытных группах поросятам в течение 14 дней перорально вводили пробиотические штаммы энтерококков в дозе 1×10^9 КОЕ (разведенные в 1,00 мл воды) на животное. В контрольных группах, вместо пробиотиков, животным перорально вводили воду по 1,00 мл в течение 14 дней.

В ходе проведения лечения, осуществляли клиническое исследование животных с использованием основных диагностических методов (осмотр; ректальное измерение температуры тела, определение частоты пульса и дыхания). Учитывали данные предоставляемые владельцем хозяйства об изменениях общего состояния животных, их аппетита и активности. До эксперимента, после семи и 14 дней применения пробиотика производили контрольное взвешивание животных.

Для анализа состояния микробиоценоза кишечника, перед началом экспериментов, а также через семь и 14 дней после начала применения пробиотических энтерококков, от животных отбирали пробы фекалий.

Через 14 дней после начала применения пробиотика, проводили отбор проб крови у поросят из яремной вены в вакуумные пробирки с активатором свертывания для проведения биохимических исследований и для изучения морфологических показателей крови в вакуумные пробирки с антикоагулянтом (ЭДТА), а также проводили забой по пять поросят из каждой группы для определения активности пищеварительных ферментов и выявления гистоморфологических изменений в кишечнике.

В клинико-экспериментальных опытах использовались два пробиотических штамма: *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35.

Enterococcus faecium L-3 (патент RU № 2220199 С1, 03.07.2002) депонирован во Всероссийском научно-исследовательском институте сельскохозяйственной микробиологии Российской Академии сельскохозяйственных наук под регистрационным номером «ND-79 ВНИИСХМ». Депозитор данного штамма – ООО «Авена», Санкт-Петербург. В ДНК генома штамма отсутствуют гены патогенности. Данный штамм устойчив к кислой среде желудка, а также проявляет антибактериальную и антимикотическую активность к патогенным и условно-патогенным штаммам микроорганизмов. Также он способен продуцировать бактериоцины, ферментирует различные сахара и спирты без образования газа, проявляет устойчивость к широкому спектру антибиотиков, но в то же время не подавляет собственные лактобациллы и бифидобактерии (Ермоленко, Е. И., 2009).

Штамм бактерий *Enterococcus faecium* 1-35 депонирован в коллекции Всероссийского государственного научно-исследовательского института контроля, стандартизации и сертификации ветпрепаратов (ВГНКИ) 20.03.2008 под регистрационным номером *Enterococcus faecium* № 1-35 ВГНКИ 08.03.53-ДЕП и хранится в коллекции микроорганизмов ООО «БИОТРОФ», СПб. Бактерии *Enterococcus faecium* 1-35 обладают устойчивостью к агрессивной среде желудочно-кишечного тракта, участвуют в синтезе витаминов, улучшают всасывание железа, макро- и микроэлементов, способствуют поддержанию и регулированию баланса кишечной микробиоты (Лаптев, Г. Ю., 2019; Меликиди, В.Х., 2020).

Отбор, транспортировку и хранение биологического материала для проведения лабораторных исследований проводили согласно «Методическим указаниям по отбору биологического материала для лабораторных исследований» с соблюдением правил асептики и антисептики (Петровский, С. В., 2017).

Биохимические исследования сыворотки крови проводили на автоматическом анализаторе VitaLine-200 (Vital Development Corporation, Россия) с использованием наборов реагентов для биохимических исследований фирмы «Витал» (Vital Development Corporation, Россия). В сыворотке крови определяли: количество общего белка, альбуминов и глобулинов, мочевины, креатинин, билирубин, аланинаминотрансферазу и аспартатаминотрансферазу, щелочную фосфатазу, амилазу, уровень глюкозы и холестерина, а также кальций, фосфор, магний и калий.

В крови животных также определяли следующие показатели: гемоглобин, количество эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов. Количество гемоглобина определяли колориметрическим методом по Сали. Подсчет форменных элементов крови проводили с помощью камеры Горяева. Лейкограмму выводили по методу Филлипченко, мазки крови для выведения лейкограммы окрашивали по Романовскому–Гимза. Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) определяли по унифицированному методу Г. М. Панченкова (1972) (Кудрявцев, А. А., 1974; Антонов, В. Я., 1974; Кислинская, Л. Г., 2014; Полозюк, О. Н., 2019).

Фекалии от животных отбирали в стерильные пробирки непосредственно из прямой кишки или из только что выделившихся при испражнении. Анализ изменения в качественном и количественном составе микробиоценоза проводили при помощи бактериологического метода и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) используя тест систему («Колонофлор», ООО «Альфалаб», Россия).

Культивирование присутствующих в фекалиях групп микроорганизмов проводили на плотные питательные среды: энтерококкагар, MRS Agar, хромагенный агар для колиформных бактерий. Инкубировали бактериологические посева в течении 24-48 часов в аэробных условиях при 37,00 °С. Выделение лактобацилл из проб фекалий осуществляли при той же температуре 48 часов в микроаэрофильных условиях (в микроанаэростатах с использованием газогенерирующих пакетов для анаэробов «Becton Dickinson», США). После инкубирования, в чашках с посевами, подсчитывали количество микроорганизмов, содержащихся в 1,00 грамме фекалий.

Полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени (ПЦР-РВ) проводили согласно инструкции к набору реагентов «КОЛОНОФЛОР» («Колонофлор» АльфаЛаб, Санкт-Петербург, Россия). Исследование состава микробиоценоза в фекальных образцах состояло из двух этапов: экстракции ДНК и амплификации специфических участков ДНК методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени. ПЦР-амплификацию и обнаружение проводили с помощью Mini Opticon (MJMini, BIORAD, Hercules, CA, USA).

Установлен необходимый температурный режим реакции (денатурация ДНК - 95,00 °С в течение трех минут, затем 58 циклов при следующих условиях: денатурация 10 секунд при 95,00 °С, отжиг праймеров 30 секунд при 55,00 °С, последний стадия – удлинение цепи ДНК при 72,0 °С в течение 60 секунд). ДНК зондов метили красителями HEX или FAM. Анализ результатов ПЦР-РВ проводили на приборе Bio-Rad. Количественную оценку анализируемых бактерий в образце отмечали в начальной точке экспоненциальной кривой роста, и

программа определяла соответствующий этой точке цикл амплификации (пороговый цикл $C(t)$). По специальной таблице (тест-система «Колонофлор») определяли количество КОЕ бактерий, содержащихся в исследуемой пробе фекалий.

Отбор материала для гистоморфологических исследований проводился из двенадцатиперстной, тощей и подвздошной кишки после убоя поросят.

Для оценки морфологических изменений структуры ткани, кусочки кишечника, шириной примерно 0,50-1,00 см, фиксировали в забуференном 10,00%-м формалине (24 ч, 22,00°C) с последующей отмывкой от фиксатора в фосфатном буфере (PBS). В дальнейшем материал проводили через ряд спиртов возрастающей концентрации для обезвоживания и заключали в парафин. Полученные с помощью микротомы Microm HM 325 (Thermo scientific) срезы толщиной 4,00 мкм помещали в водяную баню (Thermo scientific) в подогретую до 38,00 °C дистиллированную воду для расправления и затем переносили на предметные стекла, после чего оставляли на ночь в термостате при 37,00 °C для окончательной фиксации срезов на стекле. Полученные гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином по общепринятым методикам (Пирс, Э., 1962). Монтаж покровных стекол на срезах осуществлялся с помощью монтирующей среды «Витрогель» (ООО «ЭргоПродакшн», Санкт-Петербург). Анализ полученных препаратов проводили с использованием светоптического микроскопа Carl Zeiss AxioSkop 2 plus (Германия) при увеличениях 40, 100, 200 и 400. Микрофотографирование осуществляли на цифровую фотокамеру AxioCam ERc5s с использованием компьютерной программы AxioVision Rel. 4.8 (Германия). Морфометрические параметры устанавливали вручную при помощи компьютерной программы AxioVision Rel. 4.8. Все полученные морфометрические данные подвергали статистической обработке.

Активность мембранных пищеварительных ферментов определяли в гомогенатах слизистой оболочки и химусной фракции кишечника, а также в фекалиях. В состав химуса входят такие компоненты как: десквамированная слизистая оболочка, слизистые наложения, секрет бокаловидных клеток,

пищеварительные ферменты и другие вещества. Поэтому исследование химусной фракции и фекалий отражает динамическое равновесие между скоростью поступления ферментов в составе слущенного эпителия в полость кишечника и скоростью их деградации под действием ферментов полостного пищеварения и бактерий, в то время как исследование гомогенатов слизистой оболочки кишки позволяет судить об общем запасе ферментов в энтероцитах (Георгиевский, В. И., 1998; Морозов, И. А., 2002; Иванов, А. А., 2012).

После декапитации лабораторных животных вскрывали брюшную полость и извлекали тонкий и толстый отделы кишечника. Тонкий отдел кишечника делили на пять частей: условно двенадцатиперстная кишка, проксимальный (Тонкая 1) и дистальный (Тонкая 2) отделы тощей кишки, подвздошная кишка (Тонкая 3), а также толстый отдел кишечника (Тл) без слепого мешка. Каждый участок кишки промывали охлажденным раствором Рингера ($\text{pH} = 7,10\text{--}7,40$) объемом 10,00 мл для тонкого кишечника и 20,00 мл – для толстого. Далее из каждого отрезка кишки механически, при помощи шпателя, снимали слизистую оболочку и гомогенизировали. Пробы слизистой и химуса взвешивали с целью контроля массы, а также для расчета удельной активности ферментов на 1,0 г ткани. Аналогично проводили отбор материала из срединных участков двенадцатиперстной, тощей и подвздошной кишки поросят.

Гомогенаты слизистой, химуса и фекалий готовили на растворе Рингера ($\text{pH} = 7,10 - 7,40$; $T = 4,00\text{ }^\circ\text{C}$) при помощи электрического гомогенизатора с тефлоновым наконечником со скоростью 900,00 об/мин в течение двух минут. Пробирки с исследуемыми пробами инкубировали в водяном ультратермостате при температуре $37,00\text{ }^\circ\text{C}$. Экстинкцию окрашенного продукта реакции в пробах определяли на цифровом спектрофотометре PD-303S (ApeI, Япония).

Перед проведением исследований были подобраны оптимальные условия течения ферментативных реакций.

Для определения активности мальтазы использовали метод Далквиста (Dahlqvist, et al., 1964), который был усовершенствован А. М. Уголевым и Н. Н. Иезуитовой и предназначен для количественного определения глюкозы, которая

образуется в результате ферментативного гидролиза мальтозы, а в дальнейшем окисляется кислородом воздуха в присутствии глюкозооксидазы до глюконовой кислоты. При этом образуется также эквивалентное количество перекиси водорода (H_2O_2), которая в присутствии пероксидазы разлагается с выделением кислорода, окисляющего ортодианизидин с образованием окрашенного продукта (Громова, Л. В., 2008).

Реактивы:

1. Фосфатный буфер (PBS) 0,10 ммоль/л.
2. К 100,00 мл раствора №1 добавляют 4,00 мг пероксидазы хрена и 15,00 мг глюкозооксидазы.
3. К 100,00 мл раствора №2 в день опыта добавляют 6,60 мг ортодианизидина, предварительно растворенного в 0,40 мл 96,00% этанола.
4. Для остановки мальтазной активности глюкозооксидазы к четырем частям раствора №3 в день опыта добавляют одну часть 2,00 М трис-буфера.
5. 0,15 М раствор $ZnSO_4$.
6. 0,3 N раствор NaOH.
7. Субстрат 2,00% раствор мальтозы (2,00 г / 100,00 мл).
8. Раствор глюкозы – 0,05 г / 100,00 мл.

Ход определения:

Инкубацию 0,50 мл субстрата и 0,50 мл гомогената проводили при температуре 37,00 °С в течение 30 минут. Для остановки реакции и осаждения белка к пробам после инкубации добавляли 0,50 мл раствора №5 и 0,50 мл раствора №6. Образовавшийся осадок удаляли фильтрованием.

К 1,00 мл раствора №4 добавляли 0,10 мл безбелкового фильтрата. Пробы выдерживали при комнатной температуре в течение 30 минут.

Измерение степени окраски проводили на спектрофотометре при длине волны 440 нм и сравнивая его оптическую плотность со стандартным раствором глюкозы (0,050% раствор), определяли количество глюкозы.

Активность мальтазы рассчитывалась по формуле (1).

$$\text{Активность} = \frac{2,8 \cdot K_{разв}}{E_k \cdot T_{инк}} \cdot E_{пробы} \quad (\text{мкмоль/мин/г}), \quad (1)$$

где

2,8 – концентрация контрольного раствора глюкозы (ммоль/л);

E_k – экстинция контроля глюкозы;

$E_{пробы}$ – экстинция пробы;

$T_{инк}$ – время инкубации;

$K_{разв}$ – коэффициент разведения исходного ферментативного материала.

Активность щелочной фосфатазы определялась с использованием в качестве субстрата п-нитрофенилфосфата (0,60 мМ), приготовленного на растворе Рингера (рН 7,20 – 7,40). Экстинцию окрашенного продукта реакции определяли против своего контроля на длине волны 405 нм.

Реактивы:

1. Субстрат 0,60 мМ раствор п-нитрофенилфосфата на растворе Рингера.
2. 0,2 N раствор гидроокиси натрия (NaOH) для остановки реакции.

Ход определения:

К 1,00 мл 0,60 мМ раствора п-нитрофенилфосфата добавляли 1,00 мл гомогената, инкубировали 15 минут при исследовании ферментативной активности в слизистой и 20 минут при исследовании в химусе или фекалиях. Реакцию останавливали добавлением 0,40 мл 0,2 N раствора NaOH.

Расчет активности щелочной фосфатазы (мкмоль/мин/г) приведен в формуле (2).

$$\text{ЩФ} = \frac{0,1 \cdot \text{коэффициент разведения}}{0,8 \cdot T} \cdot E_{пробы} \quad (\text{мкмоль/мин/г}), \quad (2)$$

где

0,1 – концентрация п-нитрофенилфосфата;

$0,8$ – экстинкция стандарта;

$E_{\text{пробы}}$ – экстинкция опыта;

T – время инкубации.

Определение активности аминопептидазы-N проводили по методу Фарра (Farr W. A. al., 1968). В качестве субстрата использовали 0,75 мМ раствор L-Alanine- β -naphthylamide в фосфатном буфере (50,00 мМ; pH 7,00).

Принцип метода: освобожденный из субстрата (L-Alanine- β -naphthylamide) под действием аминопептидазы-N β -нафтиламин в растворе с 4,00% диметиламинобензальдегидом (ДАБ) дает желтую окраску.

Реактивы:

1. Субстрат L-Alanine- β -naphthylamide (Sigma A2628) 0,75 мМ (мол. вес = 214,30)
32,14 мг субстрата+100,00 мл H₂O+несколько капель 1N HCL+100,00 мл фосфатного буфера (объем субстрата=200,00 мл), довести до pH=7,00-7,40.
2. Фосфатный буфер:
 - а) KН₂PO₄ – 13,62 г/л,
 - б) Na₂HPO₄*12 H₂O – 35,85 г/л
 Смешать 194 мл реактива (а) и 306,00 мл реактива (б) так, чтобы получить pH=7,10-7,40. Затем добавить 500,00 мл H₂O,
3. 0,4 N раствор соляной кислоты (HCl) – 200,00 мл 1N HCL + 300,00 мл H₂O
4. Раствор диметиламинобензальдегида (40,00 г/л) – 4,00 г ДАБ растворить в 100,00 мл этилового спирта 96,00 %.

Ход определения:

После инкубации смеси 0,50 мл субстрата и 0,10 мл гомогената при температуре 37,00°C 15 минут при исследовании ферментативной активности в слизистой и 20 минут при исследовании в химусе или фекалиях, реакция останавливалась добавлением 1,00 мл 0,4 N раствора соляной кислоты. После прибавления к исследуемой смеси 1,00 мл диметиламинобензальдегида

определялась экстинкция окрашенного продукта реакции на спектрофотометре при длине волны 450 нм против своих контролей.

Активность аминопептидазы-N рассчитывалась по формуле (3).

$$AAP = \frac{0,465 \cdot \text{коэффициент разведения}}{\text{время инкубации}} \cdot E \text{ пробы (мкмоль/мин/г)}, \quad (3)$$

где

E – экстинкция в опытных пробах;

0,465 – коэффициент пересчёта, подобранный опытным путём, для определённого времени инкубации по калибровочной кривой для нафтиламида.

Для каждого фермента рассчитывались значения удельной (мкмоль/мин/г) активности с учетом массы слизистой оболочки, химуса из участка кишки или фекалий.

Для статистических сравнений использовали пакет программ Statistica 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, США). Сравнения морфологических и биохимических данных проводили с помощью t-теста Стьюдента. Различия считались статистически значимыми при $P \leq 0,05$.

2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.2.1 Изучение влияния пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 в коррекции экспериментального дисбиоза у лабораторных животных

2.2.1.1 Изучение изменения массы тела и потребления корма на разных сроках эксперимента

Введение крысам ампициллина и метронидазола привело к развитию у крыс симптомов дисбиоза кишечника, а именно, у животных наблюдалась полифекалия, изменение консистенции фекалий, а также снижение аппетита и веса. Данные симптомы появлялись через 24 ч после введения препаратов и сохранялись у некоторых животных из группы без коррекции дисбиоза (контроль 1) в течение всего периода наблюдений. В то время, как уже через 24-48 ч использования пробиотического штамма *Enterococcus faecium* L-3, у крыс группы опыт 1 исчезали клинические симптомы дисбиоза кишечника.

После введения в течении трех дней антибактериальных препаратов у крыс контрольной (контроль 1) и опытных групп (опыт 1 и опыт 2) наблюдалось снижение массы тела по сравнению с контрольной группой (контроль 0) (рисунок 4).

В первые дни введения пробиотических энтерококков масса тела животных как в опытных группах (опыт 1 и опыт 2), так и в группе без коррекции дисбиоза (контроль 1) оставалась сниженной в среднем на 6,49% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0). Через пять дней после начала введения пробиотических энтерококков масса тела животных была практически одинаковой во всех группах. В дальнейшем, у животных, которым вводили в течении 14 дней

Enterococcus faecium L-3 (опыт 1) и *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2), наблюдался менее заметный прирост массы тела по сравнению с контрольными группами контроль 0 и контроль 1 (без применения пробиотических энтерококков). Так, к моменту завершения эксперимента масса тела крыс из группы опыт 1 была ниже на 6,83% ($P \leq 0,05$) по сравнению животными из группы контроль 1. Однако, масса тела у крыс группы опыт 2, которым вводили *Enterococcus faecium* 1-35, была выше на 2,78% ($P \leq 0,05$), чем у животных из группы опыт 1.

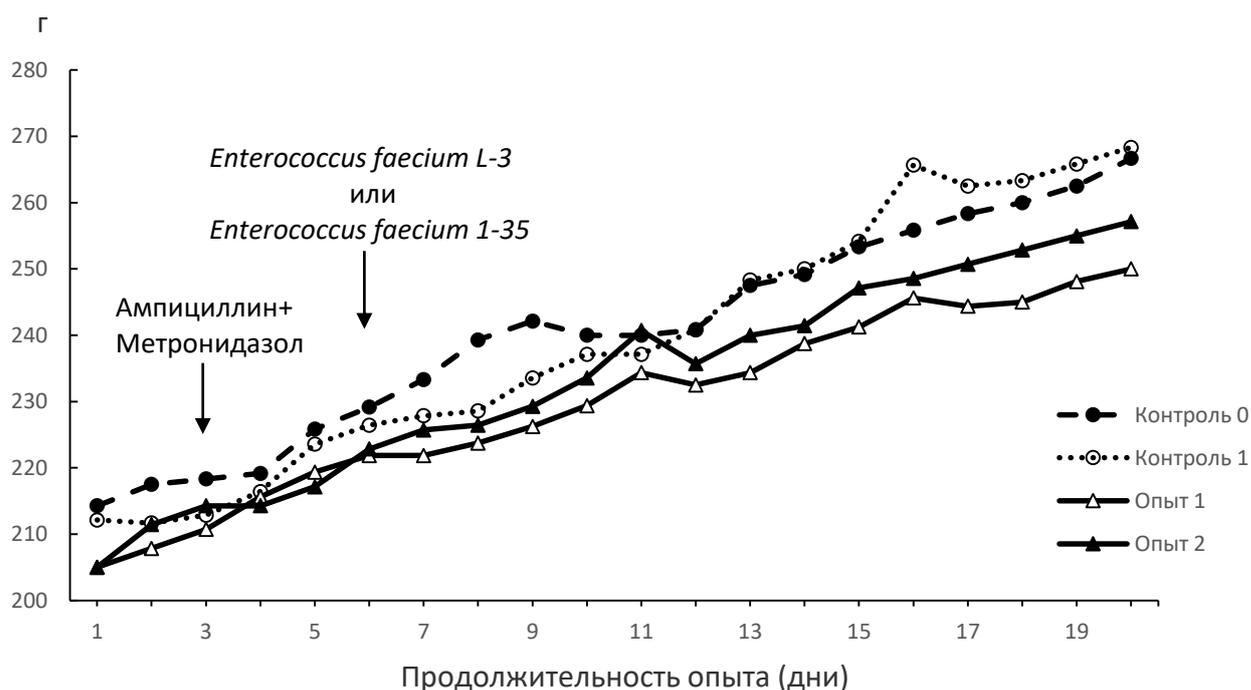


Рисунок 4 - Масса тела крыс на разных сроках эксперимента, г.

Аналогичный эффект наблюдался и в отношении потребления животными корма на протяжении всего эксперимента. Также, как и масса тела, потребление корма снижалось после введения антибактериальных препаратов в группах контроль 1, опыт 1 и опыт 2, а затем повышалось до практически одного уровня с группой здоровых животных (контроль 0) через пять дней применения пробиотических энтерококков. В дальнейшем, животные из групп опыт 1 и опыт 2 съедали незначительно меньше корма, чем животные из контрольных групп контроль 0 и контроль 1 (рисунок 5).

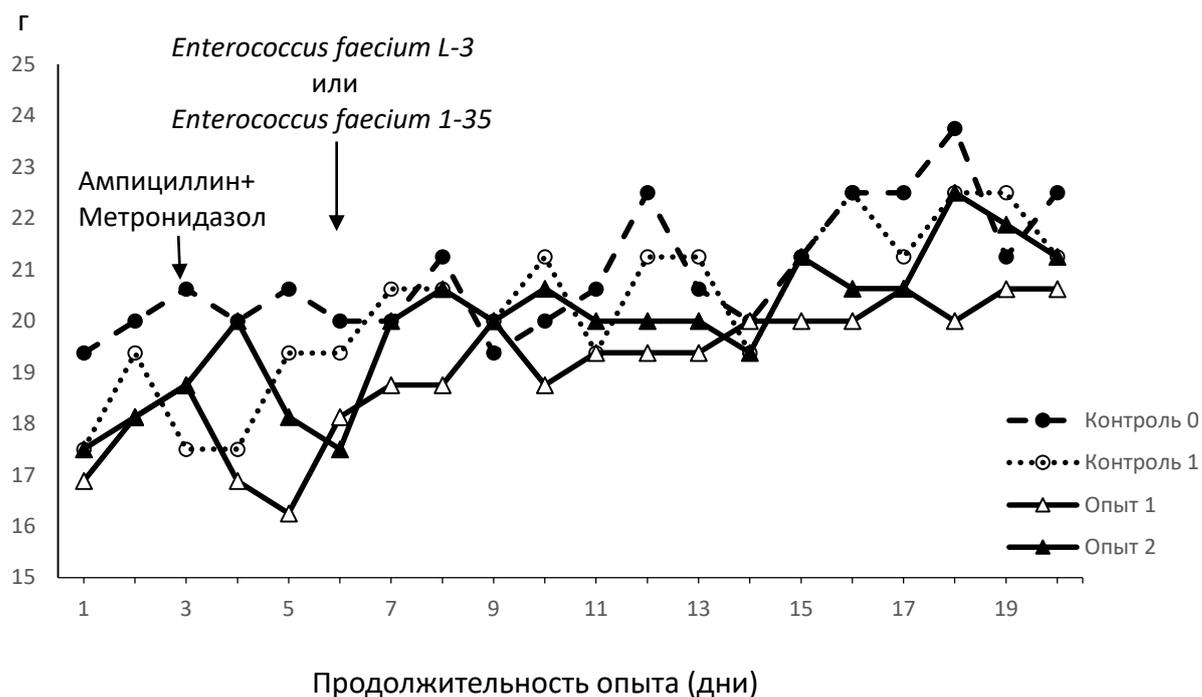


Рисунок 5 – Потребление корма животными (грамм на одну крысу).

2.2.1.2 Результаты биохимических показателей крови крыс при экспериментальном дисбиозе

Результаты биохимического анализа крови через 3 дня применения пробиотических энтерококков для коррекции дисбиоза представлены в таблице 2. В группе без применения пробиотических энтерококков (контроль 1) наблюдалось повышение щелочной фосфатазы на 30,58% ($P \leq 0,05$) и липазы на 59,40% ($P \leq 0,05$), а также снижение фосфора на 27,91% ($P \leq 0,05$) и калия на 7,54% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0). В то же время, применение пробиотиков (опыт 1 и опыт 2) способствовало поддержанию биохимических показателей крови практически на уровне здоровых животных. Так, уровень щелочной фосфатазы после применения *E. faecium* 1-35 (опыт 2) снизился на 33,35% ($P \leq 0,05$), а липазы - на 42,89% ($P \geq 0,05$) по сравнению с группой без коррекции дисбиоза (контроль 1).

Результаты биохимического анализа крови через 14 дней коррекции дисбиоза представлены в таблице 3. Из полученных данных видно, что в группе крыс без применения пробиотических энтерококков после отмены антибиотиков (контроль 1) обнаружено снижение (по сравнению с контролем 0) активности амилазы на 13,80% ($P \leq 0,05$), липазы на 70,24% ($P \geq 0,05$) и аспаратаминотрансферазы на 7,05% ($P \geq 0,05$), а также уровня магния на 8,45% ($P \geq 0,05$) и холестерина на 15,58% ($P \leq 0,05$). В отличие от контроля 1, в опытных группах биохимические показатели крови практически не отличались от здоровых животных (контроль 0). В группе животных, получавших на протяжении 14 дней *E. faecium* L-3 (опыт 1) были выше показатели амилазы на 11,31% ($P \leq 0,05$), холестерина на 14,36% ($P \leq 0,05$), а также снижен уровень фосфора на 9,90% ($P \leq 0,05$) по сравнению с контролем 1. В то же время, в группе животных, которым вводили *E. faecium* 1-35 (опыт 2), был выше уровень амилазы на 13,91% ($P \leq 0,05$), липазы на 81,78% ($P \leq 0,05$) и аспаратаминотрансферазы на 13,23% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой без коррекции дисбиоза (контроль 1). Также был выше уровень магния на 14,20% ($P \leq 0,05$), кальция на 7,15% ($P \leq 0,05$) и калия на 5,03% ($P \leq 0,05$).

Таким образом на основании полученных данных можно заключить, что применение пробиотических энтерококков *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 для коррекции дисбиоза способствует улучшению обмена веществ в организме животных.

Таблица 2 - Результаты биохимических показателей сыворотки крови крыс после трех дней коррекции дисбиоза (M±m)

Показатели	Единицы измерения	Группы животных			
		Контроль 0 (n=4)	Контроль 1 (n=4)	Опыт 1 (n=4)	Опыт 2 (n=4)
Амилаза	ед/л	1776,08±72,32	1767,72±97,66	1751,31±16,50	1688,89±42,01
Щелочная фосфатаза	ед/л	115,22±12,53	165,98±13,63 *	181,53±36,48	110,62±3,54 *
Липаза	ед/л	47,41±20,17	116,77±4,64 *	63,68±29,85	66,69±30,91
АсАт	ед/л	138,15±5,33	123,72±2,78	155,14±18,43	177,89±8,85 *
АлАт	ед/л	25,56±1,85	26,41±0,52	32,35±3,25	28,73±1,25
Глюкоза	ммоль/л	7,15±0,15	7,01±0,18	7,33±0,04	7,19±0,19
Магний	ммоль/л	0,76±0,06	0,64±0,04	0,73±0,05	0,64±0,02
Фосфор	ммоль/л	1,96±0,05	1,41±0,077 *	1,63±0,20	1,68±0,10
Холестерин	ммоль/л	0,57±0,02	0,52±0,05	0,54±0,01	0,52±0,03
Кальций	ммоль/л	2,62±0,06	2,47±0,04	2,62±0,09	2,50±0,05
Калий	ммоль/л	7,69±0,09	7,11±0,04 *	7,28±0,25	7,43±0,30

Примечание: * $P \leq 0,05$; достоверность в группе контроль 1 указана к группе контроль 0; в группе опыт 2 к группе контроль 1.

Таблица 3 - Результаты биохимических показателей сыворотки крови крыс после 14 дней коррекции дисбиоза (M±m)

Показатели	Единицы измерения	Группы животных			
		Контроль 0 (n=8)	Контроль 1 (n=8)	Опыт 1 (n=8)	Опыт 2 (n=8)
Амилаза	ед/л	1752,39±65,81	1510,56±55,68 *	1703,11±33,31 *	1754,64±45,46 *
Щелочная фосфатаза	ед/л	116,48±10,14	127,12±7,87	122,95±6,08	135,62±8,73
Липаза	ед/л	42,88±17,56	12,76±0,29	23,40±11,16	70,04±16,28 *
АсАт	ед/л	134,81±5,22	125,31±2,24	141,97±7,15	144,41±5,65 *
АлАт	ед/л	25,61±1,47	26,24±1,21	24,59±1,28	27,19±0,65
Глюкоза	ммоль/л	7,13±0,10	7,01±0,20	7,05±0,16	7,39±0,12
Магний	ммоль/л	0,75±0,03	0,68±0,03	0,75±0,03	0,80±0,03 *
Фосфор	ммоль/л	1,94±0,05	1,93±0,11	1,74±0,05 *	1,97±0,04
Холестерин	ммоль/л	0,57±0,01	0,48±0,01 *	0,56±0,01 *	0,53±0,02
Кальций	ммоль/л	2,59±0,07	2,46±0,06	2,46±0,04	2,64±0,05*
Калий	ммоль/л	7,74±0,09	7,37±0,07	7,40±0,13	7,76±0,12 *

Примечание: * $P \leq 0,05$; достоверность в группе контроль 1 указана к группе контроль 0, а в опытных группах (опыт 1 и опыт 2) указана к группе контроль 1.

2.2.1.3 Изучение состояния микробиоценоза кишечника у лабораторных животных

Ранее нами (Громова, Л. В. и др., 2018) в аналогичных экспериментальных условиях, в фекалиях крыс, после трехсуточного применения антибактериальных препаратов, наблюдалось снижение содержания бифидобактерий, лактобацилл и фекалобактерий, увеличение популяции энтерококков, кишечной палочки и бактероидов. Также у данных животных в фекалиях были обнаружены протеи, а в некоторых случаях и клебсиелла в количестве более 4,00 lg КОЕ/г, что служит прямым подтверждением развития дисбиоза кишечника в условиях используемой экспериментальной модели.

С целью установления и изучения микробной качественно-количественной характеристики микробиоценоза кишечника у лабораторных животных нами проводились исследования фекалий методом ПЦР-РВ через три и 14 дней применения пробиотических энтерококков, а также бактериологически на седьмой день коррекции дисбиоза.

Результаты исследования микробиоценоза в фекалиях методом ПЦР-РВ показали, что уже через три дня от начала применения *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) общая бактериальная масса и *Bacteroides spp.* были выше на 12,21% ($P \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой (контроль 1) и на 8,40% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой животных, получавших *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2). Содержание *Bifidobacterium spp.* и *Faecalibacterium prausnitzii* в группе (опыт 1) также было выше, чем в группе опыт 2, на 17,41% ($P \leq 0,05$) и 13,64% ($P \leq 0,05$) соответственно. В то же время, содержание *Acinetobacter spp.* в фекалиях крыс, которым не вводили пробиотические энтерококки (контроль 1), было ниже на 26,47% ($P \leq 0,05$), по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0) (рисунок 6).

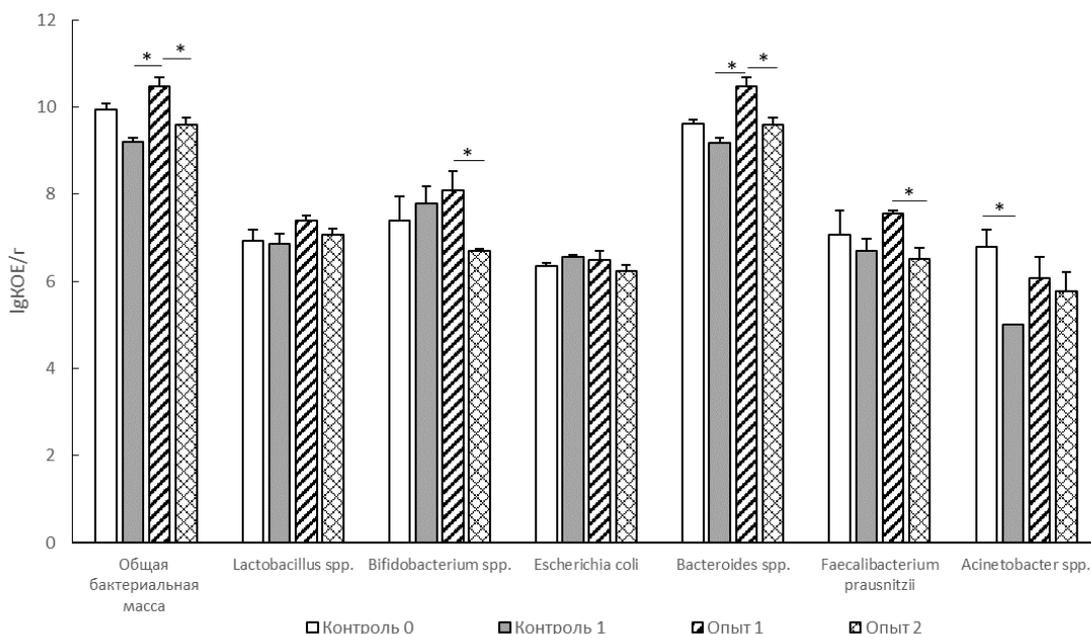


Рисунок 6 – Результат ПЦР-РВ фекалий крыс через три дня после применения пробиотических энтерококков, * $P \leq 0,05$.

При бактериологическом исследовании фекалий животных, через семь дней коррекции дисбиоза, были обнаружены изменения в составе бактерий *Enterococcus spp.*, *Escherichia coli* и *Lactobacillus spp.* (рисунок 7).

Анализ полученных результатов показал, что после введения антибактериальных препаратов в фекалиях крыс, которым не вводили пробиотики (контроль 1) наблюдалось увеличение количества *Escherichia coli* по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0) на 9,98% ($P \geq 0,05$). В опытных группах (опыт 1 и опыт 2) количество кишечной палочки было близко к группе здоровых животных (контроль 0). Количество *Enterococcus spp.* в фекалиях животных из группы опыт 2 было незначительно больше по сравнению с группой опыт 1 и контрольными группами (контроль 0 и контроль 1). В то же время, после применения *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) и *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2), наблюдалось повышение количества лактобацилл в среднем на 9,55% ($P \geq 0,05$) по сравнению с животными без коррекции дисбиоза (контроль 1) (рисунок 7).

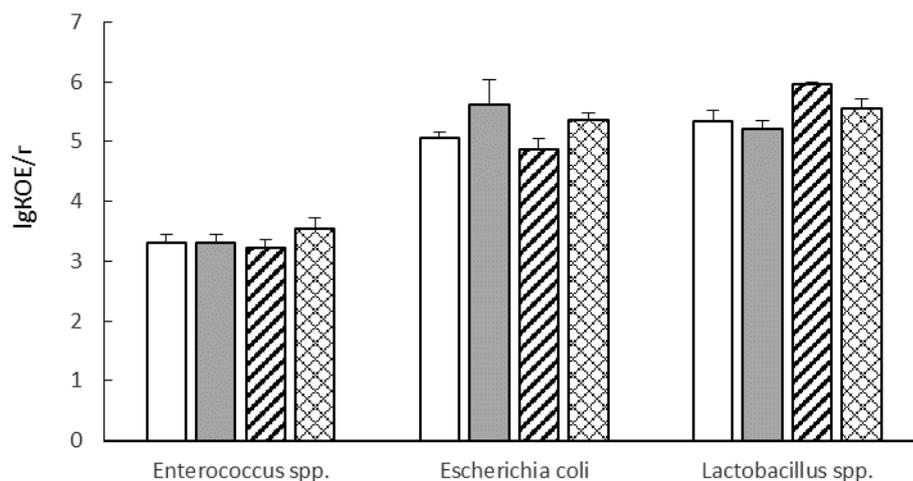


Рисунок 7 – Результаты бактериологического исследования фекалий крыс через семь дней после применения пробиотических энтерококков, * $P \leq 0,05$.

Анализ результатов ПЦР-РВ через 14 дней после отмены антибактериальных препаратов и начала введения пробиотических энтерококков показал, что общая бактериальная масса и содержание *Bacteroides spp.* было выше как в группе без применения пробиотиков (контроль 1), так и в опытных группах (опыт 1 и опыт 2) на 16,66% ($P \leq 0,05$), 15,52% ($P \leq 0,05$) и 8,99% ($P \leq 0,05$) соответственно по сравнению с группой животных без дисбиоза (контроль 0). При этом содержание *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* и *Escherichia coli* было практически одинаковым во всех группах, однако содержание лактобацилл в группе (контроль 1) было выше, чем в группе (опыт 2), на 7,17% ($P \leq 0,05$). В группе без применения пробиотических энтерококков (контроль 1) также было выше содержание *Faecalibacterium prausnitzii* на 16,88% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой контроль 0 и на 6,85% ($P \leq 0,05$) с группой после применения *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1). В то же время оставалось сниженным содержание *Acinetobacter spp.* в группе контроль 1 на 8,19% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0) (рисунок 8).

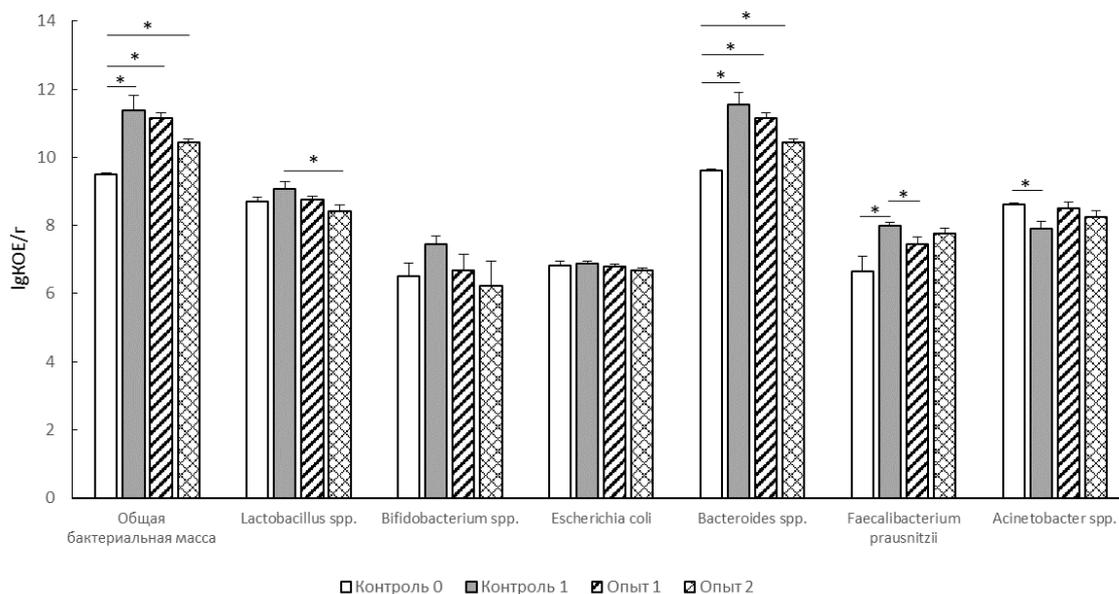


Рисунок 8 – Результат ПЦР-РВ фекалий крыс через 14 дней после применения пробиотических энтерококков, * $P \leq 0,05$.

Таким образом, полученные данные в результате проведенных бактериологических исследований и ПЦР-РВ свидетельствуют о том, что применение *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) и *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2) для коррекции дисбиоза кишечника, способствуют более быстрому восстановлению микробиоценоза желудочно-кишечного тракта у экспериментальных животных.

2.2.1.4 Определение массы слизистой оболочки и химуса кишечника у крыс

Известно, что антибактериальные препараты могут вызывать структурные и функциональные изменения в кишечнике млекопитающих (McFarland L., 1998). В нашем исследовании мы измеряли массу слизистой оболочки и химуса в различных отделах кишечника через три и четырнадцать дней ежедневного внутрижелудочного введения *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) и *Enterococcus*

faecium 1-35 (опыт 2), для коррекции дисбиоза, или воды (контроль 1), а также у здоровых животных (контроль 0) (рисунок 9).

Как можно видеть на рисунке 9А, масса слизистой оболочки тонкого отдела кишечника в группе животных, получавших антибактериальные препараты, а затем воду (контроль 1), была достоверно выше, чем в группе здоровых животных (контроль 0). Так, масса слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки была выше в группе с дисбиозом (контроль 1) по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0) на 27,66% ($P \leq 0,05$); в проксимальном отделе тощей кишки – на 49,42% ($P \leq 0,05$); в подвздошной – на 43,55% ($P \leq 0,05$). В то же время отмечалось снижение массы слизистой оболочки в тонком отделе кишечника у животных опытных групп в результате применения в течение трех дней *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) и *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2) по сравнению с контрольной группой (контроль 1). Так, масса эпителия слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки была ниже в группе (опыт 1) на 17,01% ($P \leq 0,05$) и на 18,82% ($P \leq 0,05$) в группе (опыт 2); в проксимальном отделе тощей кишки – на 28,77% ($P \geq 0,05$) и 23,26% ($P \leq 0,05$) соответственно; в подвздошной кишке у животных группы (опыт 1) – ниже на 32,80% ($P \leq 0,05$) (рисунок 9А).

Применение *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) в течении четырнадцати дней способствовало повышению массы эпителия слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки на 16,35% ($P \leq 0,05$), но в то же время снижению в дистальном участке тощей кишки на 33,04% ($P \leq 0,05$) и на 28,13% ($P \leq 0,05$) в толстом отделе кишечника по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0) (рисунок 9Б).

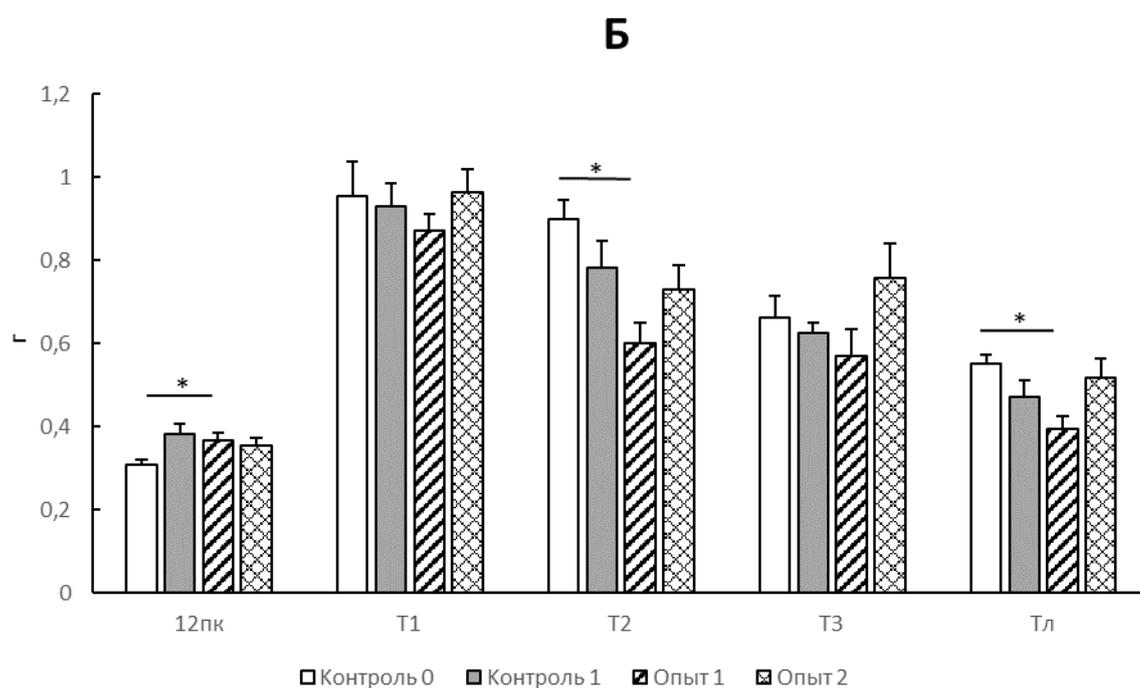
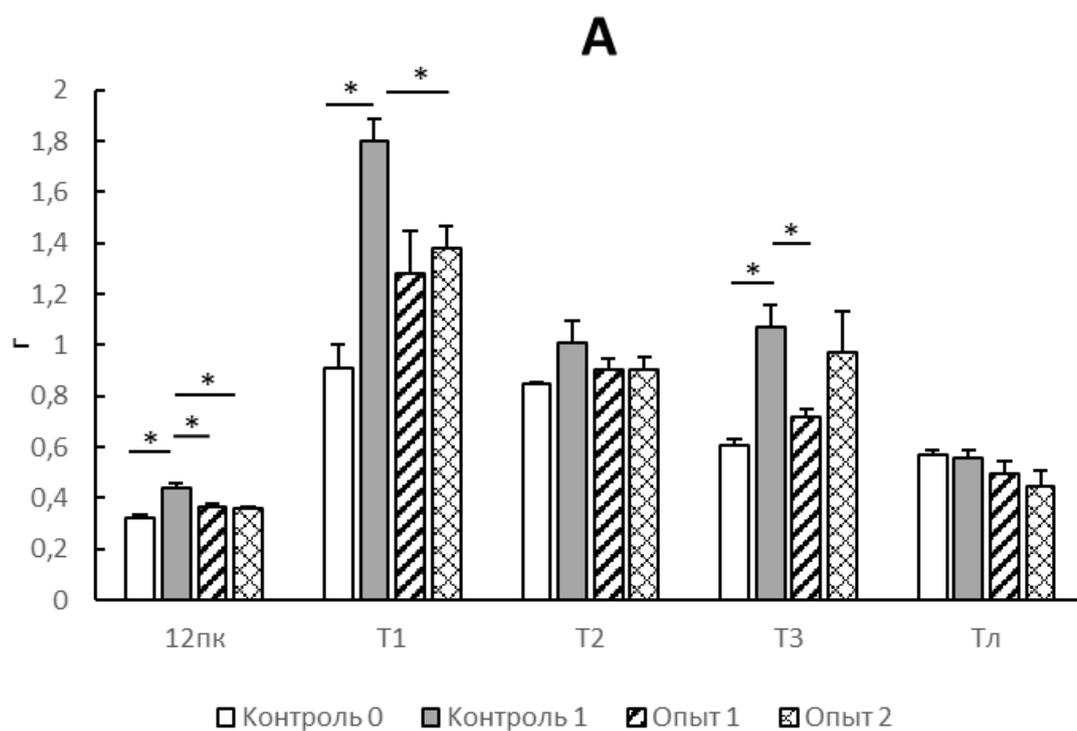


Рисунок 9 - Масса слизистой оболочки кишечника крыс через три (А) и четырнадцать (Б) дней применения пробиотических энтерококков, * $P \leq 0,05$.
 Примечание: 12пк – двенадцатиперстная кишка, T1, T2 – проксимальный и дистальный участок тощей кишки; T3 – подвздошная кишка; Тл – толстая кишка.

Изменение массы химуса в различных участках кишечника показано на рисунке 10. Через трое суток после введения антимикробных препаратов масса химуса была достоверно выше (по сравнению с контролем 0) во всех отделах кишечника, за исключением толстой кишки, как у животных без коррекции дисбиоза (контроль 1), так и после введения пробиотиков (опыт 1 и опыт 2). Однако, применение *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2) способствовало снижению массы химуса в подвздошной кишке на 44,33% ($P \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой без коррекции дисбиоза (контроль 1) и на 48,83% ($P \leq 0,05$) – по сравнению с группой животных, которым вводили *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) (рисунок 10А).

Через четырнадцать суток применения пробиотических энтерококков масса химуса в опытных группах животных была выше только в дистальном участке тощей кишки по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0). Так, в группе (опыт 1) масса химуса была выше на 32,86% ($P \geq 0,05$), а в группе (опыт 2) – на 41,18% ($P \leq 0,05$). В то же время, масса химуса в толстой кишке у крыс, которым вводили *E. faecium* L-3 (опыт 1), была ниже на 42,14% ($P \leq 0,05$), а в группе с *E. faecium* 1-35 (опыт 2) – на 33,91% ($P \geq 0,05$) по сравнению с контрольной группой без коррекции дисбиоза (контроль 1) (рисунок 10Б).

Таким образом, проведенные экспериментальные исследования показали, что применение пробиотических энтерококков способствует восстановлению структурных и функциональных характеристик в кишечнике после нарушений, вызванных дисбиозом у крыс, в более короткие сроки.

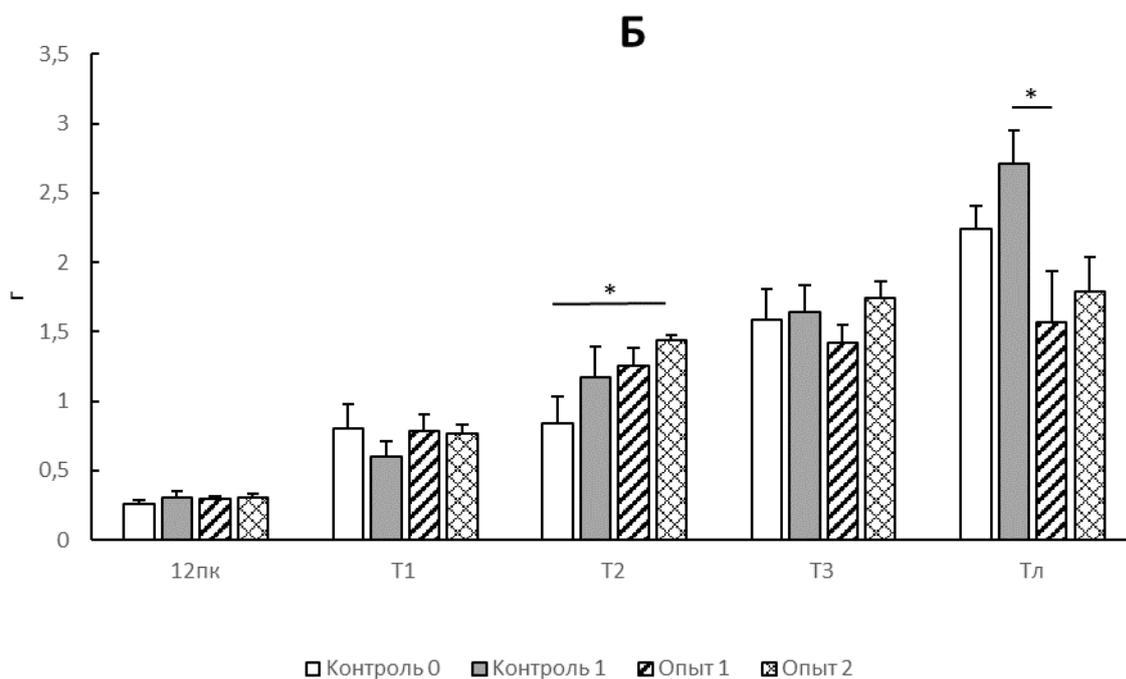
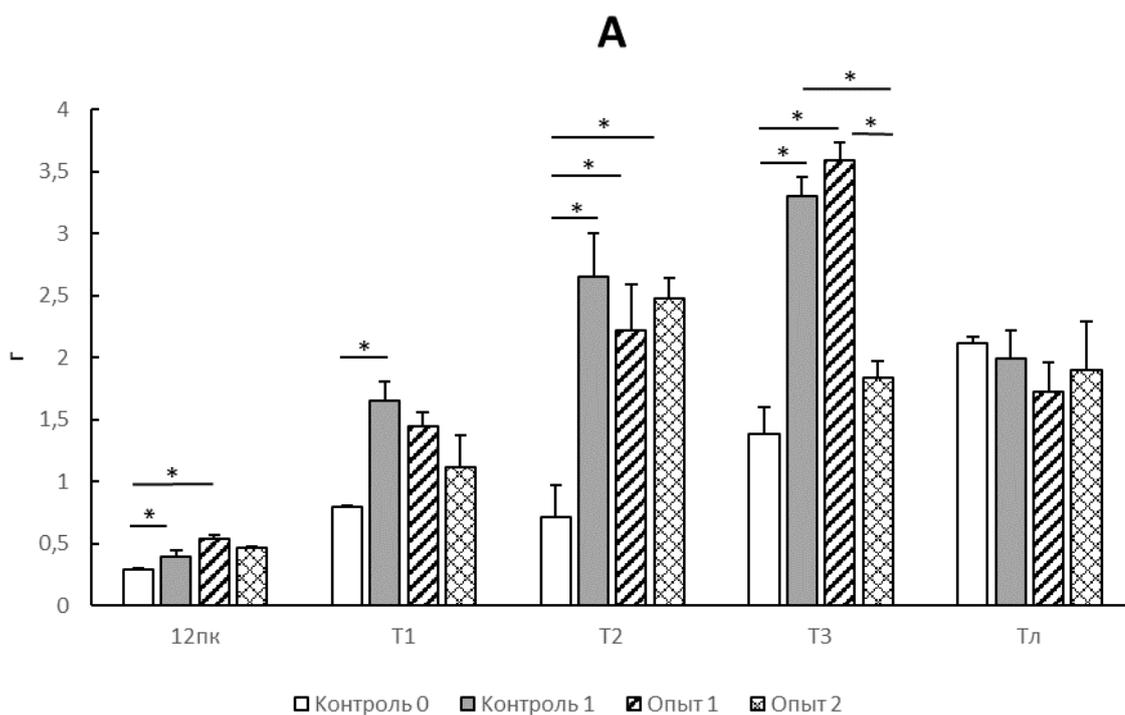


Рисунок 10 - Масса химуса в кишечнике крыс через три (А) и четырнадцать (Б) дней применения пробиотических энтерококков, * $P \leq 0,05$.

Примечание: 12пк – двенадцатиперстная кишка, Т1, Т2 – проксимальный и дистальный участок тощей кишки; Т3 – подвздошная кишка; Тл – толстая кишка.

2.2.1.5 Изучение активности пищеварительные ферментов в гомогенате слизистой оболочки различных отделов кишечника

В этой серии опытов мы определяли удельную (мкмоль/мин/г) активность мальтазы, щелочной фосфатазы и аминопептидазы-N, в гомогенате слизистой оболочки из различных отделов кишечника крыс через трое и 14 суток после ежедневного внутрижелудочного введения *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) и *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2), для коррекции дисбиоза, или воды (контроль 1), а также у здоровых животных (контроль 0).

Мальтаза. В настоящей работе мы определяли активность мальтазы — мембранного фермента, участвующего в заключительных стадиях гидролиза гликогена и крахмала (Уголев, А. М., 1986; Тимофеева, Н. М., 2000).

Как видно на рисунке 11А, через три дня после введения антибактериальных препаратов, в группе животных без коррекции дисбиоза (контроль 1) наблюдалось повышение удельной активности мальтазы по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0) в тонкой и толстой кишке.

Применение в течение трех дней *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) для коррекции дисбиоза способствовало снижению удельной активности мальтазы до уровня близкого к группе здоровых животных (контроль 0). Так, в двенадцатиперстной кишке активность фермента была ниже на 50,91% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой без коррекции дисбиоза (контроль 1).

Аналогичный результат наблюдался после применения *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2). Так, в двенадцатиперстной кишке удельная активность была ниже на 28,52% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой без применения пробиотиков (контроль 1).

Через 14 дней после введения антибактериальных препаратов оставалось незначительное повышение удельной активности мальтазы в группе без применения пробиотиков (контроль 1) по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0) и с группами на фоне применения *E. faecium* L-3 (опыт 1) и *E. faecium* 1-35 (опыт 2) (рисунок 11Б). Так, в дистальном участке тощей кишки в

группе без коррекции дисбиоза (контроль 1) удельная активность фермента была выше на 25,17% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой животных, которым вводили *E. faecium* 1-35 (опыт 2). В опытных группах (опыт 1 и опыт 2) активность мальтазы в гомогенате слизистой оболочки была близка к группе без дисбиоза (контроль 0) по всей длине кишечника.

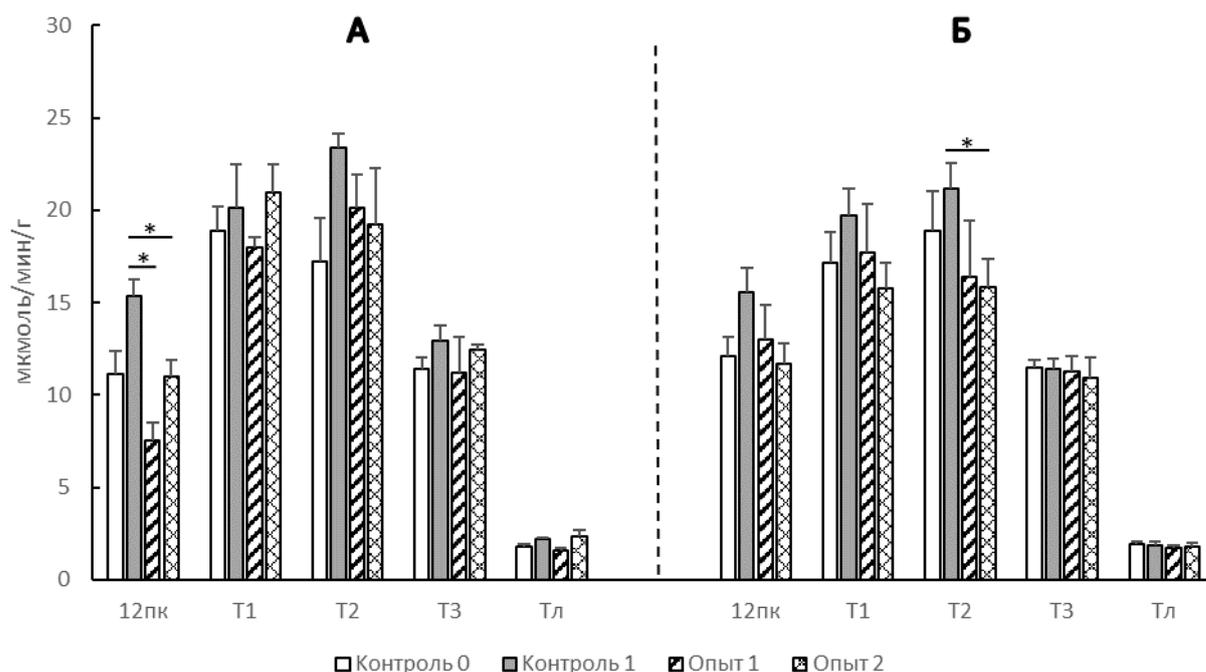


Рисунок 11 – Удельная активность мальтазы в слизистой оболочке различных участков кишечника крыс после трех (А) и четырнадцати (Б) дней введения пробиотических энтерококков (опыт 1 и опыт 2) или воды (контроль), * $P \leq 0,05$.

Примечание: 12пк – двенадцатиперстная кишка, Т1, Т2 – проксимальный и дистальный участок тощей кишки; Т3 – подвздошная кишка; Тл – толстая кишка.

Щелочная фосфатаза. Результаты определения активности щелочной фосфатазы в гомогенате слизистой оболочки различных отделов кишечника крыс представлены на рисунке 12.

По результатам исследования видно, что через три дня после введения антибактериальных препаратов наблюдалось повышение удельной активности щелочной фосфатазы по всей длине кишечника во всех группах. Так, у животных

без коррекции дисбиоза (контроль 1), по сравнению с контролем 0 (здоровые животные), в гомогенате слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки удельная активность фермента увеличилась на 23,22% ($P \geq 0,05$).

Применение в течении трех дней *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) способствовало снижению удельной активности щелочной фосфатазы в двенадцатиперстной кишке на 49,85% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой контроль 1. Однако, после введения *Enterococcus faecium* 1-35 в течение трех дней наблюдалась тенденция к повышению ферментативной активности в проксимальном участке тощей и в подвздошной кишке (рисунок 12А).

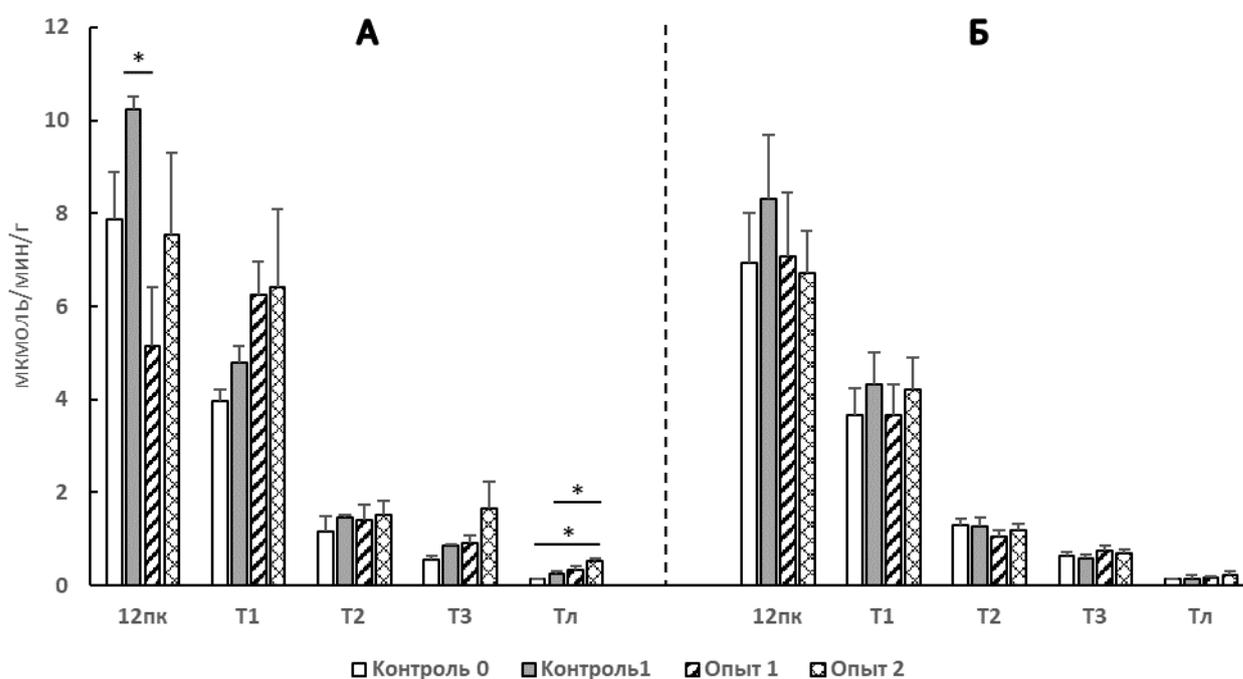


Рисунок 12 – Удельная активность щелочной фосфатазы в слизистой оболочке различных участков кишечника крыс после трех (I) и четырнадцати (II) дней введения пробиотических энтерококков (опыт 1 и опыт 2) или воды (контроль), * $P \leq 0,05$.

Примечание: 12пк – двенадцатиперстная кишка, T1, T2 – проксимальный и дистальный участок тощей кишки; T3 – подвздошная кишка; Tл – толстая кишка.

В группе (опыт 2) активность щелочной фосфатазы была также выше в толстом отделе кишечника на 75,85% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0) и на 52,83% ($P \leq 0,05$) с группой (контроль 1).

Удельная активность щелочной фосфатазы в группе (контроль 1) оставалась повышенной в двенадцатиперстной кишке и проксимальном отделе тощей по сравнению с группой контроль 0 даже через 14 дней после воздействия антибактериальными препаратами, что вероятно обусловлено наличием в кишечнике остаточного воспалительного процесса. В то же время применение пробиотических энтерококков (опыт 1 и опыт 2) способствовало снижению удельной активности щелочной фосфатазы практически до уровня здоровых животных (контроль 0) (рисунок 12Б).

Аминопептидаза-N. Данные об активности аминопептидазы-N, которая осуществляет конечные этапы гидролиза пищевых белков в кишечнике, представлены на рисунке 13.

Через три дня после введения антибактериальных препаратов в группе животных без применения пробиотических энтерококков (контроль 1) наблюдалось повышение удельной активности аминопептидазы-N в двенадцатиперстной кишке (12пк) на 32,47% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0). На фоне применения пробиотических энтерококков, у животных опытных групп, повышение ферментативной активности было менее выражено, а применение *Enterococcus faecium* L-3 (группа опыт 1) для коррекции дисбиоза способствовало снижению активности аминопептидазы-N по сравнению с группой без применения пробиотиков (контроль 1). Так, удельная активность в двенадцатиперстной кишке была ниже на 37,45% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой животных без коррекции дисбиоза (контроль 1). Ферментативная активность в толстом отделе кишечника у контрольных групп животных была сопоставима с ее уровнем в опытных группах (рисунок 13А).

Как можно видеть из полученных данных, через 14 дней коррекции дисбиоза удельная активность аминопептидазы-N снизилась до уровня здоровых животных (контроль 0) как после применения пробиотических энтерококков (опыт 1 и опыт 2), так и в группе без пробиотиков (контроль 1). Однако, в дистальном отделе тощей кишки удельная активность фермента снизилась в группе контроль 1 на

25,35% ($P \leq 0,05$), а в группе опыт 1 на 35,99% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0) (рисунок 13Б).

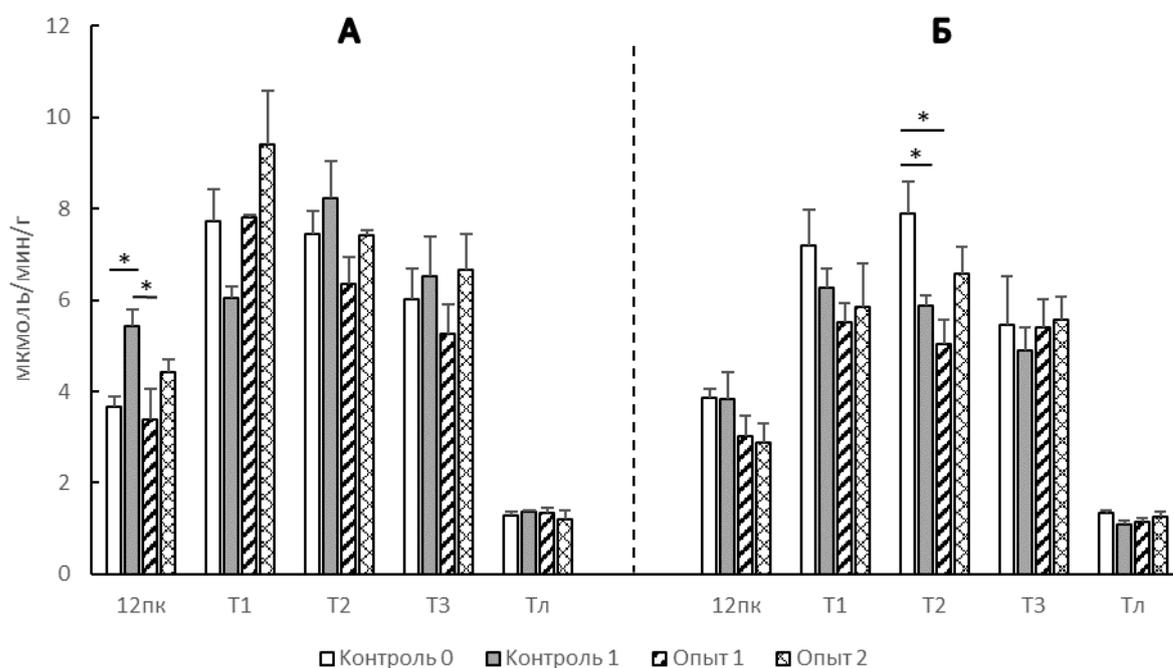


Рисунок 13 – Удельная активность аминопептидазы-N в слизистой оболочке различных участков кишечника крыс после 3-суточного (А) и 14-суточного (Б) введения пробиотических энтерококков (опыт 1 и опыт 2) или воды (контроль), * $P \leq 0,05$.

Примечание: 12пк – двенадцатиперстная кишка, Т1, Т2 – проксимальный и дистальный участок тощей кишки; Т3 – подвздошная кишка; Тл – толстая кишка.

Снижение активности аминопептидазы-N в наших опытах вероятно связано с отсутствием воспалительного процесса в кишечнике, поскольку данный фермент, помимо участия в пищеварении, участвует также в иммунных и воспалительных ответах.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что пероральное применение *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) и *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2) на фоне дисбиоза способствует более быстрому восстановлению

ферментативной активности в слизистой оболочке кишечника экспериментальных животных.

2.2.1.6 Активность пищеварительных ферментов в химусе различных отделов кишечника крыс

В этой серии опытов нами также проведено определение активности ферментов в химусной фракции из различных отделов кишечника лабораторных животных через три и 14 суток после ежедневного внутрижелудочного введения *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) и *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2), которые применяли для коррекции дисбиоза, или воды (контроль 1), а также у здоровых животных (контроль 0).

Мальтаза. Анализ результатов исследований показывает, что через три дня после отмены антибактериальных препаратов, наблюдалось снижение удельной активности мальтазы в химусе тонкого отдела кишечника как в группе без применения пробиотиков (контроль 1), так и в группе животных, которым для коррекции дисбиоза вводили *E. faecium* L-3 (опыт 1). Применение *E. faecium* 1-35 (опыт 2), напротив, способствовало повышению ферментативной активности до уровня здоровых животных (контроль 0). Так, в подвздошной кишке активность мальтазы была выше на 32,95% ($P \leq 0,05$) по сравнению с контролем 1. В толстом отделе кишечника, в отличие от тонкого, наблюдалось повышение ферментативной активности во всех группах, которым вводили антибактериальные препараты (контроль 1, опыт 1 и опыт 2) по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0) (рисунок 14А).

Через 14 дней после отмены антибактериальных препаратов статистически достоверное снижение удельной активности мальтазы наблюдалось только в дистальном участке тонкой тощей кишки на 68,14% ($P \leq 0,05$) в группе опыт 2 (рисунок 14Б) по сравнению с группой контроль 0.

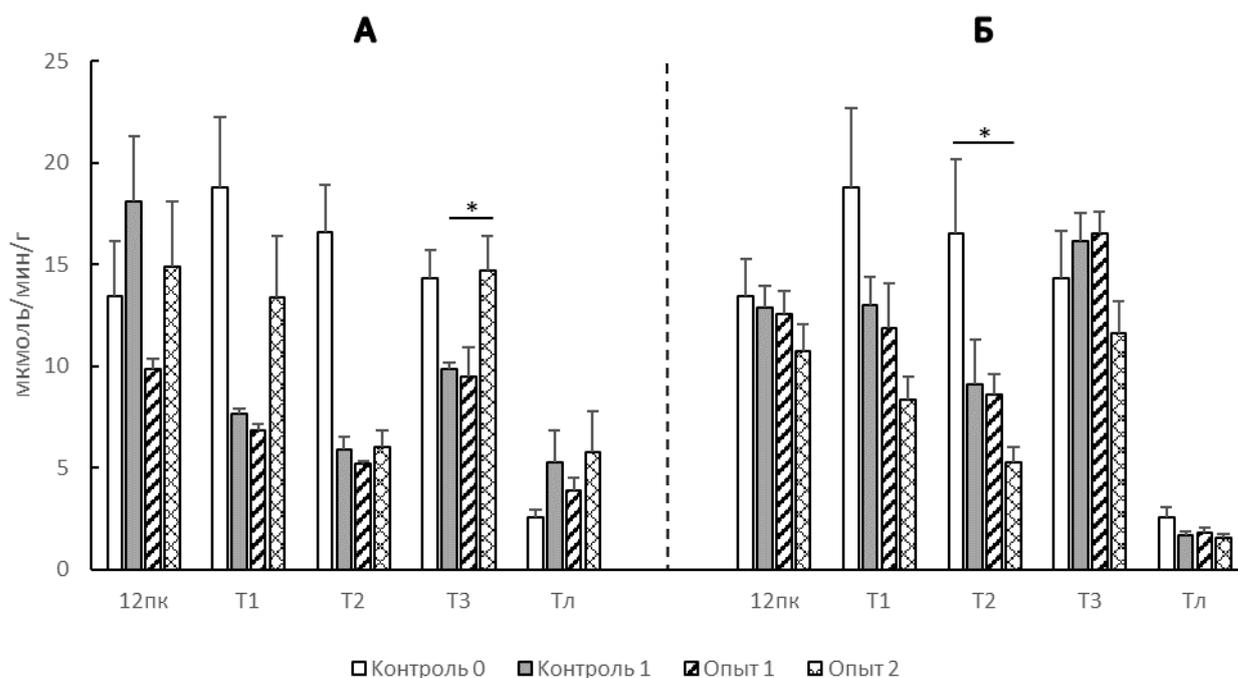


Рисунок 14 - Активность мальтазы в химусе различных участков кишечника крыс после трех (А) и четырнадцати (Б) дней введения пробиотических энтерококков (опыт 1 и опыт 2) или воды (контроль), * $P \leq 0,05$.

Примечание: 12пк – двенадцатиперстная кишка, Т1, Т2 – проксимальный и дистальный участок тощей кишки; Т3 – подвздошная кишка; Тл – толстая кишка.

Щелочная фосфатаза. Распределение активности щелочной фосфатазы в химусной фракции кишечника представлено на рисунке 15. Из полученных данных видно, что через три дня после отмены антибактериальных препаратов удельная активность щелочной фосфатазы в группе без коррекции дисбиоза (контроль 1) была ниже в проксимальном участке тощей кишки на 44,98% ($P \leq 0,05$) и в подвздошной кишке на 52,56% ($P \leq 0,05$), но выше в толстом отделе кишечника - на 38,73% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0). Также снижение ферментативной активности в подвздошной кишке наблюдалось на фоне применения *E. faecium* L-3 (опыт 1) на 51,75% ($P \leq 0,05$). В то же время, в химусе толстого отдела кишечника, активность щелочной фосфатазы была выше в опытных группах (опыт 1 и опыт 2) в среднем на 47,00% ($P \leq 0,05$) по сравнению с контролем 0.

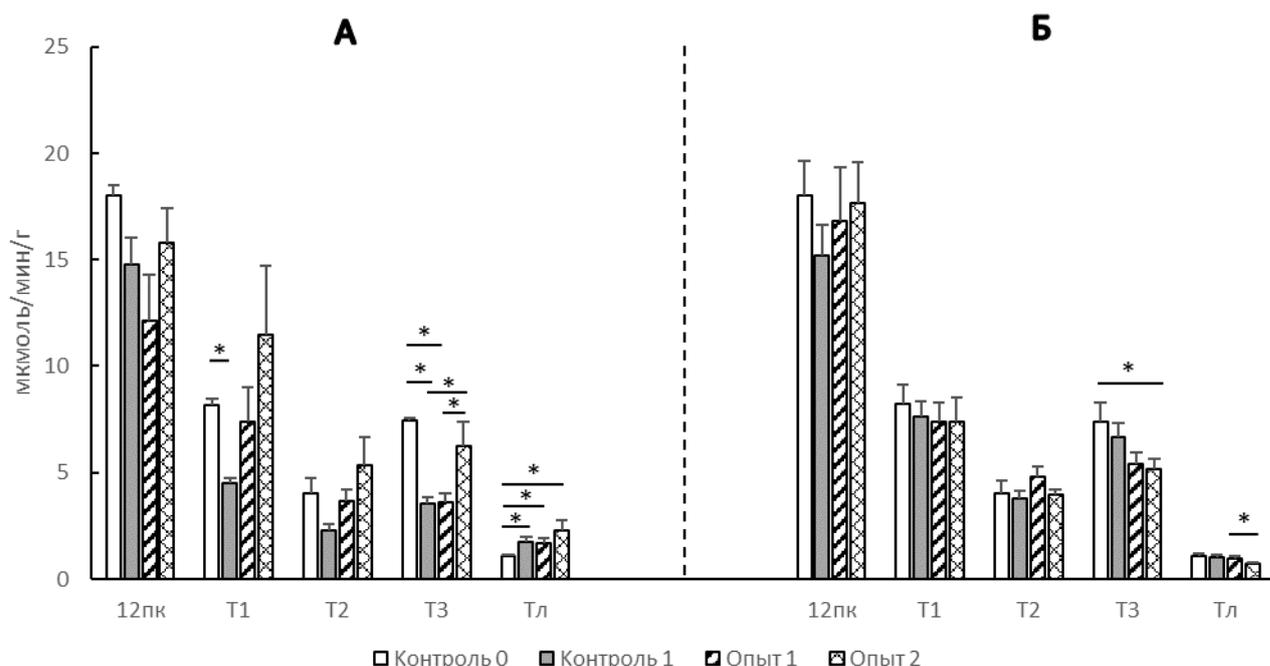


Рисунок 15 – Удельная активность щелочной фосфатазы в химусе различных участков кишечника крыс после трех (А) и четырнадцати (Б) дней введения пробиотических энтерококков (опыт 1 и опыт 2) или воды (контроль), * $P \leq 0,05$.

Примечание: 12пк – двенадцатиперстная кишка, Т1, Т2 – проксимальный и дистальный участок тощей кишки; Т3 – подвздошная кишка; Тл – толстая кишка.

На фоне применения *E. faecium* 1-35 (опыт 2) активность щелочной фосфатазы в подвздошной кишке была выше в среднем на 43,41% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой без коррекции дисбиоза (контроль 1) и с группой после применения *E. faecium* L-3 (опыт 1), и близка к группе здоровых животных (контроль 0), как в целом и в других участках тонкого кишечника (рисунок 15А).

Через 14 дней коррекции экспериментального дисбиоза удельная активность щелочной фосфатазы в химусе была практически на одном уровне во всех группах животных. Однако, после применения пробиотических энтерококков (опыт 1 и опыт 2) удельная активность фермента была ниже в среднем на 28,34% ($P \leq 0,05$) в подвздошной кишке по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0) и на 28,57% ($P \leq 0,05$) в толстой кишке в группе (опыт 2) по сравнению с группой после применения *E. faecium* L-3 (опыт 1) (рисунок 15Б).

Аминопептидаза-N. Распределение активности аминопептидазы-N в химусной фракции различных отделов кишечника представлена на рисунке 16. Через три дня после отмены антибактериальных препаратов, в группе крыс без коррекции дисбиоза (контроль 1), удельная активность фермента снижалась на 73,30% ($P \leq 0,05$) в химусе проксимального и на 45,72% ($P \geq 0,05$) дистального участка тощей кишки, а также на 47,91% ($P \leq 0,05$) в подвздошной кишке по сравнению с группой контроль 0 (рисунок 16А).

В отличие от контроля 1, введение пробиотиков после отмены антибактериальных препаратов не вызывало сильного снижения удельной активности аминопептидазы-N в химусе различных участков кишечника. В группе крыс, получавших *E. faecium* 1-35 (опыт 2), наблюдалось повышение удельной ферментативной активности по сравнению с группой без применения пробиотиков (контроль 1) в химусе проксимального и дистального участка тощей кишки на 65,87% ($P \leq 0,05$) и 35,52% ($P \leq 0,05$) соответственно. Также повышение активности фермента наблюдалось в группе с применением *E. faecium* L-3 (опыт 1) на 27,85% ($P \leq 0,05$) в дистальном участке тощей кишки.

Снижение активности аминопептидазы-N после применения пробиотиков наблюдалось только в подвздошной кишке на 40,26% ($P \leq 0,05$) в группе опыт 1 и на 27,49% ($P \leq 0,05$) в группе опыт 2 по сравнению с контролем 0 (без дисбиоза). В толстом отделе кишечника ферментативная активность наоборот была выше на 55,56% ($P \leq 0,05$) и на 62,55% ($P \leq 0,05$) соответственно.

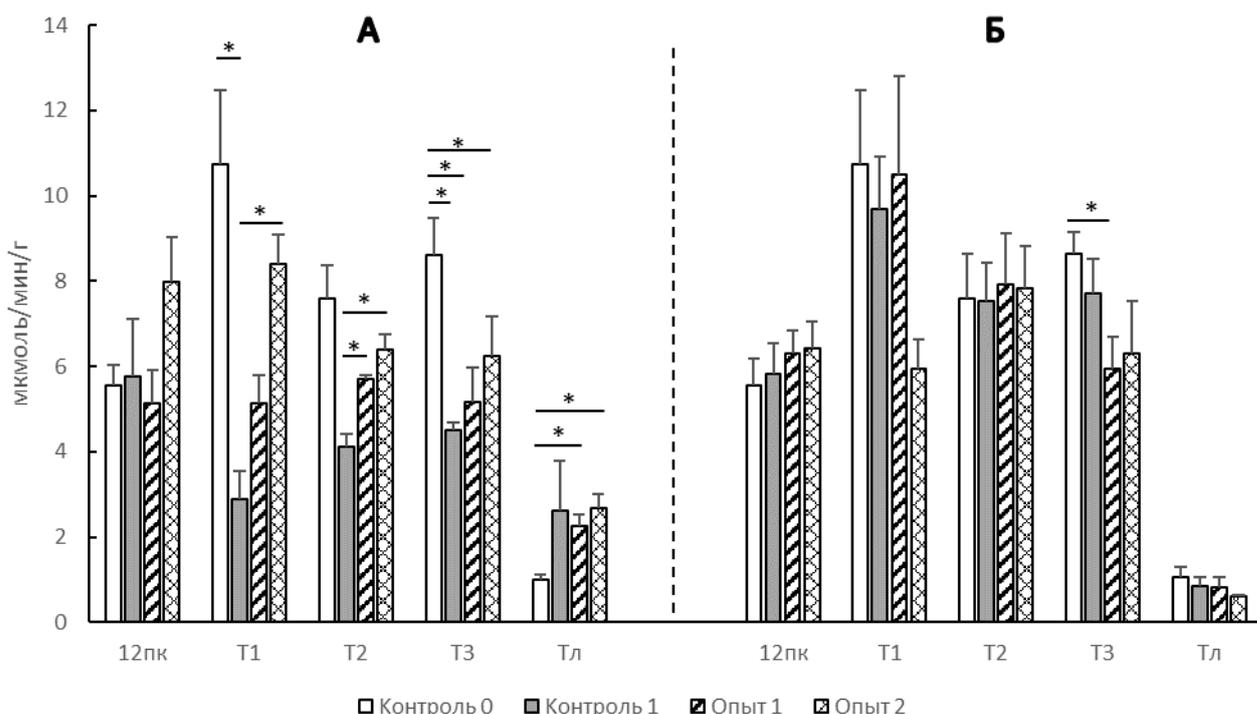


Рисунок 16 - Активность аминопептидазы-N в химусе различных участков кишечника крыс после трех (А) и четырнадцати (Б) дней введения пробиотических энтерококков (опыт 1 и опыт 2) или воды (контроль), * $P \leq 0,05$.

Примечание: 12пк – двенадцатиперстная кишка, Т1, Т2 – проксимальный и дистальный участок тощей кишки; Т3 – подвздошная кишка; Тл – толстая кишка.

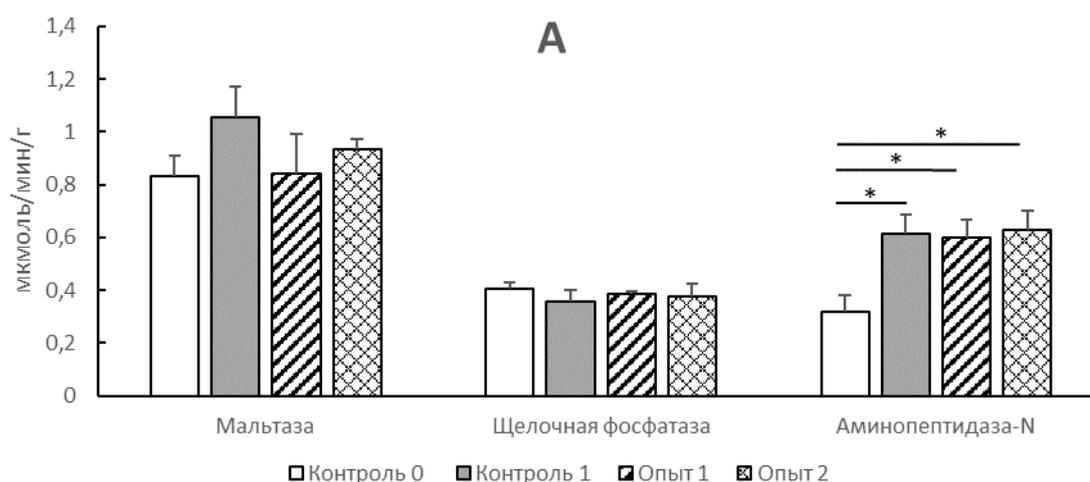
Через 14 дней после отмены антибактериальных препаратов, статистически достоверное снижение удельной активности аминопептидазы-N наблюдалось в подвздошной кишке на фоне применения *E. faecium* L-3 (опыт 1) на 31,29% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0) (рисунок 16Б).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что пероральное применение пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 на фоне дисбиоза кишечника способствуют более быстрому восстановлению активности ферментов участвующих в гидролизе белков, жиров и углеводов не только в слизистой оболочке, но также и в химусе кишечника.

2.2.1.7 Активность пищеварительных ферментов в фекалиях на разных сроках эксперимента

В нашей работе мы исследовали активность пищеварительных ферментов не только в слизистой оболочке и химусе кишечника лабораторных животных, но также и в фекалиях на разных сроках эксперимента. Результаты изменения ферментативной активности через три, семь и четырнадцать дней после введения ампициллина и метронидазола представлены на рисунке 17.

Из полученных данных видно, что через три дня после отмены антибактериальных препаратов наблюдалось повышение активности аминопептидазы-N. Так, в группе лабораторных животных, которым не применяли пробиотики (контроль 1), активность фермента была выше на 48,05% ($P \leq 0,05$), в группе животных получавших для коррекции дисбиоза *E. faecium* L-3 (опыт 1) – на 46,83% ($P \leq 0,05$) и в группе *E. faecium* 1-35 (опыт 2) – на 49,37% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0) (рисунок 17А).



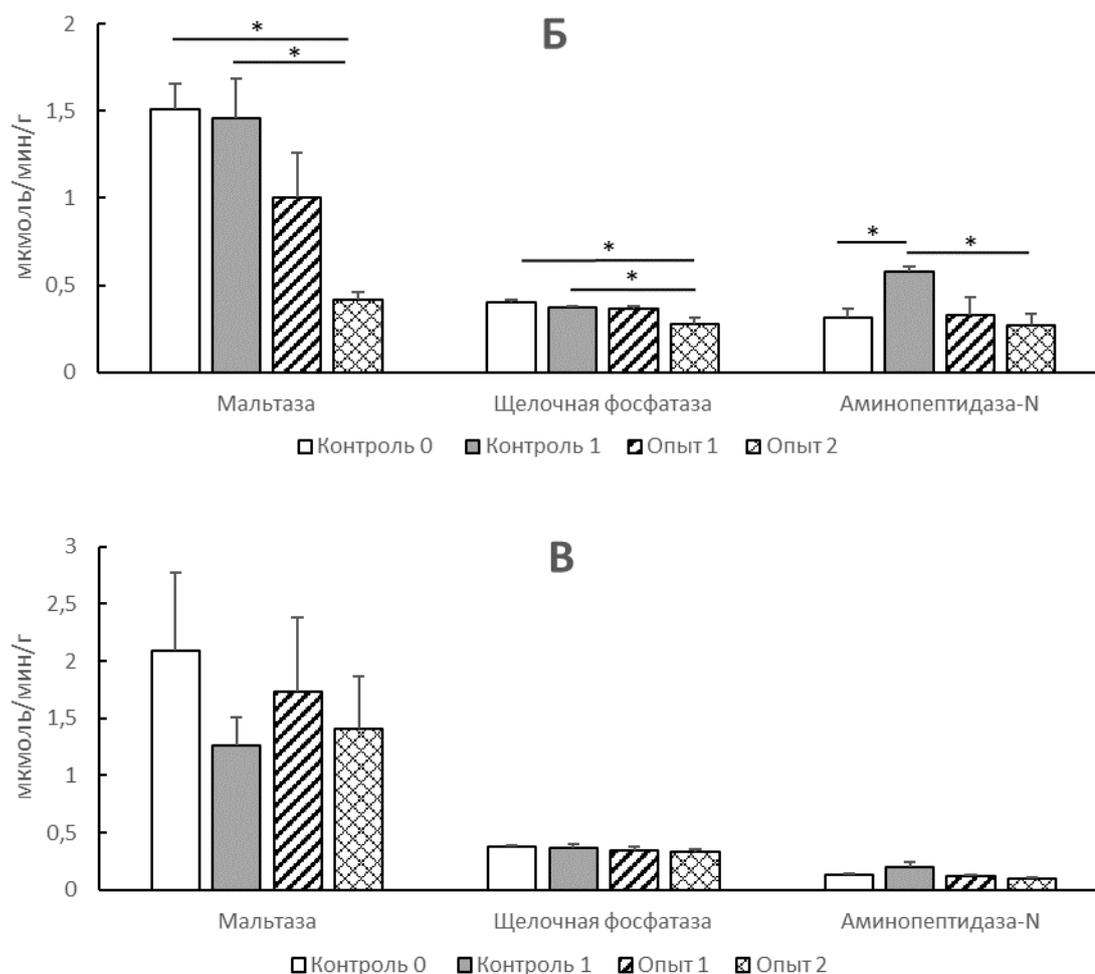


Рисунок 17 - Активность ферментов в фекалиях крыс после трех(А), семи (Б) и четырнадцати (В) дней введения пробиотических энтерококков (опыт 1 и опыт 2) или воды (контроль), * $P \leq 0,05$.

Через семь дней после отмены антибактериальных препаратов активность аминопептидазы-N оставалась повышенной в группе без применения пробиотиков (контроль 1) на 45,85% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой без дисбиоза (контроль 0) и на 53,81% ($P \leq 0,05$) с группой опыт 2.

В группе животных, которым в течение семи дней вводили *E. faecium* 1-35 (опыт 2), была снижена по сравнению с группой здоровых крыс (контроль 0) и с группой без применения пробиотиков (контроль 1) активность мальтазы на 72,60% ($P \leq 0,05$) и 71,59% ($P \leq 0,05$), а также активность щелочной фосфатазы на 31,84% ($P \leq 0,05$) и 25,75% ($P \leq 0,05$) соответственно (рисунок 17Б).

Через четырнадцать дней после введения ампициллина и метронидазола, активность ферментов в фекалиях существенно не различалась у крыс опытных и контрольных групп (рисунок 17В).

Таким образом, анализируя полученные данные можно сделать вывод, что изменения ферментативной активности в фекалиях также свидетельствуют о высокой эффективности пробиотических энтерококков в коррекции дисбиоза.

2.2.2 Изучение терапевтической эффективности пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 при лечении поросят отъемышей больных гастроэнтеритом

2.2.2.1 Изучение этиологии и некоторых звеньев патогенеза гастроэнтерита у поросят в период отъема

При анализе условий содержания поросят было установлено, что животные содержатся в типовых свинарниках. Разные производственные группы животных содержатся в трех отдельных помещениях. В первом свинарнике содержатся супоросные свиноматки и свиноматки с поросятами-сосунами, во втором – поголовье на откорме и ремонтный молодняк, и в третьем - холостые свиноматки и отдельно взрослые хряки, необходимые для проведения естественного осеменения, применяемого в хозяйстве.

В отношении свинарника-маточника, при подготовке его к проведению в нем очередного тура опороса, соблюдается принцип "все занято - все пусто". Перед опоросом проводится профилактическая дезинфекция помещения.

Животные в хозяйстве содержатся безвыгульно. Клинические исследования показали, что свиноматки выглядели здоровыми, истощенных или слишком упитанных выявлено не было. Клетка для свиноматки с приплодом типовая, с разделением на отсек для поросят, с обогревом инфракрасной лампой (рисунок 18).



Рисунок 18 – Содержание поросят до отъема.

По данным ветеринарных специалистов, обслуживающих данное хозяйство, а также, со слов руководителя предприятия, пик желудочно-кишечных заболеваний у поросят наблюдается в зимне-весенний период и в основном приходится на январь, февраль, март, апрель, май. Падеж поросят в хозяйстве бывает достаточно велик и временами достигает 40,00%.

Изучение состава и качества рационов для животных выявило следующие его аспекты: кормление поголовья свиней осуществляется в основном за счет комбикормов КК-58 (производитель ОАО «Подберезский комбинат хлебопродуктов»), который используют для всех возрастных групп. С седьмого дня после рождения в рацион поросят также включают комбикорм КК-58. Отъем поросят от свиноматок в хозяйстве проводится в 21-24 дневном возрасте. С двухмесячного возраста в рационе животных присутствуют корнеклубнеплоды (морковь и картофель). Воду животные получают вволю из автоматических поилок.

Установлено, что при рождении поросята имели живую массу от 0,80 до 1,20 кг. Среди общего числа животных каждого гнезда было выявлено до 30,00% слаборазвитых животных, которые в дальнейшем отставали в росте и развитии. На пятый и десятый дни жизни животных вводят внутримышечно препараты йода и железа, а также поливитаминные препараты. Кастрацию хрячков проводят в семидневном возрасте.

В первый день после отъема поросят от свиноматок клиническое состояние животных соответствовало физиологическому состоянию для данного возрастного периода. Однако уже на третий день у отдельных поросят отмечалось угнетение, снижение аппетита и диарея. Заболеваемость чаще регистрировалась на второй - четвертый день после отъема в первую очередь у поросят-гипотрофиков, а в дальнейшем до 50,00-60,00% поросят из помета.

В период проведения исследований проводили измерение температуры тела, а также подсчет частоты сердечных сокращений и количества дыхательных движений за минуту у больных животных. Температура тела в начале болезни была в среднем 39,60 °С, в дальнейшем снижалась до 37,50-38,00 °С.

При клиническом осмотре было отмечено, что больные поросята были угнетены, подолгу лежали; кожа становилась сухой и неэластичной, бледной; волосяной покров был тусклым и взъерошенным. Слизистая оболочка носа и ротовой полости была сухой, конъюнктивы бледной.

По результатам исследования, у больных гастроэнтеритом поросят, с первого дня наблюдений отмечалась тахикардия. В дальнейшем пульс становился слабого наполнения, а тоны сердца усиливались.

При исследовании дыхательной системы наблюдалось незначительное учащение дыхательных движений у больных поросят.

У некоторых животных наблюдалась мышечная дрожь, подергивание отдельных групп мышц; при обезвоживании глазные яблоки западали в орбиты.

С первых дней заболевания, ярко проявлялись признаки поражения желудочно-кишечного тракта. Фекалии, вначале были слегка разжиженные, бело-желтого цвета, затем становились жидкими, водянистыми, серо-желтыми, с

кислым запахом. По мере нарастания диареи у больных поросят усиливалась моторика кишечника и звуки перистальтики становились слышны даже на расстоянии. Пальпацией брюшной стенки устанавливалась ее напряженность и болезненность. Быстро снижалась живая масса (рисунок 19).



Рисунок 19 – Поросята с гастроэнтеритом.

Без осуществления лечебных мероприятий, поросята через 7-10 дней постепенно выздоравливали, но в дальнейшем отставали в росте и развитии. Гибель наблюдалась только у поросят-гипотрофиков, чаще всего на 5-7 день после проявления первых клинических признаков, реже – в более поздние сроки. Перед гибелью у животных были признаки интоксикации и обезвоживания организма. При этом глаза западали, видимые слизистые оболочки, а также кончики ушей и носовое зеркальце приобретали синюшный оттенок. Температура тела снижалась на 1,00 – 2,00 °С и более (до 36,00 °С), кожа становилась холодной на ощупь,

особенно пяточка, ушей и конечностей. Гибель животных наступала вследствие сердечно-сосудистой и дыхательной недостаточности на фоне резкой обезвоженности и кахексии организма.

2.2.2.2 Оценка эффективности использования *E. faecium* L-3 и *E. faecium* 1-35 на клиническое состояние поросят после лечения

Известно, что эффективность лечения является интегральным показателем, который включает полноценное обследование больных животных, правильно поставленный диагноз, обоснование и рациональность применения фармакологических средств. Поэтому при оценке эффективности лечения необходимо определять результативность терапии не только по наличию специфических симптомов поражения пищеварительной системы, но и по динамике значимых функционально-метаболических изменений в желудочно-кишечном тракте в период экспериментальных исследований. С этой целью в наших экспериментах на поросятах больных гастроэнтеритом использовались пробиотические штаммы *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) и *Enterococcus faecium* 1-35.

Применение пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) и *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2), для лечения гастроэнтерита у поросят, способствовало снижению на третий день симптомов заболевания желудочно-кишечного тракта. В то же время, у животных контрольной группы (контроль 1), лишь на пятый день отмечалось снижение клинических признаков заболевания. Об этом мы судили по исчезновению основных клинических признаков гастроэнтерита (интоксикации и обезвоживания), при одновременной нормализации частоты дыхания, пульса и температуры. Со временем фекалии, становились более густыми, приобретая из жидкой, водянистой консистенции

кашицеобразную, постепенно оформляясь. Со временем фекалии приобретали коричневый цвет.

Средний вес больных гастроэнтеритом животных перед началом лечения составлял $5,82 \pm 0,05$ кг, клинически здоровых – $6,07 \pm 0,07$ кг ($P \leq 0,05$).

На рисунке 20 видно, что в ходе лечения масса тела животных по группам значительно различалась. Так, на седьмой день от начала лечения, живая масса тела поросят, которым не применяли для лечения пробиотические энтерококки (контроль 1) была ниже на 0,37 кг ($P \leq 0,05$) по сравнению с здоровыми животными (контроль 0). Также, оставалась сниженной масса тела поросят, которым вводили *E. faecium* L-3 (опыт 1) на 0,23 кг ($P \leq 0,05$). В то же время, у животных, которым вводили *E. faecium* 1-35 (опыт 2) вес был выше на 0,34 кг ($P \leq 0,05$) по сравнению с контролем 1 и на 0,21 кг ($P \leq 0,05$) по сравнению с опытом 1. Поросята, для лечения которых использовали в течение 14 дней пробиотические энтерококки (опыт 1 и опыт 2), имели более высокий прирост массы тела на 0,72 кг ($P \leq 0,05$) и 0,89 кг ($P \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой животных (контроль 1), у которых вес был ниже на 0,69 кг ($P \leq 0,05$) в отличие от здоровых животных (контроль 0).

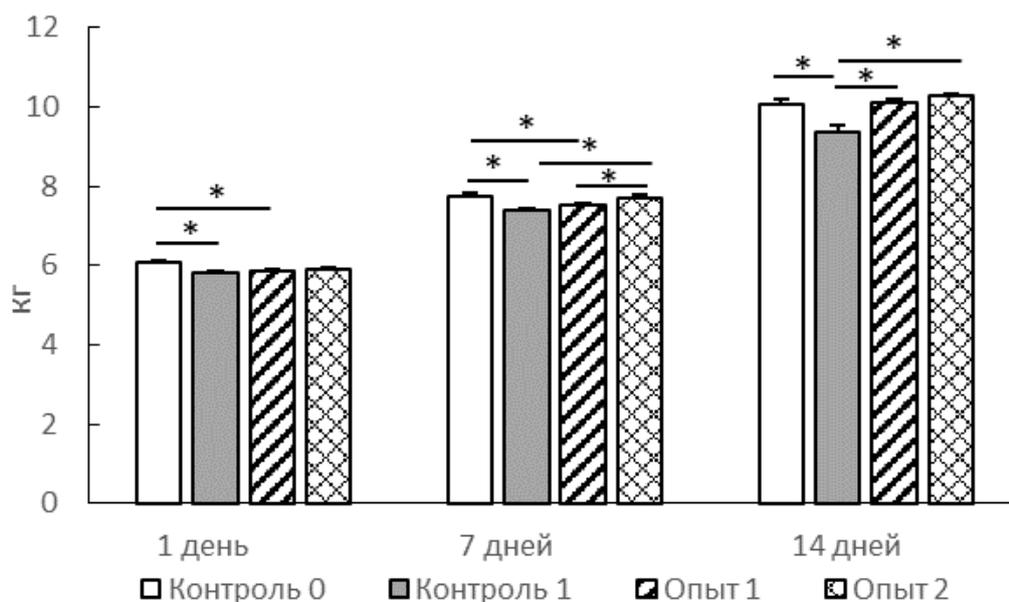


Рисунок 20 - Масса тела поросят на 1, 7 и 14 день эксперимента, кг;

* $P \leq 0,05$.

2.2.2.3 Изучение влияния пробиотических энтерококков на биохимические и морфологические показатели крови

Согласно данным ряда авторов (Дмитриенко В. Г., 2004; Зубарев А. Е., 2017; Кудинов Р. И., 2003; Новикова С. В., 2014), резкая смена кормов и воздействие стресс-факторов у поросят после отъема приводят к развитию заболеваний органов пищеварения, которые в дальнейшем приводят нарушению обмена веществ, в результате чего отмечается уменьшение в крови не только количества эритроцитов, гемоглобина, но и общего белка, что может рассматриваться как снижение реактивности и резистентности организма.

Для анализа состояния обменных процессов в организме животных, были проведены исследования некоторых биохимических и морфологических параметров, которые протекают у больных животных (контроль 1), а также после применения для лечения пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) и *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2) в течение 14 дней.

Полученные результаты показали (таблица 4), что у животных больных гастроэнтеритом (контроль 1), для лечения которых не применяли пробиотические энтерококки, наблюдалось снижение общего белка, глобулинов, глюкозы и кальция в крови, но в то же время были повышены аланинаминотрансфераза, аспаратаминотрансфераза, щелочная фосфатаза и фосфор по сравнению с референсными значениями.

Применение *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) для лечения гастроэнтерита у поросят, способствовало повышению содержания в крови общего белка на 8,18% ($P \geq 0,05$) и глобулинов на 13,75% ($P \geq 0,05$) по сравнению с группой контроль 1. Наблюдалось также повышение концентрации глюкозы в группе опыт 1 на 14,42% ($P \leq 0,05$). В то же время, наблюдалось снижение содержания аспаратаминотрансферазы на 20,99% ($P \leq 0,05$), щелочной фосфатазы на 16,62% ($P \geq 0,05$) и холестерина на 18,18% ($P \geq 0,05$).

Применение *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2) для лечения гастроэнтерита у поросят способствовало повышению альбуминов в крови на 9,69% ($P \geq 0,05$) и глюкозы на 21,24% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой поросят, которым не вводили пробиотики (контроль 1). В то же время, у животных опытной группы наблюдалось снижение содержания в крови мочевины на 20,79% ($P \geq 0,05$), щелочной фосфатазы на 21,55% ($P \leq 0,05$) и холестерина на 21,10% ($P \leq 0,05$).

Таким образом, полученные данные биохимических исследований сыворотки крови свидетельствовали о существенных отклонениях в обмене веществ у поросят больных гастроэнтеритом (контроль 1), которым для лечения не применяли пробиотики, а именно о наличии гипопротеинемии, гипогликемии и нарушении фосфорно-кальциевого соотношения. Применение пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 для лечения гастроэнтерита способствовало улучшению обмена веществ в организме животных.

Таблица 4 - Биохимические показатели крови у поросят через 14 дней от начала лечения (M±m)

Показатели	Единицы измерения	Референсные значения	Группы животных		
			Контроль 1 (n=10)	Опыт 1 (n=10)	Опыт 2 (n=10)
Общий белок	г/л	58,00 – 89,00	56,03±2,15	61,02±4,08	57,32±4,13
Альбумин	г/л	22,60 – 40,40	28,99±1,45	29,67±2,03	32,10±1,66
Глобулины	г/л	35,00 – 49,00	27,04±1,37	31,35±1,93	25,22±2,68
Мочевина	ммоль/л	2,90 – 8,80	7,07±0,41	6,54±0,25	5,60±0,17
Креатинин	мкмоль/л	70,00 – 208,00	80,91±2,16	84,83±2,66	76,13±1,39
Билирубин	мкмоль/л	0,30 – 8,20	5,66±0,28	7,52±1,05	7,30±0,98
АЛТ	ед/л	22,00 – 47,00	55,11±2,24	63,52±4,09	62,32±3,76
АСТ	ед/л	15,00 – 55,00	123,91±4,54	97,90±4,81 *	145,87±14,16
Щелочная фосфатаза	ед/л	150,00 – 180,00	243,05±12,33	202,65±19,22	190,68±5,85 *
Амилаза	ед/л	2000,00 – 8000,00	2174,38±215,50	2195,00±172,92	2023,00±142,80
Глюкоза	ммоль/л	3,50 – 6,50	3,56±0,17	4,16±0,16 *	4,52±0,32 *
Холестерин	ммоль/л	2,10 – 3,50	3,08±0,16	2,52±0,13	2,43±0,15 *
Кальций	ммоль/л	3,00 – 3,50	2,66±0,05	2,71±0,04	2,72±0,04
Фосфор	ммоль/л	1,80 – 3,00	3,50±0,07	3,60±0,27	3,57±0,24

* P≤0,05.

Примечание: уровень достоверности (P) выведен при сравнении результатов в опытных (опыт 1 и опыт 2) и контрольной (контроль 1) группах.

В таблице 5 представлены данные морфологических показателей крови животных после лечения. Из полученных данных видно, что содержание гемоглобина в крови у поросят, больных гастроэнтеритом (контроль 1), было ниже референсных значений. Также в контрольной группе животных наблюдалось повышение количества лейкоцитов и СОЭ, что может указывать на остаточный воспалительный процесс в организме поросят.

У животных опытных групп, для лечения которым применяли пробиотические *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 1 и опыт 2), морфологические показатели крови находились в пределах референсных значений.

Следовательно, применение пробиотических энтерококков для лечения гастроэнтерита оказывает непосредственное стимулирующее влияние на морфологические показатели крови у поросят.

Таблица 5 – Морфологические показатели крови у поросят через 14 дней от начала лечения (M±m)

Показатели	Единицы измерения	Референсные значения	Группы животных		
			Контроль 1 (n=10)	Опыт 1 (n=10)	Опыт 2 (n=10)
Лейкоциты	$\times 10^9/\text{л}$	8,00 – 16,00	17,63±1,44	14,93±1,87	14,96±1,19
Эритроциты	$\times 10^{12}/\text{л}$	5,00 – 7,00	5,66±0,06	5,63±0,17	5,40±0,09
Гемоглобин	г/л	87,00 – 117,00	80,11±3,41	89,80±4,03	80,80±1,73
Тромбоциты	$\times 10^9/\text{л}$	180,00 – 300,00	254,44±17,05	216,40±5,80	224,30±4,45
Юные	%	0 – 2,00	0	0	0
Палочкоядерные	%	2,00 – 4,00	2,67±0,22	2,40±0,16	2,50±0,17
Сегментоядерные	%	20,00 – 70,00	48,56±1,69	49,00±2,94	49,00±1,27
Эозинофилы	%	1,00 – 4,00	2,78±0,52	3,20±0,20	1,60±0,54
Базофилы	%	0 – 1,00	0	0	0
Моноциты	%	2,00 – 6,00	3,78±0,41	4,00±0,39	3,20±0,65
Лимфоциты	%	40,00 – 50,00	41,89±1,91	41,33±2,70	43,20±1,71
СОЭ	мм/час	2,00 – 9,00	8,89±1,71	7,00±0,95	5,20±1,39

2.2.2.4 Изучение влияния пробиотических энтерококков на микробиоценоз кишечника при гастроэнтерите у поросят

В ходе эксперимента проводились бактериологические исследования фекалий поросят до назначения лечения и на 14 день исследований. На седьмой день от начала лечения проводили исследования с использованием (ПЦР-РВ).

Перед началом лечения, микробиоценоз кишечника у поросят с гастроэнтеритом (контроль 1) отличался от здоровых животных (контроль 0) и характеризовался содержанием в фекалиях (lg КОЕ/г) повышенного количества кишечной палочки ($4,60 \pm 0,24$; $P \leq 0,05$) и сниженного лактобацилл ($4,42 \pm 0,17$; $P \leq 0,05$) по сравнению с контролем 0 ($3,35 \pm 0,20$ и $5,22 \pm 0,20$ соответственно). Также в группе контроль 1 наблюдалась тенденция к снижению количества энтерококков до $4,85 \pm 0,09$, при $5,35 \pm 0,20$ – в группе здоровых животных ($P \geq 0,05$).

Таким образом, изменения кишечного микробиоценоза поросят, при гастроэнтерите, перед началом лечения характеризовались снижением числа *Enterococcus spp.* и *Lactobacillus spp.* при одновременном повышении количества *Escherichia coli*, что в целом свидетельствовало о состоянии дисбактериоза.

Результаты полимеразной цепной реакции (ПЦР-РВ) фекалий поросят на седьмой день эксперимента представлены на рисунке 21. Из представленных данных видно, что применение в течение семи дней *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) и *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2) для лечения гастроэнтерита у поросят имело схожий между группами эффект и характеризовалось повышением содержания бифидобактерий в среднем на 7,87% ($P \leq 0,05$) и *Faecalibacterium prausnitzii* на 9,95% ($P \leq 0,05$) по сравнению с животными из группы контроль 1 (рис. 8). В то же время наблюдалось снижение количества эшерихий в среднем на 24,20% ($P \leq 0,05$), бактероидов на 18,01% ($P \leq 0,05$) и лактобацилл на 12,45% ($P \leq 0,05$). У животных, которым не применяли пробиотические энтерококки для лечения (контроль 1), в составе микробиоценоза кишечника наблюдалось также снижение количества *Faecalibacterium prausnitzii* на 6,59% ($P \leq 0,05$) по сравнению со здоровыми

животными (контроль 0). Результат ПЦР-РВ показал также в 100,00% отобранных проб фекалий поросят с гастроэнтеритом (контроль 1) содержание *Escherichia coli enteropatogenic*, в то время как у здоровых животных (контроль 0) и у поросят после применения *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2) наличие энтеропатогенной палочки наблюдалось только в 16,67% проб. В группе поросят, которым применяли *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1), данные бактерии обнаружены не были.

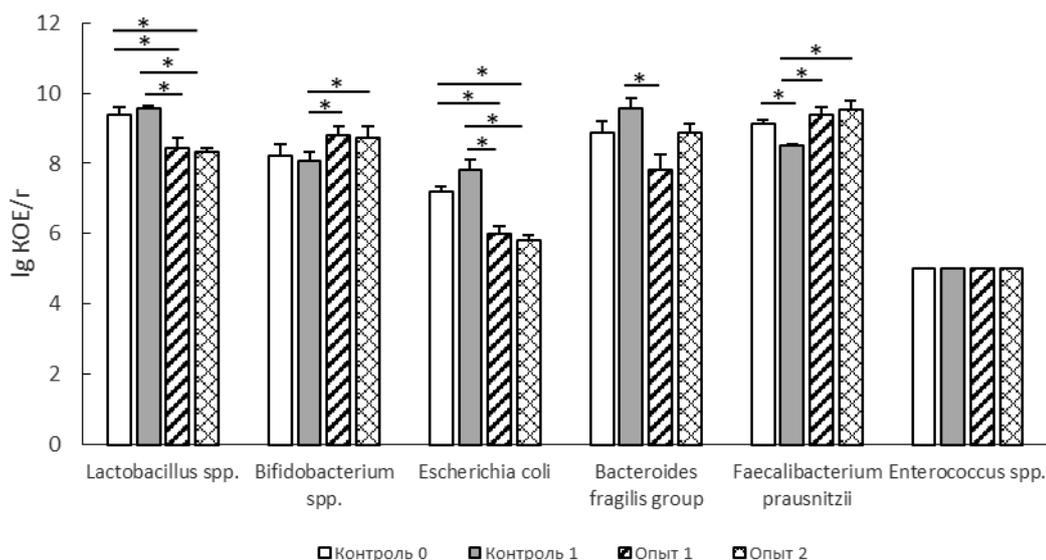


Рисунок 21 - Результаты полимеразной цепной реакции (ПЦР-РВ) фекалий поросят на седьмой день эксперимента, * $P \leq 0,05$.

Результаты бактериологического исследования фекалий поросят на 14 день эксперимента представлены на рисунке 22.

Из представленных данных видно, что у животных контрольной группы (контроль 1) было повышено количество кишечной палочки на 7,02% ($P \leq 0,05$) по сравнению с опытом 1 и на 7,72% ($P \leq 0,05$) с опытом 2. Однако, в группе здоровых животных (контроль 0) количество кишечной палочки также было выше, чем в опытных группах в среднем на 9,28% ($P \leq 0,05$).

Количество лактобацилл снижалось в группе без применения пробиотиков (контроль 1) в отличие от остальных групп.

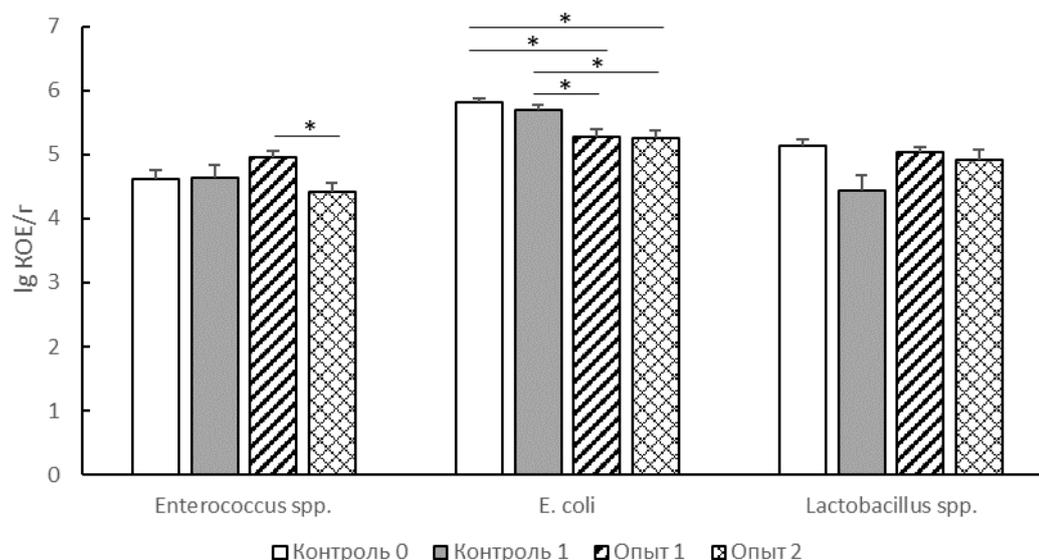


Рисунок 22 - Результаты бактериологического исследования фекалий поросят на 14 день эксперимента, lg КОЕ/г;
* $P \leq 0,05$.

Содержание энтерококков в микробиоте кишечника поросят было практически на одном уровне по всем группам, но в группе опыт 1 количество бактерий было выше на 10,66% ($P \leq 0,05$) по сравнению с опытом 2.

Таким образом, применение пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 больным поросятам гастроэнтеритом в течение 14 дней способствовало нормализации кишечного микробиоценоза, а именно стимулировало рост числа облигатных и факультативных форм и снижало количество кишечной палочки и условно-патогенных представителей микрофлоры.

2.2.2.5 Определение активности пищеварительных ферментов в гомогенате слизистой оболочки кишечника

Результаты удельной активности мальтазы в гомогенате слизистой оболочки тонкой кишки у поросят представлены на рисунке 23. Из представленных данных видно, что активность мальтазы в группе без применения пробиотических энтерококков (контроль 1) была выше по всей длине тонкой кишки по сравнению с остальными группами поросят. Так, в подвздошной кишке активность мальтазы была выше на 24,41% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой клинически здоровых поросят (контроль 0) и на 19,08% ($P \leq 0,05$) с группой (опыт 2). В то же время в опытных группах (опыт 1 и опыт 2), после применения пробиотических энтерококков для лечения гастроэнтерита у поросят, активность фермента по всей длине кишечника была близка к группе здоровых животных (контроль 0).

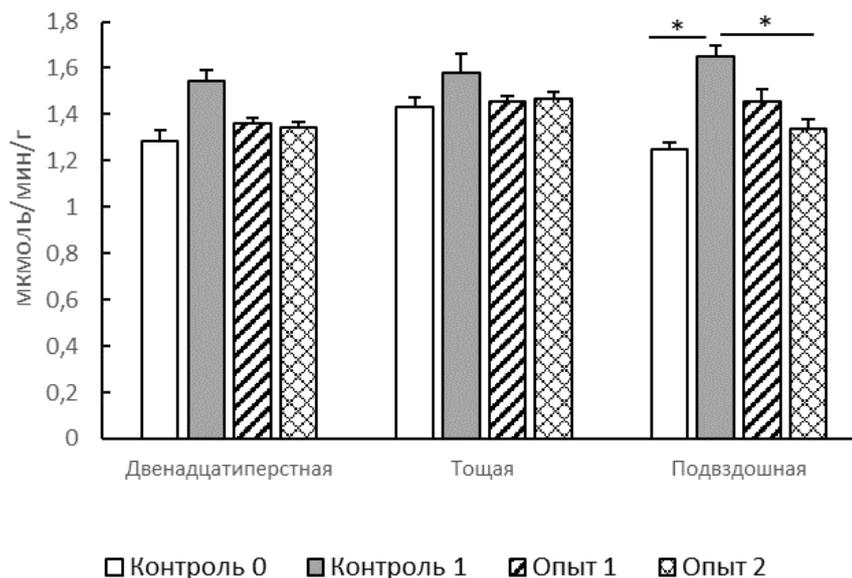


Рисунок 23 – Удельная активность мальтазы в слизистой оболочке кишечника поросят через 14 дней эксперимента, * $P \leq 0,05$.

Удельная активность щелочной фосфатазы и аминопептидазы-N также отличалась по группам животных (рисунок 24). Из полученных данных видно, что

в опытных группах животных, которым для лечения применяли *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) и *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2) в течение 14 дней, активность щелочной фосфатазы была практически на одном уровне с группой здоровых животных (контроль 0). В то же время, в группе животных без применения пробиотических энтерококков (контроль 1), активность фермента была выше в тощей кишке на 20,53% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой клинически здоровых поросят (контроль 0), на 17,37% ($P \leq 0,05$) с опытом 1 и на 17,89% ($P \leq 0,05$) с опытом 2, а также в подвздошной на 21,23% ($P \leq 0,05$), 15,75% ($P \leq 0,05$) и 11,64% ($P \leq 0,05$) соответственно (рисунок 24А).

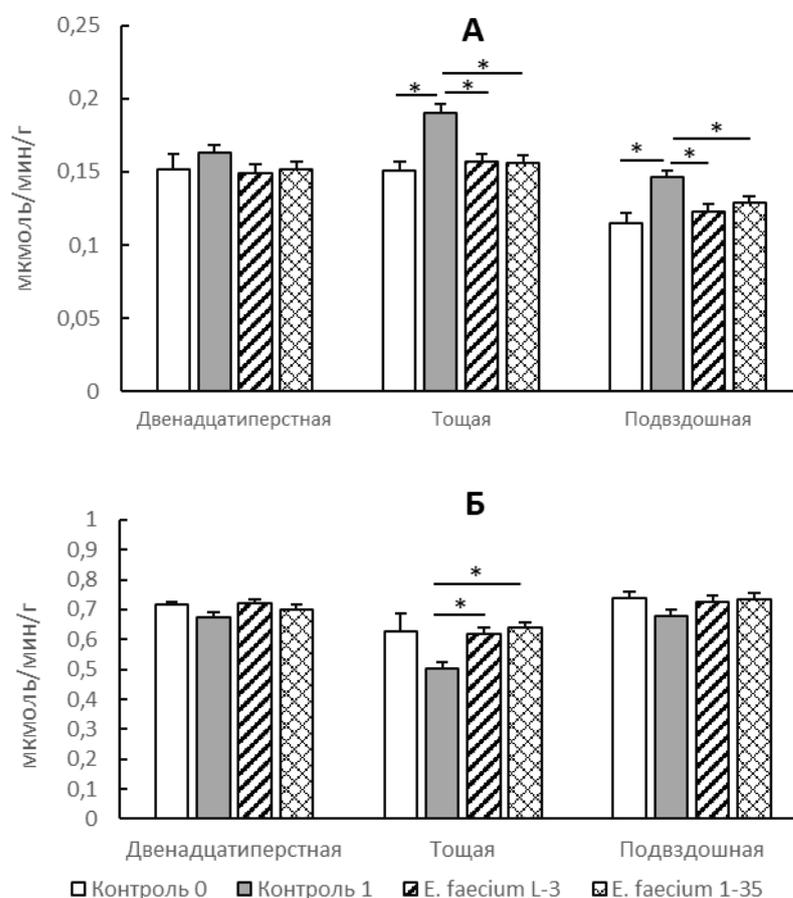


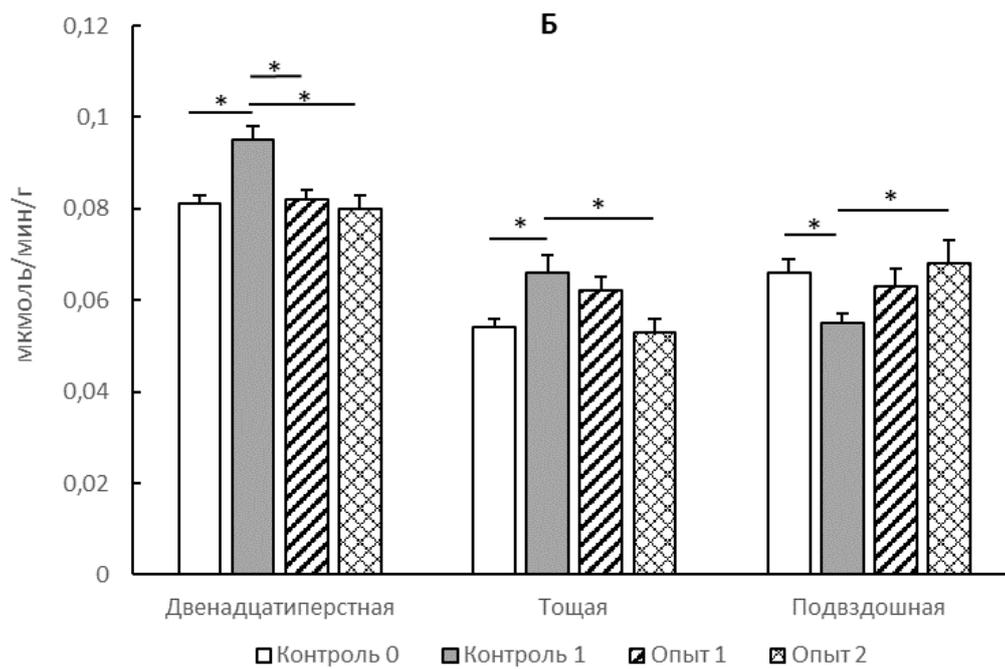
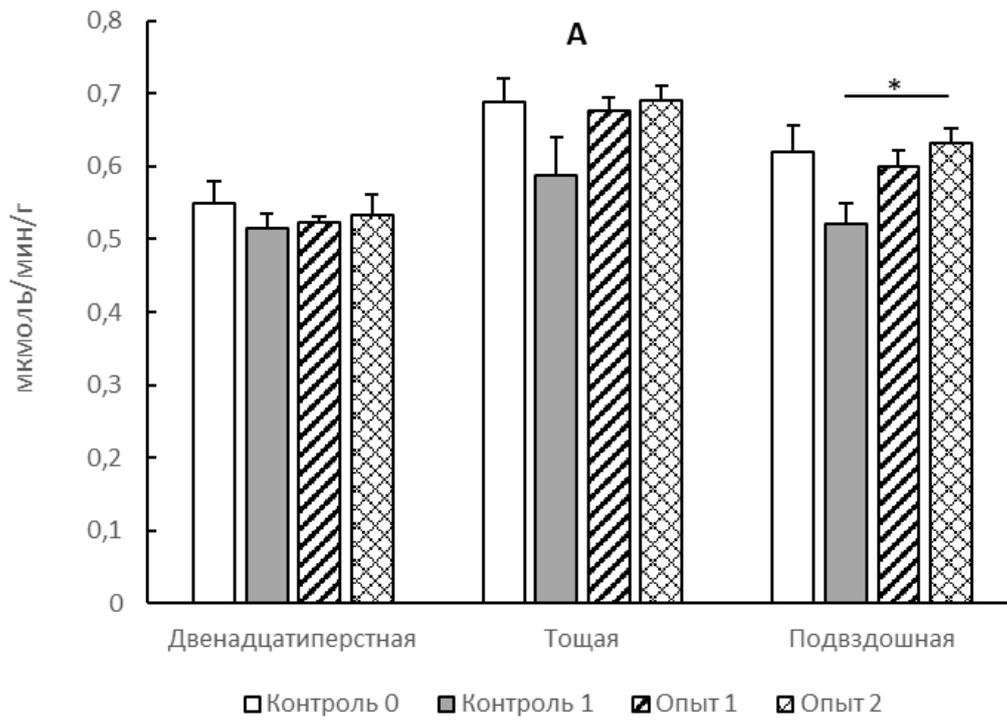
Рисунок 24 – Удельная активность щелочной фосфатазы (А) и аминопептидазы-N (Б) в слизистой оболочке кишечника поросят через 14 дней эксперимента, * $P \leq 0,05$.

Активность аминопептидазы-N в группе (контроль 1), в отличие от щелочной фосфатазы, была ниже в тощей кишке на 18,87% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой опыт 1 и на 21,41% ($P \leq 0,05$) с опытом 2 (рисунок 24Б). В опытных группах (опыт 1 и опыт 2) активность фермента практически не отличалась от группы контроль 0.

2.2.2.6 Определение активности пищеварительных ферментов в химусе кишечника

Результаты определения активности ферментов в химусной фракции кишечника у поросят представлены на рисунке 25.

Из полученных данных видно, что у поросят группы контроль 1, для лечения которых не использовали пробиотические энтерококки, активность мальтазы была в среднем ниже на 15,29% ($P \leq 0,05$), а щелочной фосфатазы напротив выше на 16,05% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой контроль 0, что свидетельствует о не полном восстановлении пищеварения у данных животных. В то же время, применение пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) и *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2) в течении 14 дней для лечения гастроэнтерита у поросят, способствовало восстановлению активности мальтазы (рисунок 25А), щелочной фосфатазы (рисунок 25Б) и аминопептидазы-N (рисунок 25В) до уровня здоровых животных (контроль 0).



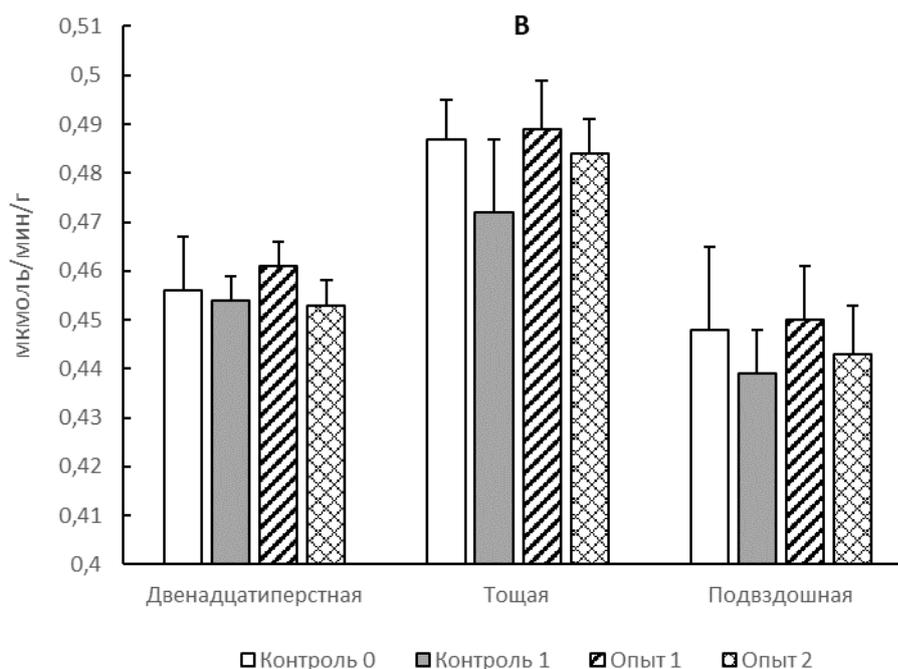


Рисунок 25 – Удельная активность мальтазы (А) щелочной фосфатазы (Б) и аминопептидазы-N (В) в химусе кишечника поросят через 14 дней эксперимента, * $P \leq 0,05$.

2.2.2.7 Изучение изменений ферментативной активности в фекалиях поросят на различных сроках эксперимента

В период проведения исследований, у поросят отбирали пробы фекалий для биохимических исследований ферментов, участвующих в конечном гидролизе пищевых белков, жиров и углеводов.

Исследование ферментативной активности в гомогенатах фекалий позволяет нам судить о динамическом равновесии между скоростью поступления ферментов в составе слущенного эпителия в полость кишечника и скоростью их деградации под действием ферментов полостного пищеварения.

В таблице 6 представлены результаты исследования активности ферментов в начале лечения гастроэнтерита у поросят.

Из полученных данных видно, что у больных животных, в отличие от здоровых наблюдалось снижение активности мальтазы на 33,13% ($P \leq 0,05$) и аминопептидазы-N на 44,79% ($P \leq 0,05$). Активность щелочной фосфатазы у больных животных наоборот выше на 20,75% ($P \leq 0,05$).

Таблица 6 – Удельная активность ферментов в фекалиях поросят в начале эксперимента, мкмоль/мин/г ($M \pm m$)

Ферменты	Группы животных	
	Контроль 0 (n=10)	Контроль 1 (n=10)
Мальтаза	0,335±0,031	0,224±0,019*
Щелочная фосфатаза	0,126±0,004	0,159±0,010*
Аминопептидаза-N	0,096±0,009	0,053±0,005*

* $P \leq 0,05$.

Примечание: уровень достоверности (P) выведен при сравнении результатов активности ферментов в группах контроль 1 и контроль 0.

Как видно из рисунка 26, наиболее значимые отличия в активности пищеварительных ферментов наблюдались через семь дней от начала лечения поросят. Так, в группе животных, которым не применяли пробиотические энтерококки (контроль 1) была снижена по сравнению с контрольной группой (контроль 0) активность мальтазы на 28,61% ($P \leq 0,05$) и аминопептидазы-N на 49,44% ($P \leq 0,05$). В то же время, применение пробиотических энтерококков для лечения гастроэнтерита у поросят (опыт 1 и опыт 2) способствовало повышению по сравнению с контролем 1 активности мальтазы в среднем на 32,70% ($P \leq 0,05$) и аминопептидазы-N на 53,61% ($P \leq 0,05$). Также в группе (контроль 1) наблюдалась тенденция к повышению щелочной фосфатазы. Можно предположить, что повышение активности мальтазы в опытных группах связано с существенным вкладом в расщепление углеводов в кишечнике поросят микрофлоры, продукты метаболизма которой оказывают влияние на активность мембранных карбогидраз

энтероцитов. Это предположение косвенно подтверждается данными бактериологического исследования.



Рисунок 26 – Удельная активность ферментов в фекалиях поросят через семь дней эксперимента, * $P \leq 0,05$.

Из рисунка 27 видно, что после лечения животных в течении 14 дней в фекалиях поросят опытных групп (опыт 1 и опыт 2) наблюдалось восстановление ферментативной активности практически до значений группы здоровых животных (контроль 0), а в некоторых случаях заметна тенденция к повышению активности ферментов.

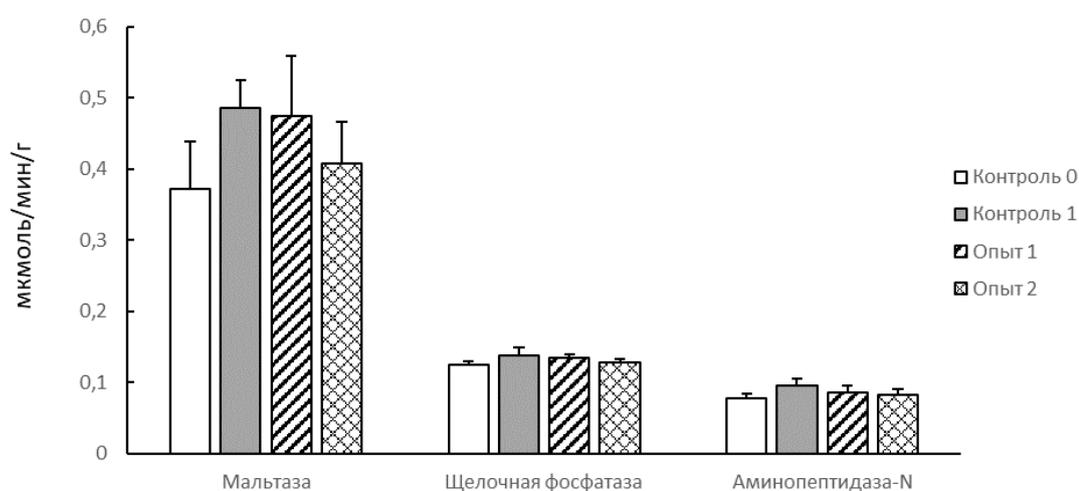


Рисунок 27 – Удельная активность ферментов в фекалиях поросят через 14 дней эксперимента.

В группе животных без применения пробиотических энтерококков (контроль 1) также наблюдалась тенденция к повышению активности мальтазы на 23,51% ($P \geq 0,05$) и аминопептидазы-N на 18,75% ($P \geq 0,05$) по сравнению с контролем 0.

Таким образом, лечение гастроэнтерита у поросят в период отъема с использованием пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 способствовало восстановлению ферментативной активности кишечника уже через семь дней, в то время как у поросят, которым не применяли для лечения пробиотики (контроль 1) ферментативная активность в пищеварительном тракте частично нормализовалась только на 14 день.

Анализируя полученные данные, можно сделать вывод, что применение пробиотических энтерококков для лечения гастроэнтерита у поросят в период отъема способствует нормализации не только мембранного пищеварения, но и полостного в кишечнике у животных в более ранние сроки.

2.2.3 Гистоморфологические изменения кишечника поросят в ходе экспериментальных исследований

В своих работах Курятова, Е. В. (2015) и Реутова, Е. А. (2018) отмечают, что степень тяжести течения гастроэнтерита напрямую зависит от степени поражения слизистых оболочек желудка и кишечника. Морфологические изменения данных структур необходимо учитывать при разработке научно обоснованных методов профилактики и лечения данной патологии.

В ходе проведения гистологических исследований, установлено, что тонкая кишка у поросят состоит из слизистой оболочки, подслизистой основы, а также мышечной и серозной оболочек (Смирнова, Е. М., 2021; Зеленевский, Н. В., 2022). Морфометрические показатели структур приведены в таблице 7.

Таблица 7 - Морфометрические параметры структур тонкой кишки здоровых поросят ($M \pm m$)

Исследуемые параметры, мкм	Двенадцати-перстная кишка (n=5)	Тощая кишка (n=5)	Подвздошная кишка (n=5)
Высота кишечной ворсинки	410,00±17,89	241,00±13,08	230,00±16,43
Ширина кишечной ворсинки	82,20±4,41	71,000±6,0	75,80±2,08
Глубина крипт	103,80±5,93	116,60±7,00	122,00±6,82
Ширина устья крипт	10,20±1,46	14,20±1,42	13,20±1,32
Высота эпителиоцитов крипт	15,80±1,16	16,00±0,95	14,00±1,3
Высота эпителиоцитов ворсинки	29,20±2,44	27,60±0,93	28,00±2,43
Толщина слизистой оболочки	519,00±43,77	399,80±6,93	383,00±9,17
Толщина подслизистого слоя	56,00±4,85	41,00±1,87	38,00±3,39
Толщина мышечного слоя	104,00±5,79	113,00±5,61	112,00±8,0
Толщина серозной оболочки	41,20±3,06	39,60±2,48	34,60±2,48

Слизистая оболочка имеет характерный рельеф за счет наличия ворсин, крипт и складок. Данные структуры существенно увеличивают ее поверхность, обеспечивая большую площадь контакта с химусом, что необходимо для более эффективного пристеночного пищеварения. Кишечные складки представляют собой постоянные структуры, не расправляющиеся при наполнении кишечника. Крипты (кишечные железы) углублены в собственный соединительнотканый слой слизистой оболочки. Кишечные ворсины – нитевидные выпячивания слизистой оболочки кишки – обращены в сторону ее просвета. В основе каждой из ворсин лежит соединительная ткань собственной пластинки слизистой оболочки.

В составе слизистой оболочки можно выделить несколько слоев – эпителиальный, мышечную пластинку и подслизистую основу.

Основные морфологические структуры стенки тонкой кишки отображены на рисунках 28-30.

Эпителиальный слой слизистой оболочки тонкой кишки представлен однослойным призматическим эпителием. Входящие в его состав клетки имеют различные морфологические черты, зависящие в первую очередь от их дислокации и обуславливающие выполнимые ими функции. Так, пролиферирующие и

дифференцирующиеся клетки выстилают крипты, а функционирующие и экструзирующие смещены на поверхность кишечных ворсин. Таким образом в тонкой кишке, по мере развития эпителиоцитов наблюдается их перемещение со сменой, выполняемой ими функции по направлению от крипт к поверхности ворсин. По мере прохождения данного пути за короткий временной период эпителиоциты подвергаются структурным перестройкам, превращаясь в различные типы клеток. Достигнув вершины ворсины эпителиальные клетки экструзируются в просвет кишечника, перед этим набухая или обезвоживаясь.

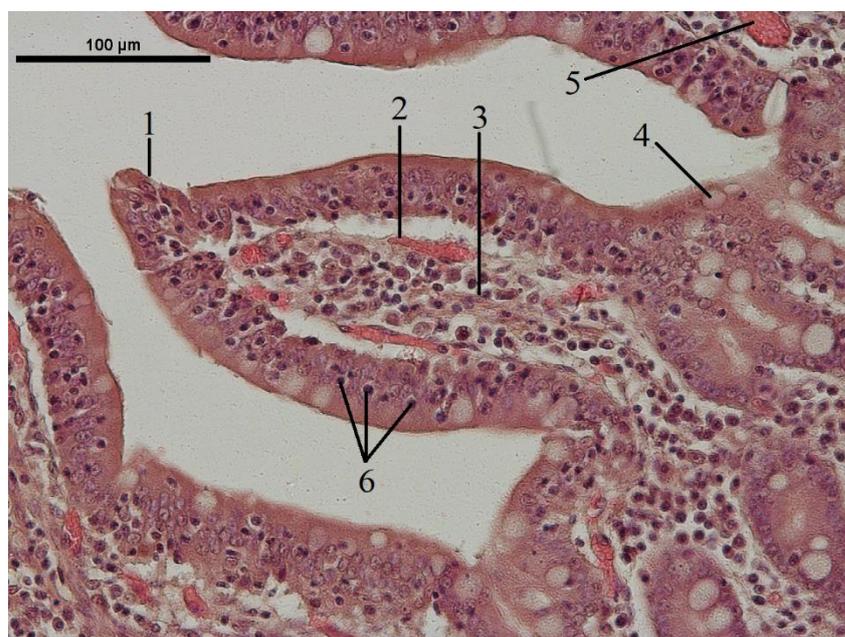


Рисунок 28 – Гистологический срез стенки двенадцатиперстной кишки поросенка в возрасте 41 день. Окраска гематоксилином и эозином:

- 1 – экструзирующие эпителиоциты; 2 – артерия кишечной ворсины;
3 – соединительная ткань; 4 – бокаловидная клетка; 5 – кровеносный сосуд подслизистой основы; 6 – ядра каемчатых энтероцитов.

Таким образом, можно прийти к выводу, что эпителиальная выстилка тонкой кишки изученных животных представляет собой высоко динамичную структуру, быстро реагирующую на изменяющиеся нагрузки, за счет высокой скорости обновления клеток.

Основная масса эпителиального пласта представлена каемчатыми энтероцитами (около 90,00% от всей клеточной популяции). Помимо них в формировании эпителиальной выстилки тонкой кишки принимают участие бокаловидные, эндокринные, панетовские, пролиферирующие и стволовые клетки.

В области крипт эпителий в основном сформирован за счет низкопризматических пролиферирующих клеток. Высота последних увеличивается по мере их продвижения к устью крипты. При этом в нижней и средней трети крипты на их апикальной поверхности появляются редкие короткие микроворсинки, а в составе эпителиального пласта данных областей заметны следы митотических делений. В базальной части клеток выявляется относительно крупное ядро, имеющее овальную или округлую форму. На большом увеличении в составе ядра выявляется одно-два эксцентрично расположенных ядрышка. В области дифференцировки клеток (основание кишечной ворсины) их ядра уплотняются и принимают овальную форму.

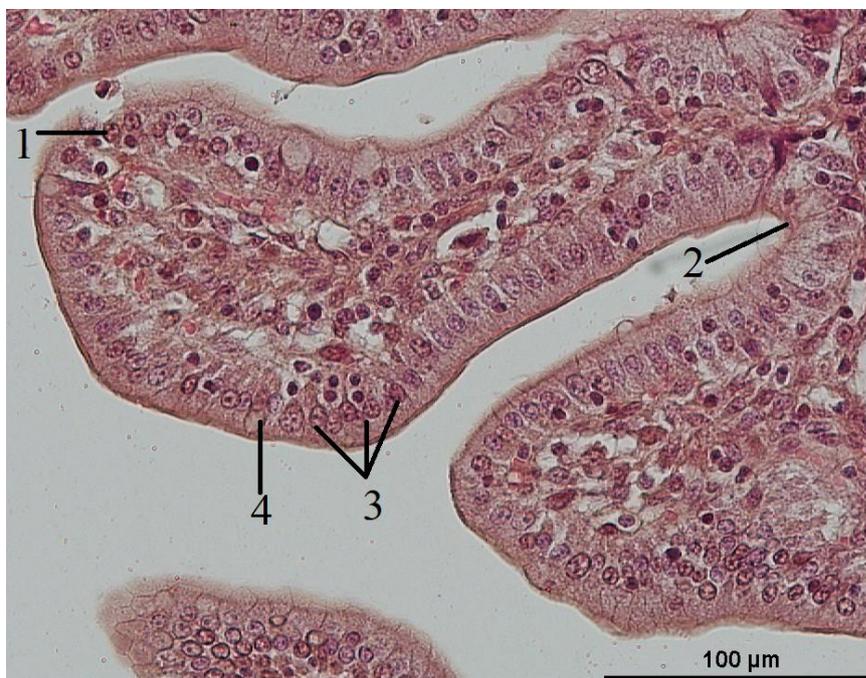


Рисунок 29 – Гистологический срез стенки тощей кишки поросенка в возрасте 41 день. Окраска гематоксилином и эозином:

- 1 – экструдирующие эпителиоциты; 2 – дно кишечной крипты;
3 – ядра каемчатых энтероцитов; 4 – бокаловидная клетка.

В бокаловидных клетках в апикальной части цитоплазмы в большом количестве скапливаются секреторные гранулы. За счет чего клетка приобретает типичную бокаловидную форму (сужены у базального полюса). Количество секрета в бокаловидных клетках непостоянно. Выделяясь, он формирует на эпителиальной поверхности слой слизи, необходимый для пристеночного пищеварения.

При формировании из профилирующих клеток каемчатых эпителиоцитов на их апикальном конце существенно увеличивается число микроворсинок. Последние заметны на срезах, окрашенных гематоксилином и эозином в виде оксифильной щеточной каймы. Базальные концы клеток лежат на базальной мембране, через которую контактируют с кровеносными капиллярами.



Рисунок 30 – Гистологический срез стенки подвздошной кишки поросенка в возрасте 41 день. Окраска гематоксилином и эозином:
1 – экструдирующие эпителиоциты; 2 – энтероцит; 3 – бокаловидные клетки, заполненные секретом.

Помимо вышеуказанных клеток на дне крипт встречаются клетки, содержащие в апикальной части цитоплазмы оксифильную зернистость (клетки Панета). Указные клетки имеют призматическую форму. Их апикальная часть сужена и контактирует с устьем крипты, а базальная расширена и содержит крупное ядро эллипсоидной формы.

Также между энтероцитами встречаются единичные лимфоциты. Последние мигрируют сюда из собственной пластинки слизистой оболочки. Их тела имеют округлую форму и содержат одно овальное или палочкообразное ядро.

Аблюминальной поверхностью клетки эпителиального пласта соединяются с базальной мембраной.

Мышечная пластинка разграничивает слизистую оболочку от подслизистого слоя. Она представлена циркулярным и продольным слоями гладких миоцитов. Подслизистая основа сформирована рыхлой соединительной тканью, богатой кровеносными сосудами и нервными окончаниями, местами содержит скопления жировой ткани.

Мышечная оболочка кишки представлена внутренним циркулярным и наружным продольным слоями гладких миоцитов. Последние сформированы за счет мышечных волокон, косо ориентированных относительно длины кишки. Между ними лежит прослойка рыхлой волокнистой неоформленной соединительной ткани, в которой содержатся кровеносные сосуды и элементы ауэрбахова нервного сплетения.

Серозная оболочка кишки представлена рыхлой соединительной тканью, выстланной со стороны брюшной полости мезотелием.

Таким образом, у изученных животных тонкая кишка устроена в соответствии с общим планом строения, свойственным млекопитающим.

При проведении вскрытия поросят с гастроэнтеритом, с целью отбора проб для гистологического исследования, нами было отмечено, что местами тонкая кишка изученных животных была вздута за счет скопившихся в ней газов, а ее петли слегка растянуты. Просвет кишечника был заполнен значительным количеством серозно-слизистого экссудата (рисунок 31).

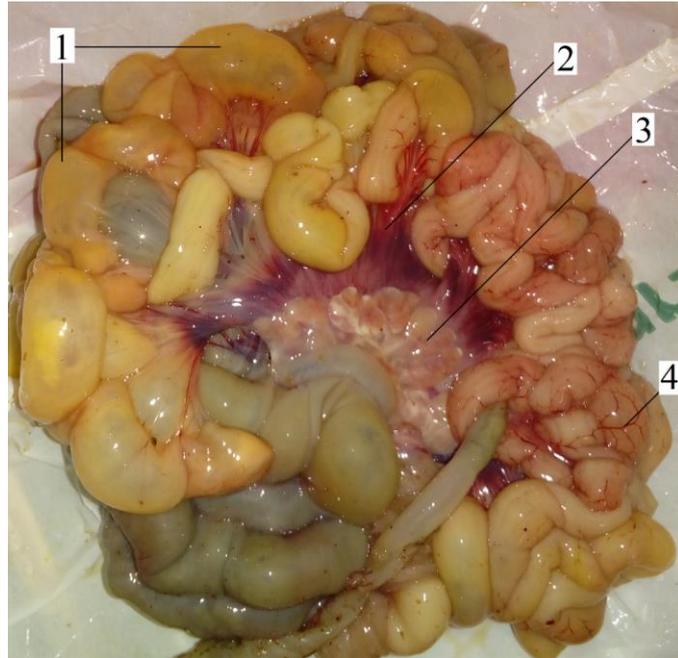


Рисунок 31 – Кишечник поросенка отъемыша, больного гастроэнтеритом:

- 1 – вздутые петли тощей кишки; 2 – кровенаполненные сосуды брыжейки;
3 – увеличенные мезентеральные узлы; 4 – кровенаполненные сосуды тощей
кишки.

Сосудистая сеть брыжейки тонкой кишки за счет сильного кровенаполнения хорошо визуализировалась. Мезентеральные лимфатические узлы были увеличены в размерах и имели признаки отека и воспаления. У одного из исследованных животных отмечалось наличие множественных кровоизлияний в составе их паренхимы (рисунок 32).



Рисунок 32 – Воспаленные мезентеральные лимфатические узлы с кровоизлияниями поросенка отъемыша, больного гастроэнтеритом.

Слизистая оболочка тонкой кишки была отечна, гиперемирована и покрыта серозно-слизистым экссудатом. Местами на ней выявляются точечные кровоизлияния и мелкие эрозии. Подслизистая основа была увеличена в объеме, набухшая и имела тесноватую консистенцию. При рассечении слизистой оболочки и подслизистой основы на поверхности среза отмечалось выделение значительного количества слегка опалесцирующей жидкости, что является признаком их отека (рисунок 33).



Рисунок 33 – Вид слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки поросенка отъемыша, больного гастроэнтеритом.

При изучении гистологических срезов отделов тонкой кишки выявлялось значительное утолщение ее слизистой оболочки, мышечной пластинки и подслизистой основы, обусловленное серозно-воспалительным отеком, гиперемией и клеточной инфильтрацией. Последняя образуется преимущественно за счет лимфоцитов, эозинофильных лейкоцитов и плазматических клеток. О наличии отека также свидетельствуют изменения в структуре сосудистого русла. Так, в составе указанных слоев стенки тонкой кишки отмечается расширение сосудов. Местами на их гистологических срезах можно отметить признаки периваскулярного отека. Указанные изменения со стороны сосудистого русла также характерны для гиперемии (рисунок 34).

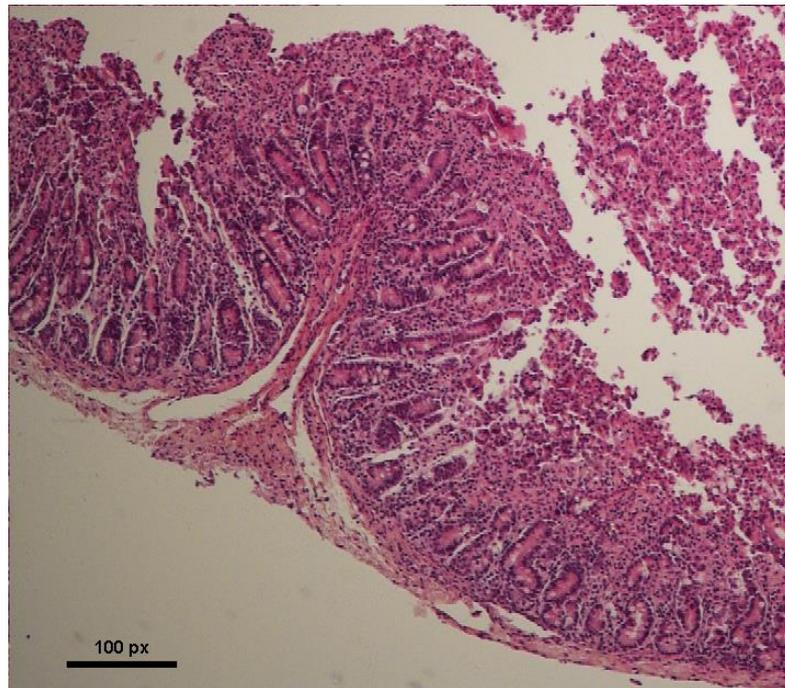


Рисунок 34 – Гистологический препарат стенки двенадцатиперстной кишки поросенка отъемыша, больного гастроэнтеритом. Окраска гематоксилином и эозином. Отмечается десквамация покровного эпителия кишечных ворсин и их атрофия.

В составе эпителиального слоя выявлялись признаки дистрофии и десквамации входящих в его состав клеток. Особенно ярко это было выражено в

области кишечных ворсин. В промежутках между кишечными ворсинами и в составе просвета кишки регистрировалось наличие экссудата, состоящего из слущенного эпителия, серозной жидкости с примесью значительного количества слизи и небольшого количества клеточных элементов. Последние были представлены преимущественно лейкоцитами. Также в составе экссудата встречались эритроциты и гистиоциты (рисунок 35).

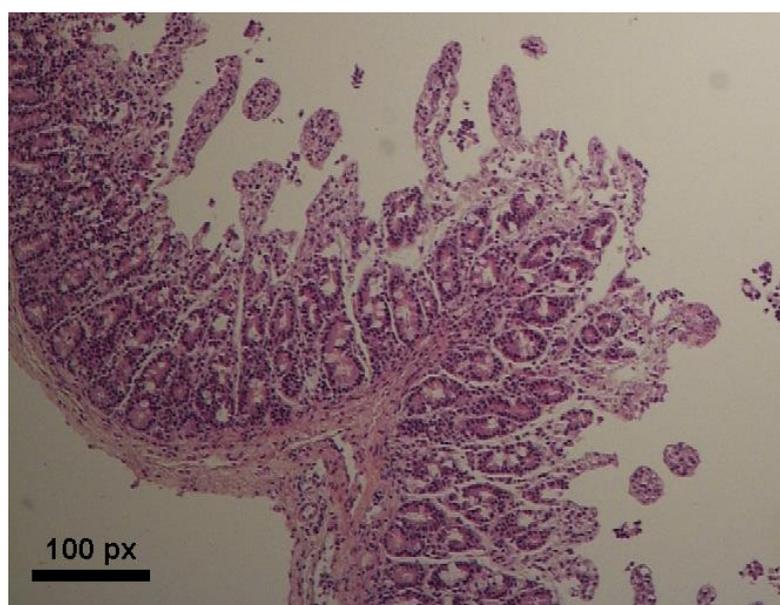


Рисунок 35 – Гистологический препарат стенки тощей кишки поросенка отъемыша, больного гастроэнтеритом. Окраска гематоксилином и эозином. Отмечается десквамация покровного эпителия кишечных ворсин и их атрофия.

При этом наблюдалось гиперплазия бокаловидных клеток, которые находились в состоянии гиперсекреции, на фоне снижения числа других типов эпителиоцитов, формирующих выстилку тонкой кишки. Данное обстоятельство обуславливает повышенное выделение слизи в просвет кишечника. Следует отметить, что в большинстве случаев в глубине крипт покровный эпителий сохранился без выраженных изменений (рисунок 36).

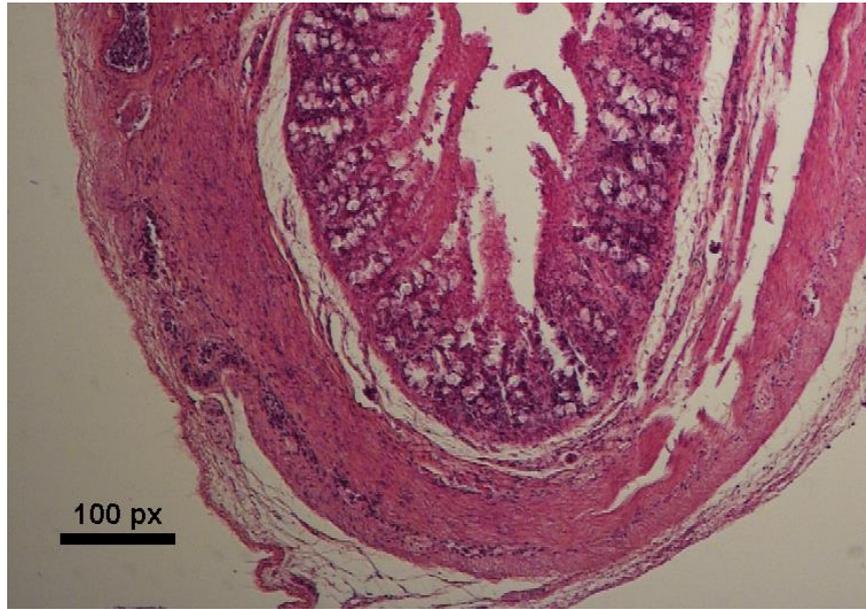


Рисунок 36 – Гистологический препарат стенки подвздошной кишки поросенка отъемыша, больного гастроэнтеритом. Окраска гематоксилином и эозином. Отмечается десквамация покровного эпителия кишечных ворсин и их атрофия. Ярко выражена гиперплазия бокаловидных клеток.

При проведении отбора гистологических образцов из тонкого кишечника у поросят, после лечения гастроэнтерита с использованием пробиотических энтерококков, нами было отмечено в обеих опытных группах легкая степень вздутия петель тонкой кишки, а также увеличение мезентеральных лимфатических узлов. На гистологических срезах стенки тонкой кишки поросят из групп опыт 1 (рисунок 37) и опыт 2 (рисунок 38) следует отметить кровенаполнение сосудистых ветвей, проходящих в составе кишечных ворсин. На указанных препаратах крайне редко выявлялись небольшие участки десквамации эпителия. При этом, в сравнении со здоровыми животными, в составе эпителиального пласта выявлялось большее количество бокаловидных клеток, а также незначительное количество энтероцитов с признаками вакуолизации цитоплазмы.

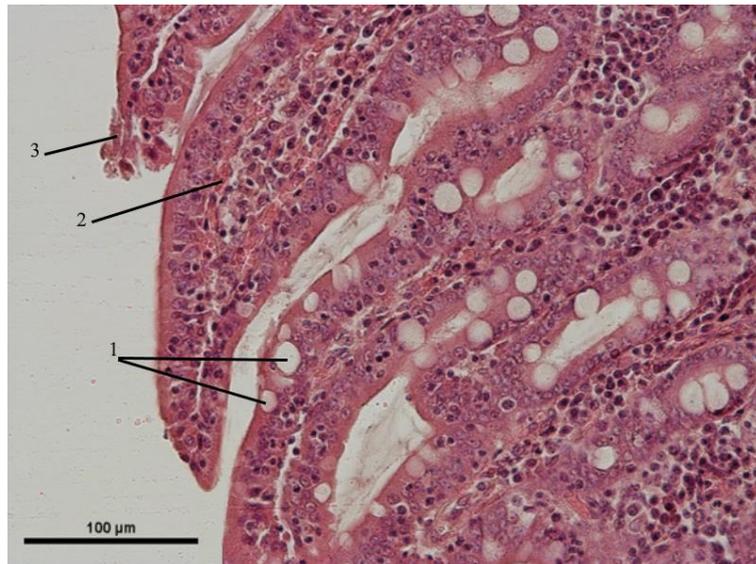


Рисунок 37 – Гистологический срез стенки двенадцатиперстной кишки поросенка из группы опыт 1 в возрасте 41 день. Окраска гематоксилином и эозином:
 1 – бокаловидные клетки; 2 – сосудистая ветвь кишечной ворсины;
 3 – участок слущенного эпителия.



Рисунок 38 – Гистологический срез стенки двенадцатиперстной кишки поросенка из группы опыт 2 в возрасте 41 день. Окраска гематоксилином и эозином:
 1 – участок слущенного эпителия; 2 – сосудистая ветвь кишечной ворсины;
 3 – бокаловидные клетки; 4 – энтероциты.

Таким образом, полученные данные гистоморфологического исследования участков тонкой кишки поросят свидетельствовали о наличии воспалительного процесса у животных больных гастроэнтеритом, которые сопровождались признаками воспалительного отека, клеточной инфильтрации и десквамацией слизистой оболочки кишечника.

Лечение поросят больных гастроэнтеритом с использованием пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 способствовало восстановлению структуры слизистой оболочки кишечника.

3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

При желудочно-кишечных заболеваниях в пищеварительном тракте нарушается секреторная, моторная, переваривающая и всасывательная функции. По мнению Г. И. Коцюмбас (2014), при воспалении кишечника происходят также нарушения начальных и заключительных стадиях гидролиза пищевых субстратов и активный транспорт мономеров через кишечную стенку, что может послужить причиной нарушения обменных процессов в организме.

Н. W. Moon (1978) связывает неполноценное всасывания пищевых субстратов в кишечнике при воспалении с недостаточным гидролизом в результате дефицита ферментов.

Бактериальная микрофлора желудочно-кишечного тракта выполняет функцию химического гомеостата. По мнению Т. С. Поповой (2001), присутствие микроорганизмов в кишечнике оказывает существенное влияние на активность мембранных ферментов.

Существует большое количество работ, направленных на изучение микробиоты в желудочно-кишечном тракте и выяснения ее физиологического значения для всего организма (Селиванова, И. Р., 2007; Спиридонов, А. Г., 2011; Терехов, В. И., 2015; Slifierz, M. et al., 2015; Филатов, А. В., 2020; Нетребенко, О. К., 2021). Однако до сих пор остаются нерешенными и малоизученными вопросы, касающиеся влияния состава кишечного микробиоценоза на процессы гидролиза и всасывания пищевых веществ. Особого внимания в этом плане заслуживают вопросы, касающиеся влияния пробиотических бактерий, широко используемые в последнее время для коррекции дисбиозов различной этиологии, на состав кишечного микробиоценоза и на мембранное пищеварение, в значительной степени определяющее общий метаболизм организма и его гомеостаз.

Направление данного исследования было связано прежде всего с отказом от широкого применения антибактериальных средств, в связи с возрастающей устойчивостью условно-патогенной микрофлоры.

Существуют разные модели экспериментального дисбиоза кишечника у лабораторных крыс и мышей. Для этого животным вводятся различные антибиотики (Гапон М. Н., 2004; Афонюшкин В. Н., 2004). Для проведения наших исследований, предпочтение было отдано комбинации антибактериальных препаратов (ампициллин и метронидазол) широкого спектра действия, которые ингибируют рост большинства представителей микробиоты кишечника млекопитающих. Вместе с тем, препараты были использованы в нетоксичных дозах, которые в перерасчете на 1,00 г массы тела крысы лишь в два раза превышали средние терапевтические дозы для человека (Ермоленко, Е. И., 2009; 2014).

После проведения первого этапа исследований на лабораторных животных было установлено, что после введения в течение трех дней антибактериальных препаратов, у крыс контрольной (контроль 1) и опытных групп (опыт 1 и опыт 2) наблюдалось снижение массы тела по сравнению с контрольной группой (контроль 0). Через пять дней после начала введения пробиотических энтерококков, масса тела животных была практически одинаковой во всех группах. Однако, применение пробиотических энтерококков (опыт 1 и опыт 2) способствовало повышению массы тела у животных в среднем на 32,54 грамма, в то время как у животных без коррекции дисбиоза (контроль 1) за аналогичный промежуток времени масса тела увеличилась лишь на 25,62 грамм. Похожие результаты были получены в исследованиях других авторов, указывающие на то, что при использовании большинства пробиотических бактерий, за исключением бактероидов, наблюдается увеличение массы тела людей и животных (Ермоленко, Е. И., 2009).

В дальнейшем, к моменту завершения эксперимента, масса тела крыс из группы опыт 1 была ниже на 6,83% ($P \leq 0,05$) по сравнению с животными из группы контроль 1. Однако, масса тела у крыс группы опыт 2, которым вводили *Enterococcus faecium* 1-35, была выше, чем у животных из группы опыт 1 на 2,78% ($P \leq 0,05$).

Также, как и масса тела, потребление корма снижалось после введения антибактериальных препаратов в группах контроль 1, опыт 1 и опыт 2, а затем повышалось до практически одного уровня с группой здоровых животных (контроль 0) через пять дней применения пробиотических энтерококков. В дальнейшем, животные из групп опыт 1 и опыт 2, съедали меньше кормов, чем животные из контрольных групп контроль 0 и контроль 1.

По результатам биохимического анализа крови через 14 дней коррекции дисбиоза в группе (контроль 1) обнаружено снижение (по сравнению с контролем 0) амилазы на 13,80% ($P \leq 0,05$), липазы на 70,24% ($P \geq 0,05$) и аспаратаминотрансферазы на 7,05% ($P \geq 0,05$), а также уровня магния на 8,45% ($P \geq 0,05$) и холестерина на 15,58% ($P \leq 0,05$). В группе животных, получавших на протяжении 14 дней *E. faecium* L-3 (опыт 1) были выше показатели амилазы на 11,31% ($P \leq 0,05$), холестерина на 14,36% ($P \leq 0,05$), а также снижен уровень фосфора на 9,90% ($P \leq 0,05$) по сравнению с контролем 1. В то же время, в группе животных, которым вводили *E. faecium* 1-35 (опыт 2), был выше уровень амилазы на 13,91% ($P \leq 0,05$), липазы на 81,78% ($P \leq 0,05$) и аспаратаминотрансферазы на 13,23% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой без коррекции дисбиоза (контроль 1). Также был выше уровень магния на 14,20% ($P \leq 0,05$), кальция на 7,15% ($P \leq 0,05$) и калия на 5,03% ($P \leq 0,05$).

Таким образом можно заключить, что применение пробиотических энтерококков *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 для коррекции дисбиоза эффективно в отношении восстановления обмена веществ в организме лабораторных животных.

Принято считать, что пробиотики, к которым чаще всего относятся штаммы лактобацилл и бифидобактерий, способны улучшать микроэкологию кишечника и, как следствие, также положительно влиять на многие метаболические и физиологические процессы в организме, в регуляции которых они участвуют (Шульпекова, Ю. О., 2010). Также существует ряд работ доказывающие, что кишечный микробиоценоз стимулирует процессы регенерации и способствует инфильтрации иммунокомпетентными клетками в слизистой кишечника

(Бондаренко, В. М., 2004; Ермоленко, Е. И., 2009). Из полученных нами результатов исследования состояния микробиоценоза в фекалиях методом ПЦР-РВ видно, что уже через три дня применения *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) общая бактериальная масса и *Bacteroides spp.* были выше на 12,21% ($P \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой (контроль 1) и на 8,40% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой животных получавших *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2). Также в группе (опыт 1) было выше содержание *Bifidobacterium spp.* и *Faecalibacterium prausnitzii* на 17,41% ($P \leq 0,05$) и 13,64% ($P \leq 0,05$) соответственно, чем в группе (опыт 2). В то же время в фекалиях крыс, которым не вводили пробиотические энтерококки (контроль 1), было ниже содержание *Acinetobacter spp.* на 26,47% ($P \leq 0,05$) чем в группе здоровых животных (контроль 0).

При бактериологическом исследовании, через семь дней с момента введения антибактериальных препаратов, на фоне применения *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) и *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2) повышалось содержание *Lactobacillus spp.* в среднем на 9,55% ($P \geq 0,05$) и снижалось количество *Escherichia coli* по сравнению с контрольной группой (контроль 1). В то же время, у животных, которым не применяли пробиотические энтерококки для коррекции дисбиоза (контроль 1), содержание кишечной палочки оставалось повышенным на 9,98% ($P \geq 0,05$) по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0). Аналогичные результаты были получены Е. И. Ермоленко с соавторами (2009) при изучении влияния *Enterococcus faecium* L5 на функциональные характеристики кишечника крыс при дисбиозе, индуцированном антибактериальными препаратами.

Через 14 дней после отмены антибактериальных препаратов и начала введения пробиотических энтерококков общая бактериальная масса и содержание *Bacteroides spp.* было выше по сравнению с группой контроль 0 как в группе без применения пробиотиков (контроль 1), так и в опытных группах (опыт 1 и опыт 2) в среднем на 13,72% ($P \leq 0,05$). В группе без применения пробиотических энтерококков (контроль 1) было выше содержание лактобацилл на 7,17% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой опыт 2, а содержание *Faecalibacterium prausnitzii* на 16,88% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой контроль 0 и на 6,85% ($P \leq 0,05$) с группой

после применения *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1). В то же время оставалось сниженным содержание *Acinetobacter spp.* в группе контроль 1 на 8,19% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0). Содержание бактерий в опытных группах (опыт 1 и опыт 2) было практически на одном уровне и близко к группе здоровых животных (контроль 0).

В. Н. Афонюшкин (2004) с соавторами проследили характер морфологических изменений слизистой оболочки кишечника при изучении влияния пробиотических лактобацилл и бифидобактерий у здоровых животных и с искусственно индуцированным дисбиозом кишечника. Результаты работы доказывают, что применение различных молочнокислых бактерий способствует уменьшению глубины крипт, а также изменяется толщина и длина кишечных ворсинок.

В ходе проведенных нами исследований, через трое суток после введения антибактериальных препаратов, масса эпителия слизистой оболочки была выше в группе с дисбиозом (контроль 1) по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0) на 27,66% ($P \leq 0,05$) в двенадцатиперстной кишке; в проксимальном отделе тощей кишки на 49,42% ($P \leq 0,05$); в подвздошной на 43,55% ($P \leq 0,05$). В то же время масса эпителия слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки была ниже в группе (опыт 1) на 17,01% ($P \leq 0,05$) и на 18,82% ($P \leq 0,05$) в группе (опыт 2); в проксимальном отделе тощей кишки на 28,77% ($P \geq 0,05$) и 23,26% ($P \leq 0,05$) соответственно; в подвздошной кишке у животных группы (опыт 1) ниже на 32,80% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой (контроль 1), что могло явиться результатом действия пробиотических энтерококков при их введении *per os*. Подобные эффекты ранее были продемонстрированы при использовании пробиотических лактобацилл и сахаромецетов (Гапон, М. Н., 2004). Через 14 дней применения пробиотических энтерококков в опытной группе (опыт 1), по сравнению с контрольной (контроль 0), наблюдалось повышение массы эпителия слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки на 16,35% ($P \leq 0,05$), но в то же время снижение в дистальном участке тощей кишки на 33,04% ($P \leq 0,05$) и на 28,13% ($P \leq 0,05$) в толстом отделе кишечника.

Масса химуса была достоверно выше (по сравнению с контролем 0) во всех отделах кишечника, за исключением толстой кишки, как после введения воды (контроль 1), так и после введения пробиотиков (опыт 1 и опыт 2) в течение трех дней. Однако, применение *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2) способствовало снижению массы химуса в подвздошной кишке на 44,33% ($P \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой без коррекции дисбиоза (контроль 1) и на 48,83% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой животных, которым вводили *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1).

Через 14 дней применения пробиотических энтерококков масса химуса была выше только в дистальном участке тощей кишки в группе (опыт 1) на 32,86% ($P \geq 0,05$), а в группе (опыт 2) на 41,18% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0). В то же время, масса химуса в толстой кишке у крыс, которым вводили *E. faecium* L-3 (опыт 1), была ниже на 42,14% ($P \leq 0,05$), а в группе с *E. faecium* 1-35 (опыт 2) на 33,91% ($P \geq 0,05$) по сравнению с контрольной группой без коррекции дисбиоза (контроль 1). Полагают, что молочнокислые бактерии в целом оказывают стимулирующее влияние на перистальтическую активность кишечника за счет воздействия короткоцепочечных жирных кислот на рецепторы и нервные окончания кишечника, а также за счет непосредственной стимуляции гладкомышечных клеток (Шульпекова, Ю. О., 2010).

Таким образом, введение пробиотических энтерококков быстрее устраняет структурные и функциональные нарушения, которые проявляются при дисбиозе кишечника.

При анализе результатов исследования активности мембранных пищеварительных ферментов было отмечено, что через три дня после введения антибактериальных препаратов, в группе животных без коррекции дисбиоза (контроль 1) наблюдалось достоверное повышение удельной активности мальтазы, щелочной фосфатазы и аминопептидазы-N в гомогенате слизистой оболочки по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0) по всей длине кишечника. Учитывая данные других авторов о том, что ингибиторы пептидаз, включая аминопептидазу-N, уменьшают проявление колита у мышей (Bank, U., 2007),

можно предположить, что повышение активности фермента в контрольной группе (контроль 1) связано с усилением защитной реакции в ответ на развитие условно-патогенной микрофлоры и повышенное поступление токсических веществ из полости кишки.

На фоне применения пробиотических энтерококков, у животных опытных групп, повышение ферментативной активности было менее выражено, а применение *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) для коррекции дисбиоза, способствовало снижению активности ферментов до уровня близкого к группе здоровых животных (контроль 0). Так в двенадцатиперстной кишке, активность мальтазы была ниже на 50,91% ($P \leq 0,05$), щелочной фосфатазы на 49,85% ($P \leq 0,05$), аминопептидазы-N на 37,45% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой без коррекции дисбиоза (контроль 1).

Через 14 дней после введения антибактериальных препаратов, в группе без применения пробиотиков (контроль 1), оставалась повышенной удельная активность мальтазы и щелочной фосфатазы в слизистой оболочке кишечника по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0) и с группами на фоне применения *E. faecium* L-3 (опыт 1) и *E. faecium* 1-35 (опыт 2). Так в дистальном участке тощей кишки в группе без коррекции дисбиоза (контроль 1) удельная активность мальтазы была выше на 25,17% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой животных, которым вводили *E. faecium* 1-35 (опыт 2). Применение пробиотических энтерококков (опыт 1 и опыт 2) способствовало снижению удельной активности ферментов практически до уровня здоровых животных (контроль 0).

Активность мембранных ферментов во фракции химуса кишечника отражает динамическое равновесие между скоростью его поступления в этот отдел кишки (в составе слущенного эпителия из вышележащих участков) и скоростью его деградации с участием панкреатических и бактериальных протеаз. Кроме того, существенное влияние на этот процесс оказывает скорость транзита химуса по кишечнику (Kushak, W. et al., 2005).

Результаты проведенных нами исследований показали, что в химусе кишечника, через три дня после отмены ампициллина и метронидазола, удельная

активность мембранных пищеварительных ферментов в группе без коррекции дисбиоза (контроль 1) была достоверно ниже в тонкой кишке по сравнению с группой здоровых животных (контроль 0), в то время как в опытных группах (опыт 1 и опыт 2) практически во всех участках кишечника активность ферментов была близка с группой здоровых животных (контроль 0). В толстом отделе кишечника во всех группах после применения антибактериальных препаратов наблюдалось достоверное повышение активности ферментов по сравнению с группой контроль 0, что подтверждает имеющиеся в литературных источниках сведения о влиянии некоторых кишечных бактерий на ингибирование пищеварительных ферментов и увеличение их активности при дисбиозах.

Через четырнадцать дней коррекции дисбиоза, удельная активность мальтазы, щелочной фосфатазы и аминопептидазы-N в химусе кишечника была практически на одном уровне по всем группам животных.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что применение пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 для коррекции дисбиоза кишечника способствует более быстрому восстановлению активности ферментов участвующих в гидролизе белков, жиров и углеводов не только в слизистой оболочке, но и в просвете кишечника, что отражается на изменении данных ферментов в химусной фракции.

Как было отмечено в обзоре литературы, данные о влиянии пробиотических бактерий на структуру кишечника и мембранные пищеварительные ферменты у животных немногочисленны. При этом в имеющихся работах действие пробиотиков на пищеварение исследовано в большинстве случаев у растущих экспериментальных или сельскохозяйственных животных с целью оценки эффективности этих препаратов в качестве стимуляторов роста.

В нашей работе мы провели исследования с применением пробиотических энтерококков для лечения гастроэнтерита у поросят в период отъема, поскольку желудочно-кишечные заболевания, по мнению ряда авторов, в свиноводческих хозяйствах занимают 60,00-65,00% от общего числа болезней неинфекционной этиологии и представляют серьезную проблему для свиноводства.

Гастроэнтерит представляет одновременное воспалительное заболевание желудка и тонкого отдела кишечника с поражением слизистого, подслизистого, часто мышечного и серозного слоев.

По мнению Л. Н. Гамко (2010), гастроэнтериты у поросят чаще возникают на первой и третьей недели жизни и непосредственно после отъема, что связано с возрастными физиологическими изменениями в организме животных и воздействием стресса при отъеме поросят от свиноматок.

Одним из основных факторов возникновения желудочно-кишечных заболеваний поросят является неполноценное, нерациональное кормление свиноматок, а также нарушение условий содержания супоросных и подсосных свиноматок и новорожденного молодняка. А. А. Ивановский (2013) отметил, что в хозяйствах с концентратным типом кормления свиноматок, наблюдается высокий отход поросят от гастроэнтеритов.

Рассмотрев вопросы этиологии гастроэнтерита у поросят в период отъема, можно сделать заключение, что основными предрасполагающими факторами возникновения заболевания, на наш взгляд, являются несбалансированный, прежде всего по составу и содержанию питательных веществ рацион для свиноматок и молодняка, рождение слаборазвитых поросят, а также резкая смена кормов в период отъема животных.

Установлено, что при рождении поросята имели живую массу от 0,80 до 1,20 кг. Среди общего числа животных каждого гнезда было выявлено до 30,00% слаборазвитых животных, которые в дальнейшем отставали в росте и развитии.

Заболеваемость гастроэнтеритом чаще регистрировалась на 2 - 4 день после отъема в первую очередь у поросят-гипотрофиков, а в дальнейшем до 50,00-60,00% поросят из помета. Пик желудочно-кишечных заболеваний у поросят в хозяйстве наблюдается в зимне-весенний период.

Результаты анализа проведенных исследований показали, что применение пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) и *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2) для лечения гастроэнтерита у поросят способствовало снижению клинических признаков заболевания уже на третий день. В то время, как у поросят

контрольной группы (контроль 1), лишь на пятый-седьмой день отмечалось снижение симптомов заболевания желудочно-кишечного тракта. Средний вес больных гастроэнтеритом животных перед началом лечения составлял $5,82 \pm 0,05$ кг, клинически здоровых – $6,07 \pm 0,07$ кг ($P \leq 0,05$). Поросята, получавшие в течение четырнадцати дней пробиотические энтерококки (опыт 1 и опыт 2), имели более высокий прирост массы тела на $0,72$ кг ($P \leq 0,05$) и $0,89$ кг ($P \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой животных (контроль 1), у которых вес был ниже на $0,69$ кг ($P \leq 0,05$) в отличие от здоровых животных (контроль 0).

Согласно данным ряда авторов (Дмитриенко В. Г., 2004; Зубарев А. Е., 2017; Кудинов Р. И., 2003; Новикова С. В., 2014), воздействие различных стрессовых факторов на поросят после отъема приводят к возникновению заболеваний органов пищеварения, которые протекают с нарушением обмена веществ, в результате чего отмечаются изменения в биохимических и клинических показателях крови.

Полученные данные биохимических исследований сыворотки крови свидетельствовали о существенных отклонениях в обмене веществ больных гастроэнтеритом поросят (контроль 1) и характеризовались гипопроотеинемией, гипогликемией, нарушением фосфорно-кальциевого соотношения.

При анализе результатов биохимического исследования крови у животных через 14 дней применения *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1), по сравнению с контролем 1, наблюдалась тенденция к увеличению содержания общего белка на $8,18\%$ ($P \geq 0,05$) и глобулинов на $13,75\%$ ($P \geq 0,05$). Также наблюдалось повышение уровня глюкозы на $14,42\%$ ($P \leq 0,05$). В то же время, наблюдалось снижение содержания аспаратаминотрансферазы на $20,99\%$ ($P \leq 0,05$), щелочной фосфатазы на $17,62\%$ ($P \geq 0,05$) и холестерина на $18,18\%$ ($P \geq 0,05$).

Применение *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2) для лечения гастроэнтерита у поросят способствовало повышению альбуминов в крови на $9,69\%$ ($P \geq 0,05$) и глюкозы на $21,24\%$ ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой поросят, которым не вводили пробиотики (контроль 1). В то же время, у животных опытной группы наблюдалось снижение содержания в крови мочевины на $20,79\%$ ($P \geq 0,05$), щелочной фосфатазы на $21,55\%$ ($P \leq 0,05$) и холестерина на $21,10\%$ ($P \leq 0,05$).

При анализе основных морфологических показателей крови поросят после применения пробиотических энтерококков отмечено, что они так же имели тенденцию к повышению гемоглобина в крови поросят в среднем на 6,23%, а также к снижению лейкоцитов на 15,20% и СОЭ на 31,38% по сравнению с группой без применения пробиотиков (контроль 1).

Таким образом, применение пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 для лечения гастроэнтерита у поросят способствовало улучшению общего метаболизма в организме животных.

По данным других авторов (Лаптев, Г. Ю., 2020), в кишечнике поросят-отъемышей, по сравнению с сосунами, происходит снижение полезных лактобацилл и энтерококков, обладающих антимикробной активностью, и блокирующих колонизацию кишечника патогенами, что в дальнейшем создает благоприятные условия для увеличения численности патогенных бактерий, вырабатывающих токсины, прежде всего *E. coli*.

Результаты наших исследований согласуются с данными других авторов.

Изменения кишечного микробиоценоза поросят-отъемышей при гастроэнтерите перед началом лечения характеризовались снижением числа энтерококков и лактобацилл при одновременном повышении количества кишечной палочки, что в целом свидетельствовало о состоянии дисбактериоза.

Анализ результатов ПЦР-РВ на седьмой день эксперимента показал в 100,00% проб фекалий от поросят с гастроэнтеритом (контроль 1) присутствие в кишечной микробиоте *Escherichia coli enteropatogenic*, в то время как у здоровых животных (контроль 0) и у поросят после применения *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2) наличие энтеропатогенной палочки отмечалось только в 10,00% исследованного материала. В группе поросят, которым применяли *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1), данные бактерии обнаружены не были. У животных, которым не применяли пробиотические энтерококки для лечения (контроль 1), в составе микробиоценоза кишечника наблюдалось также снижение количества *Faecalibacterium prausnitzii* по сравнению со здоровыми животными (контроль 0). Применение в течение семи дней *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) и *Enterococcus*

faecium 1-35 (опыт 2) для лечения гастроэнтерита у поросят имело схожий между группами эффект и способствовало повышению содержания бифидобактерий и *Faecalibacterium prausnitzii* по сравнению с животными из группы контроль 1 и снижению количества кишечной палочки.

При анализе результатов бактериологического исследования проб фекалий от поросят было отмечено, что на 14 день эксперимента у животных контрольной группы (контроль 1) было повышено количество кишечной палочки по сравнению с опытом 1 и опытом 2 и снижено количество лактобацилл в отличие от остальных групп, в то время как в опытных группах состояние микробиоценоза было близко к группе здоровых животных (контроль 0).

Таким образом, применение пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 в течение 14 дней для лечения гастроэнтерита у поросят способствовало в более короткие сроки нормализации кишечного микробиоценоза.

Результаты исследования активности мембранных пищеварительных ферментов показали, что активность мальтазы в слизистой оболочке кишечника, в конце экспериментов, в группе без применения пробиотических энтерококков (контроль 1) была выше в подвздошной кишке на 24,41% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой клинически здоровых поросят (контроль 0) и на 19,08% ($P \leq 0,05$) с группой (опыт 2). В опытных группах животных, которым для лечения гастроэнтерита применяли *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) и *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2) в течение 14 дней, активность щелочной фосфатазы была практически на одном уровне с группой здоровых животных (контроль 0). В то же время, в группе животных без применения пробиотических энтерококков (контроль 1), активность фермента была выше в тощей кишке на 20,53% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой клинически здоровых поросят (контроль 0), на 17,37% ($P \leq 0,05$) с опытом 1 и на 17,89% ($P \leq 0,05$) с опытом 2, а также в подвздошной на 21,23% ($P \leq 0,05$), 15,75% ($P \leq 0,05$) и 11,64% ($P \leq 0,05$) соответственно. Активность аминопептидазы-N в группе (контроль 1), в отличие от щелочной фосфатазы, была ниже в тощей кишке на 18,87% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой опыт 1 и на 21,41 ($P \leq 0,05$) с группой

опыт 2. Аналогичные результаты по активности щелочной фосфатазы и аминопептидазы-N у больных поросят были описаны в работах А. М. Яковскис (1987) и Л. В. Лазаренко (1999).

В химусной фракции кишечника, у животных группы контроль 1 изменения ферментативной активности свидетельствовали о не полном восстановлении пищеварения, в то время как у поросят, которым для лечения гастроэнтерита применяли *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) и *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2) в течение 14 дней активность ферментов была близка к группе здоровых животных (контроль 0).

Наиболее значимые отличия в активности пищеварительных ферментов в фекалиях наблюдались через семь дней лечения поросят. Так, в группе животных, которым не применяли пробиотические энтерококки (контроль 1) была снижена по сравнению с контрольной группой (контроль 0) активность мальтазы на 33,13% ($P \leq 0,05$) и аминопептидазы-N на 44,79% ($P \leq 0,05$). В то же время, применение пробиотических энтерококков для лечения гастроэнтерита у поросят (опыт 1 и опыт 2) способствовало повышению по сравнению с контролем 1 активности мальтазы на 32,70% ($P \leq 0,05$) и аминопептидазы-N на 53,61% ($P \leq 0,05$). Также в группе (контроль 1) наблюдалась тенденция к повышению щелочной фосфатазы.

В своей работе А. М. Уголев (1985) отметил, что щелочная фосфатаза участвует в гидролизе пищевых субстратов, находясь в составе клеток слизистой оболочки и после их слущивания и разрушения в полости желудочно-кишечного тракта. Следовательно, повышение активности щелочной фосфатазы в гомогенате фекалий у поросят, больных гастроэнтеритом, вероятно связано с усилением процессов синтеза ферментов в энтероцитах или является следствием воспаления, при котором увеличивается слущивание клеток кишечного эпителия. Активность мальтазы и аминопептидазы-N у больных гастроэнтеритом поросят значительно снижалась, на седьмой день от начала экспериментов, что вероятно свидетельствует о нарушении процессов синтеза данных ферментов в энтероцитах.

Анализируя полученные данные, можно сделать вывод, что применение пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 для

лечения гастроэнтерита у поросят в период отъема способствовало восстановлению ферментативной активности кишечника уже через семь дней, в то время как у поросят, которым не применяли для лечения пробиотики (контроль 1) ферментативная активность в пищеварительном тракте частично нормализовалась только на 14 день.

Выполняемые тонкой кишкой функции находят свое отражение в специфике ее гистологической организации (Зеленевский, Н. В., 2022; Шавров, С. С., 2023). В ранний неонатальный период структура тонкой кишки характеризуется незавершенной структурой, что может быть одной из вероятных причин возникновения желудочно-кишечных заболеваний, к которым высоко восприимчивы поросята (Прусаков, А. В., 2020; Яшин, А. В., 2021).

Проведенный нами анализ морфометрических параметров тонкого кишечника здоровых поросят показал, что его стенка сформирована за счет слизистой оболочки, подслизистой основы, а также мышечной и серозной оболочек. Эпителиальный слой слизистой оболочки тонкой кишки представлен однослойным призматическим эпителием, представляющим собой высоко динамичную структуру, быстро реагирующую на изменяющиеся нагрузки, за счет высокой скорости обновления клеток. Основная масса эпителиального пласта представлена каемчатыми энтероцитами (около 90,00% от всей клеточной популяции). Помимо них в формировании эпителиальной выстилки тонкой кишки принимают участие бокаловидные, эндокринные, панетовские, пролиферирующие и стволовые клетки.

При гастроэнтерите у поросят отъемышей наблюдалось сильное кровенаполнение сосудистого русла тонкой кишки, обуславливающее хорошую визуализацию его элементов в составе брыжейки, увеличение мезентеральных лимфатических узлов за счет их отека и воспаления, гиперемия и отек слизистой оболочки. На микроуровне у больных животных выявлялось значительное утолщение слизистой оболочки тонкой кишки, ее мышечной пластинки и подслизистой основы, обусловленное серозно-воспалительным отеком, гиперемией и клеточной инфильтрацией. Отмечались признаки дистрофии и

десквамации эпителия, а также гиперплазия бокаловидных эпителиоцитов на фоне снижения числа других типов клеток.

Применение пробиотических энтерококков для лечения гастроэнтерита у поросят (группа опыт 1 и опыт 2), способствовало восстановлению структуры слизистой оболочки, при этом выраженных межгрупповых отличий нами выявлено не было. Данные результаты могут говорить о схожей степени влияния используемых пробиотических препаратов на слизистую оболочку тонкой кишки животных.

Таким образом, использование пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 для лечения поросят, больных гастроэнтеритом после отъема, достоверно купирует такую патогенетическую составляющую, как дисбактериоз, нормализуя микробиоценоз кишечника поросят и восстанавливает активность мембранных пищеварительных ферментов способствуя тем самым скорейшему выздоровлению животных.

Анализ клинических данных, у поросят опытной группы, учет сроков выздоровления в сочетании с повышением массы тела и нормализации обменных процессов, функциональной активности пищеварительного тракта дают возможность судить о том, что назначение *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 в дозе $1 \cdot 10^9$ КОЕ на животное 1 раз в день в течение 14 дней эффективно в терапии гастроэнтерита поросят.

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные нами исследования на экспериментальной модели дисбиоза у лабораторных животных, а в дальнейшем на поросятах после отъема больных гастроэнтеритом, показали, что у них отмечаются выраженные изменения в гематологическом и биохимическом профиле, микробиоценозе кишечника, выраженные изменения активности мембранных пищеварительных ферментов, а также структурных изменений слизистой тонкой кишки. Изучение сравнительной терапевтической эффективности пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 свидетельствует о незначительных отличиях между лекарственными препаратами, но в то же время доказывает их высокую эффективность в восстановлении микробиоценоза кишечника и мембранного пищеварения на ранних сроках лечения.

Таким образом, на основании проведенных экспериментальных исследований, мы сделали следующие выводы:

1. Проведенные исследования на экспериментальной модели дисбиоза кишечника у крыс показали, что применение пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 в течение 14 дней имеет некоторые отличия между группами экспериментальных животных, но в целом оказывает схожий эффект, проявляющийся в восстановлении общего метаболизма организма и нормализации микробиоценоза кишечника. Так, под их влиянием достоверно повышалось содержание полезных бактерий (*Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.*), при снижении количества условно-патогенных (*Escherichia coli*).

2. Пробиотические энтерококки способствовали в короткие сроки восстановлению активности мембранных пищеварительных ферментов в гомогенате слизистой оболочке и химусе кишечника при коррекции экспериментального дисбиоза у крыс. Так, уже через три дня от начала применения *Enterococcus faecium* L-3 в гомогенате слизистой оболочки двенадцатиперстной

кишки активность мальтазы снизилась в среднем на 50,91% ($P \leq 0,05$), щелочной фосфатазы на 49,85% ($P \leq 0,05$), а аминопептидазы-N на 37,45% ($P \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой 1. Аналогичные изменения наблюдались и после применения *Enterococcus faecium* 1-35.

3. Данные биохимических и морфологических исследований крови у поросят с гастроэнтеритом свидетельствовали о существенных отклонениях в обмене веществ и характеризовались наличием гипопроteinемии, гипогликемии, нарушением фосфорно-кальциевого соотношения. У поросят после лечения с применением *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 в биохимических показателях крови отмечалось увеличение содержания общего белка в среднем на 5,31% ($P \geq 0,05$) и повышение уровня глюкозы на 17,97% ($P \leq 0,05$), при этом наблюдалось снижение щелочной фосфатазы на 19,08% ($P \leq 0,05$) и холестерина на 19,48% ($P \leq 0,05$) по сравнению с животными, для лечения которых не применяли пробиотики (контроль 1). При исследовании морфологических показателей крови отмечали тенденцию к повышению гемоглобина на 6,08% ($P \geq 0,05$), а также к снижению количества лейкоцитов на 15,20% ($P \geq 0,05$) и СОЭ на 31,38% ($P \geq 0,05$).

4. Включение пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35, в схему лечения гастроэнтерита у поросят, приводило к восстановлению в короткие сроки кишечного микробиоценоза, а именно стимулировало рост числа облигатных и факультативных форм микроорганизмов и снижало количество кишечной палочки и условно-патогенных представителей микрофлоры.

5. Применение пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 в течение 14 дней для лечения гастроэнтерита у поросят способствовало восстановлению активности мембранных пищеварительных ферментов в слизистой оболочке и химусе кишечника до уровня клинически здоровых животных. Так, в гомогенате слизистой оболочки подвздошной кишки активность мальтазы в опытных группах была ниже в среднем на 15,51% ($P \leq 0,05$), щелочной фосфатазы в тощей кишке на 17,89% ($P \leq 0,05$), а также в подвздошной на

13,70% ($P \leq 0,05$), в то же время активность аминопептидазы-N была напротив выше в тощей кишке в среднем на 20,16% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой животных, для лечения которых не применяли пробиотики (контроль 1).

6. Гистоморфологические исследования тонкой кишки, при гастроэнтерите у поросят характеризовались сильным кровенаполнением сосудистого русла тонкой кишки, отеком и воспалением мезентеральных лимфатических узлов, а также серозно-воспалительным отеком, гиперемией и клеточной инфильтрацией слизистой оболочки, ее мышечной пластинки и подслизистой основы. При этом также отмечались признаки дистрофии и десквамации эпителия, а также выраженная гиперплазия бокаловидных эпителиоцитов. Включение в схему лечения поросят больных гастроэнтеритом пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35, способствовало восстановлению гистоморфологических структур слизистой оболочки тонкого кишечника.

7. Учитывая полученные результаты, была разработана высокоэффективная схема лечения гастроэнтерита у поросят отъемышей, основанная на применении пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 в дозе 9 lgКОЕ/мл, позволяющая сократить сроки выздоровления животных, а также сохранить темпы прироста массы тела. Так, больные поросята, получавшие дополнительно к схеме лечения, указанные пробиотические энтерококки, имели более высокую массу тела, в среднем на 0,81 кг, по сравнению с больными животными. При этом, следует отметить, что у животных не получавших пробиотики, после выздоровления масса тела в среднем была ниже на 0,69 кг в сравнении со здоровыми животными из группы контроль 0.

5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Основываясь на полученных результатах проведенного исследования, доказывающих высокую терапевтическую эффективность пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35, с целью ускорения восстановительных процессов в организме и пищеварения в желудочно-кишечном тракте при неспецифическом гастроэнтерите, мы рекомендуем применять указанные препараты при возникновении первых клинических признаков, характерных для данной патологии в дозировке 9 IgКОЕ/мл на одну голову в сутки перорально с водой в течение четырнадцати дней.
2. Полученные данные могут быть рекомендованы к использованию в свиноводческих хозяйствах, при составлении схем диагностики, лечения и профилактики заболеваний, сопровождающихся расстройствами пищеварения, в частности неспецифического гастроэнтерита поросят.
3. Результаты проведенных научно-практических исследований рекомендуются к использованию при проведении лекционных и лабораторно-практических занятий, написании учебной и учебно-методической литературы по дисциплинам «Внутренние незаразные болезни» и «Патологическая физиология».

6. РЕКОМЕНДАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Полученные экспериментальные данные по использованию пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 при лечении неспецифического гастроэнтерита у поросят в период отъема дополняют и обогащают сведения о причинах возникновения, патогенезе, методах диагностики и лечения заболеваний животных, сопровождающихся расстройствами пищеварения. Дальнейшие исследования по разрабатываемой теме могут быть направлены на изучение действия данных препаратов в схемах профилактики и лечения патологий желудочно-кишечного тракта различного генеза у других видов сельскохозяйственных животных, разных возрастных и технологических групп.

7. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АСТ – аспаратаминотрансфераза

АЛТ – аланинаминотрансфераза

г – грамм

г/л – грамм на литр

кг - килограмм

КОЕ – колониеобразующие единицы

М – моляльный раствор

мг – миллиграмм

МЕ – международные единицы

мин – минута

мкмоль/мин/г – микромоль в минуту на грамм

мкл – микролитр

мл – миллилитр

мкм - микрометр

ммоль/л – миллимоль на литр

мм/час – миллиметр в час

нм – нанометр

НФ – номер фермента

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

Т – температура

ч – час

per os – перорально

N – нормальный раствор

n – количество

8. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алиев, А. А. Достижения физиологии пищеварения сельскохозяйственных животных в XX веке / А. А. Алиев // Сельскохозяйственная биология. – 2007. - № 2. – С. 12-22.
2. Алтухов, Н. М. Функциональная морфология органов пищеварения новорожденных поросят в норме и при желудочно-кишечных болезнях: Дис....д-ра вет. наук. – Воронеж, 1989. – 380 с.
3. Антонов, В. Я. Лабораторные исследования в ветеринарии / Под ред. В. Я. Антонова и П. Н. Блинова. М., «Колос». – 1974. – 320 с.
4. Афонюшкин, В. Н. Механизмы поддержания гомеостаза в тонком и толстом отделах кишечника при дисбактериозе у крыс линии «Вистар» / В. Н. Афонюшкин, В. Ю. Коптев, С. В. Леонов // Актуальные вопросы ветеринарии: Матер. научно-практ. конф. факультета ветеринарной медицины НГАУ. Новосибирск. – 2004. – 433 с.
5. Барышникова, Н. В. Место пробиотиков в комплексной терапии воспалительных заболеваний кишечника / Н. В. Барышникова, Н. А. Орлова, Л. Н. Белоусова // Гастроэнтерология. – 2014. - №1. – С. 33-34.
6. Бекасова, Т. П. Как сохранить поросят, если антибиотики запретят использовать? / Т. П. Бекасова // Свиноводство. - 2003. - № 6. - С. 28-29.
7. Бондаренко, В. М. Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром: современное состояние проблемы. / В. М. Бондаренко, Т. В. Мацулевич. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 304 с.
8. Бондаренко, В. М. Дисбиозы и препараты с пробиотической функцией / В. М. Бондаренко, А. А. Воробьев // Журн. микробиол. - 2004. - № 1. - С. 84-92.
9. Борщев, Ю. Ю. Влияние пробиотических бактерий на кишечные пищеварительные ферменты у крыс при экспериментальном дисбиозе: Дис....канд. биол. наук. – Санкт-Петербург, 2012. – 147 с.

10. Боряева, Ю. А. Морфология и гистохимия стенки толстого отдела кишечника у поросят от рождения до 45-суточного возраста: Дис....канд. вет. наук. – Саранск, 2009. – 147 с.
11. Бригадиров, Ю. Н. Комплексная система мероприятий по профилактике и борьбе с респираторными и желудочно-кишечными болезнями свиней в условиях производства / Ю. Н. Бригадиров, О. В. Казимиров [и др.] // Ветеринарная патология. – 2012. - №1. – С. 78-83.
12. Булатов, В. П. Современные методы диагностики дисбактериоза кишечника / В.П. Булатов, А. А. Камалова, Э. И. Удачина, О. Д. Зинкевич, Н. А. Сафина, А.Р. Шакирова // Практическая медицина. – 2010. - №6 (45). – С. 50-54.
13. Валенкевич, Л. Н. Кишечные энзимопатии как проявление дефектов мембранного пищеварения / Л. Н. Валенкевич // Проблемы клинической и экспериментальной энтерологии: сб. науч. тр. – М., 1981. – Т. 2. – С. 207-209.
14. Винникова, С. В. Мембранное пищеварение у кроликов при стрессовых состояниях и его коррекция: автореф. дисс. канд. вет. наук. – СПб, 2010. – 26 с.
15. Власова, Н. А. Лечение дисбиоза при длительной антибиотикотерапии при обострении хронического бронхита (клинический пример) / Н. А. Власова, Н. Ш. Загидуллин, Ш. З. Загидуллин, Л. П. Фаизова // Гастроэнтерология. – 2013. - №1. – С. 77-78.
16. Гаврилов, В. А. Технология изготовления и применения жидкой формы симбиотического препарата / В. А. Гаврилов // Ветеринария и кормление. – 2016. - №3. – 29 с.
17. Гальперин, Ю. М. Пищеварение и гомеостаз / Ю. М. Гальперин, Л. И. Лазарев. – М.: Наука, 1986. – 304 с.
18. Гамко, Л. Н. Влияние пробиотиков ситексфлор №1 и №5 на сохранность и интенсивность роста поросят-сосунов / Л. Н. Гамко, Т. Л. Талызина, В. В. Черненко, Ю. Н. Черненко, И. И. Сидоров // Ветеринария. – 2010. – №10. – С. 48-50.
19. Гапон, М. Н. Влияние кисломолочного продукта «Наринэ» на состав микрофлоры кишечника в динамике экспериментального лекарственного

дисбактериоза / М. Н. Гапон, Л. Н. Терновская, А. В. Алекушина // Матер. междунар. конф. «Пробиотики, пребиотики, синбиотики и функциональные продукты питания: Современное состояние и перспективы». Москва. - 2004. – 45 с.

20. Георгиевский, В. И. Роль эндогенных структур химуса в поддержании кишечного гомеостаза / В. И. Георгиевский, Н. С. Шевелёв, Е. П. Полякова // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии (Мат-лы Четвертой Российской гастроэнтерологической недели). – М., 1998. – Т. 8. - № 5. – С. 267-268.

21. Гертман, А. М. Оценка эффективности лечения поросят при гастроэнтерите в условиях фермерского хозяйства / А. М. Гертман, Т. С. Самсонова, Н. А. Юдина // АПК России. – 2021. – Т. 28. – № 3. – С. 390-394.

22. Глушанова, Н. А. Взаимоотношения пробиотических и индигенных лактобацилл хозяина в условиях совместного культивирования *in vitro* / Н. А. Глушанова, Б. А. Шендеров // Журн. микробиол. – 2003. – № 2. – С. 56-61.

23. Громова, Л. В. Влияние пробиотических штаммов эшерихий и энтерококков на активность кишечных пищеварительных ферментов при коррекции экспериментального дисбиоза у крыс / Л. В. Громова, Е. И. Ермоленко, Ю. В. Дмитриева, А. С. Алексеева, А. Л. Сепп, М. П. Котылева, А. Н. Суворов // Медицинский алфавит. — Т. 2 (Практическая гастроэнтерология), № 20 (357). — 2018. — С. 29-32.

24. Громова, Л. В. Всасывание продуктов гидролиза белков и углеводов: механизмы и регуляция: автореф. дисс. докт. биолог. наук. – СПб., 2008. – 36 с.

25. Груздков, А.А. Биофизические аспекты транспорта пищевых веществ в автономном премембранном слое // Мембранный гидролиз и транспорт. Новые данные и гипотезы. – Л.: Наука., 1986. – С. 167-183.

26. Данилевская, Н. В. Ферментативная активность и натрий-зависимый транспорт веществ в тонком отделе кишечника поросят в норме и при вирусном трансмиссивном гастроэнтерите: автореф. дисс. канд. биолог. наук - М., 1987. – 19 с.

27. Дармов, И.В. Выживаемость микроорганизмов пробиотиков в желудочно-кишечном тракте экспериментальных животных / И.В. Дармов [и др.] // Журн. инфектол. – 2012. – Т. 4, № 1. – С. 68-74.
28. Дмитриенко, В. Г. Иммунопробиотик Ветом-1.1 при диспепсии поросят: Дис....канд. вет. наук. – Санкт-Петербург, 2004. – 228 с.
29. Дроздова, Л. И. Оценка влияния антибактериальных и пробиотических препаратов на морфологические изменения в организме цыплят-бройлеров / Л. И. Дроздова, М. В. Новикова, И. А. Лебедева, У. И. Кундюкова // Известия международной академии аграрного образования. – 2022. – № 60. – С. 68-74.
30. Егорова, Г. Г. Мембранное пищеварение при гипотрофии у поросят: Дис....докт. вет. наук. – Санкт-Петербург, 2001. – 298 с.
31. Елизаров, И. В. Спорообразующий пробиотик Проваген в свиноводстве / И. В. Елизаров // Ветеринария. – 2009. – №9. – С. 17-18.
32. Ермоленко, Е. И. Влияние индигенных энтерококков на микробиоценоз кишечника и поведение крыс при коррекции экспериментального дисбиоза / Е. И. Ермоленко, И. Н. Абдурасулова, М. П. Котылева, Д. А. Свиридо, А. В. Мацулевич, А. Б. Карасева, Е. А. Тарасова, В. В. Сизов, А. Н. Суворов // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2017. – №1. – С. 22-37.
33. Ермоленко, Е. И. Влияние пробиотических энтерококков на функциональные характеристики кишечника крыс при дисбиозе, индуцированном антибиотиками / Е. И. Ермоленко, В. Н. Донец, Ю. В. Дмитриева, Ю. Ю. Ильясов, М. А. Суворова, Л. В. Громова // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 11. Медицина. — 2009. – Вып. № 1. — С. 157-167.
34. Ермоленко, Е. И. Иммуномодулирующее действие пробиотических бактерий при заболеваниях желудочно-кишечного тракта / Е. И. Ермоленко // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2014. – Вып. 4. – Сер. 11. – С. 5-18.
35. Зеленевский, Н. В. Анатомия и физиология сельскохозяйственных животных: Учебник для СПО / Н. В. Зеленевский, М. В. Щипакин, К. Н. Зеленевский. – Санкт-Петербург: Издательство "Лань", 2022. – 448 с.

36. Зеленовский, Н. В. Анатомия животных. Спланхнология и ангиология. Практикум: Учебное пособие для вузов / Н. В. Зеленовский, М. В. Щипакин, К. Н. Зеленовский. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2022. – 296 с.
37. Зинченко, Е. В. Практические аспекты применения пробиотиков / Е. В. Зинченко, А. Н. Панин, В. А. Панин // Ветеринарный консультант. – 2003. – №3. – 41 с.
38. Зубарев, А. Е. Показатели крови поросят при даче пробиотического препарата на основе штамма *Lactobacillus paracasei* / А. Е. Зубарев, Д. В. Анфилатова // Иппология и ветеринария. – 2017. – №1 (23). – 49 с.
39. Иванов, А. А. Общебиологический феномен депонирования катионов структурами химуса и его значение для создания смесей энтерального питания / А. А. Иванов, Е. П. Полякова, Д. А. Ксенофонтов // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2012. – № 2. – С. 71-75.
40. Ивановский, А. А. Влияние пробиотиков, биоинфузина и фитокомплекса ФАНТ на состояние крови супоросных свиноматок / А. А. Ивановский, Е. Ю. Тимкина, И. С. Маркова // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2013. – №3 (34). – С.52-56.
41. Ивашкин, В. Т. Кишечный микробиом как фактор регуляции деятельности энтеральной и центральной нервной системы / В. Т. Ивашкин, К. В. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2017. – №27(5). – 13 с.
42. Ильин, В. К. Аутопробиотики как средство профилактики инфекционно-воспалительных заболеваний у человека в искусственной среде обитания / В. К. Ильин [и др.] // Вестник РАМН. – 2013. – № 2. – С. 56-62.
43. Ёылдырым, Е. А. Таксономическая и функциональная характеристика микробиоценоза рубца лактирующих коров под влиянием пробиотика Целлобактерина+ / Е. А. Ёылдырым, Г. Ю. Лаптев, Л. А. Ильина, Т. П. Дуняшев, Д. Г. Тюрина, В. А. Филиппова, Е. А. Бражник, Н. В. Тарлавин, А. В. Дубровин, Н.

И. Новикова, В. В. Солдатова, С. Ю. Зайцев // Сельскохозяйственная биология. – 2020. - Том 55 (60). - С. 1204-1219.

44. Калюжный, И. И. Клинико-лабораторные аспекты терапевтического применения декстрановых препаратов для лечения и профилактики анемии у поросят / И. И. Калюжный, И. А. Никулин, И. С. Степанов, Е. А. Полянская // Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии. – 2019. – № 3(13). – С. 12-17.

45. Карпунина, Т. И. Повышение эффективности терапевтического действия пробиотиков / Т. И. Карпунина, Э. С. Горовиц, А. Н. Чиненкова, А. Я. Перевалов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1998. – март-апрель. – С. 104-106.

46. Кайбышева, В. О. Непереносимость углеводов / В. О. Кайбышева, Е. К. Баранская // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2017. - № 27 (5). – С. 94-104.

47. Кислинская, Л. Г. Биохимические показатели сыворотки крови помесных свиней в возрасте 2-6 мес. / Л. Г. Кислинская, В. М. Мешков, А. П. Жуков // Ветеринария. – 2014. – С. 92-94.

48. Клименко, В. В. Применение пробиотиков в ветеринарии / В. В. Клименко // Мат. III-IV Междунар. научных семинаров. М.: ЭКСПРЕСС, 2002. – С. 32-34.

49. Ковалев, С. П. Клиническая диагностика внутренних болезней животных: учебник для во / С. П. Ковалев, А. П. Курдеко, Е. Л. Братушкина [и др.]; под ред. С. П. Ковалева, А. П. Курдеко и К. Х. Мурзагулова. – 4-е издание, стереотипное. – Санкт-Петербург: Издательство "Лань", 2020. – 540 с.

50. Коротько, Г. Ф. Пищеварение — естественная технология // Краснодар: Эдви. – 2010. – 304 с.

51. Коротько, Г. Ф. Рециркуляция и адаптация ферментов секреции пищеварительных желез / Г. Ф. Коротько // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2022. – № 4. – С. 138-152.

52. Коротько, Г.Ф. Секрция поджелудочной железы. Москва: «Триада-Х». - 2002. – 224 с.
53. Котарев, В. И. Влияние пробиотиков «Профорт» и «Заслон 2+» на структурную организацию тонкого отдела кишечника бройлеров кросса РОС 308 и неушек породы чешский доминант / В. И. Котарев, П. А. Паршин, К. Рыпула**, Е. В. Михайлов, Ю. А. Чаплыгина, Б. В. Шабунин, Е. Е. Курчаева // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2020. – № 3 (12). – С. 46-59.
54. Коцюмбас, Г. И., Лемишевский В. М. Влияние кормовой добавки Probion-forte на морфофункциональное состояние двенадцатиперстной кишки свиней / Г. И. Коцюмбас, В. М. Лемишевский // Ветеринария. – 2014. – №5. – С. 56-60.
55. Крашенинникова, В. М. Комплексная схема терапии поросят отъемышей при гастроэнтерите / В. М. Крашенинникова, Б. М. Анохин // Тез. докл. конф. «Ветеринарные проблемы промышленного свиноводства». — Киев, 1983. – С. 75-77.
56. Кудинов, Р. И. Этиология, диагностика, лечение и профилактика гастроэнтеритов поросят: Дис....канд. вет. наук. – Саратов, 2003. – 112 с.
57. Кудрявцев, А. А. Клиническая гематология животных / А. А. Кудрявцев, Л. А. Кудрявцева // М., «Колос». – 1974. – 399 с.
58. Кудрявцева, А. В. Применение пробиотиков различного состава в ветеринарной практике / А. В. Кудрявцева, В. А. Кузьмин // Сборник научных трудов «Актуальные проблемы ветеринарной медицины». – 2007. – №139. – 55 с.
59. Курятова, Е. В. Гистоморфология двенадцатиперстной кишки поросят при неспецифическом гастроэнтерите / Е. В. Курятова // Вестник КрасГАУ. – 2015. - №12. – С. 236-241.
60. Лазаренко, Л. В. Пептидогидролазы у поросят при патологических состояниях органов пищеварения: Дис....канд. вет. наук. – Санкт-Петербург, 1999. – 184 с.

61. Лаптев, Г. Ю. Микробиом сельскохозяйственных животных: связь со здоровьем и продуктивностью / Г. Ю. Лаптев, Н. И. Новикова, Е. А. Ыылдырым и др. – СПб.: Проспект Науки, 2020. – 336 с.
62. Лаптев, Г. Ю. Профорт в кормлении свиней / Г. Ю. Лаптев, Н. И. Новикова, В. В. Солдатова, В. Н. Большаков, Д. Г. Селиванов // Сельскохозяйственные вести. – 2019. – №4. – С. 48-49.
63. Лебедев, М. Н. Результаты применения пробиотика на основе *Enterococcus faecium* L-3 / М. Н. Лебедев, С. П. Ковалев // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2019. – № 3. – С. 61-64.
64. Лебедев, М. Н. Показатели микрофлоры кишечника телят при использовании пробиотика на основе штамма *Enterococcus faecium* L-3 / М. Н. Лебедев, С. П. Ковалев // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 3. – С. 174-176.
65. Лизван, М. А. Содержание фекального зонулина — биомаркер синдрома кишечной проницаемости у больных синдромом раздраженного кишечника (обзор и результаты пилотного исследования) / М. А. Лизван, О. В. Гаус // Доказательная гастроэнтерология. – 2021. – Т. 10. – №3. – С. 47-55.
66. Маевская, М. В. Возможности применения пробиотиков в гастроэнтерологии / М. В. Маевская // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2009. – Т.19. – №6. – С.65-72.
67. Малашко, В. В. Структурно-метаболические процессы при патологии органов пищеварения у молодняка сельскохозяйственных животных / В. В. Малашко, А. Н. Казыро, Н. К. Гойлик // Животноводство и ветеринарная медицина. – 2013. – № 3 (10). – С. 42-47.
68. Меликиди, В. Х. Выживаемость пробиотических бактерий *Bacillus spp.* и *Enterococcus faecium* в условиях *in vitro*, имитирующих желудочно-кишечный тракт животных / В.Х. Меликиди, Н.И. Новикова, Т.Н. Грудина, Е.П. Горфункель, Д.Г. Тюрина // Ветеринария. – №10. – 2020. – С. 55-57.
69. Метельский, С. Т. Два механизма мембранного пищеварения: ферментативно-транспортный ансамбль существует / С. Т. Метельский, В. Т.

Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2010. – Т.20. – №5. – С. 4-9.

70. Метельский, С. Т. Физиологические механизмы всасывания в кишечнике. Основные группы веществ / С. Т. Метельский // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2009. – № 4. – С. 55-61.

71. Минушкин, О.Н. Дисбактериоз кишечника / О. Н. Минушкин, М. Д. Ардатская, В. Н. Бабин, И. В. Домарадский, А. В. Дубинин // Российский медицинский журнал. – 1999. – № 3. – С. 40-44.

72. Мисаутова, А. А. Клинико-функциональные особенности нарушения пищеварения при хронических заболеваниях кишечника (энтерите, колите, язвенном колите) и их коррекция: Дис...д-ра мед. наук. – Москва, 1986. – 344 с.

73. Морозов, И. А. Всасывание и секреция в тонкой кишке: субмикроскопические аспекты / И. А. Морозов, Ю. А. Лысиков, Б. В. Питран, С. И. Хвыля // АМН СССР. – М.: Медицина, 1988. – 224 с.

74. Морозов, И. А. О пищеварительной функции надэпителиального слизистого слоя тонкой кишки / И. А. Морозов, В. Ю. Ишакова, Ю. А. Лысиков // Физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 1990. – Т. 76. – № 4. – С. 515-522.

75. Морозов, И. А. Структура и функции слизистого слоя тонкой кишки / И. А. Морозов // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2002. – № 6. – С. 88-92.

76. Муратова, Е. Т. Иммунный статус, естественный микробиоценоз кишечника поросят при отъемном стрессе и их коррекция: Дис...канд. биол. наук. – Уфа, 2010. – 155 с.

77. Намазова-Баранова, Л.С. Антибиотикорезистентность в современном мире / Л.С Намазова-Баранова, А.А. Баранов // Педиатрическая фармакология. – 2017. – Том 14. – № 5. – С. 341-354.

78. Неминущая, Л. А. Пробиотики и синбиотики на их основе – альтернатива кормовым антибиотикам / Л. А. Неминущая, Г. И. Воробьева, Б. В. Кравчик, Т. А. Скотникова, В. И. Еремец, Н. К. Еремец, С. А. Гринь, А. Я. Самуйленко // Ветеринария и кормление. – 2014. – №6. – С. 20-21.

79. Нетребенко, О. К. Кишечная микробиоценоз: еще один краеугольный камень в программировании питанием / О. К. Нетребенко, С. Г. Грибакин, Л. А. Щеплягина // Лечение и профилактика. – 2021. – Том 11. – №1. – С. 39-45.
80. Никитенко, В. И. Транслокация бактерий из желудочно-кишечного тракта – естественный защитный механизм / В. И. Никитенко, В. А. Копылов, М. В. Никитенко // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2004. – №2-3. – 16 с.
81. Николаева, Т. Н. Иммуностимулирующая и антиканцерогенная активность нормальной лактофлоры кишечника / Т. Н. Николаева, В. В. Зорина, В. М. Бондаренко // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2004. – №4. – 40 с.
82. Новикова, С. В., Драгункина О. С., Сазонов А. А. Влияние препарата Бутофан на биохимические показатели крови поросят при остром гастроэнтерите / С. В. Новикова, О. С. Драгункина, А. А. Сазонов // Ветеринария. – 2014. – №7. – С. 44-47.
83. Ноздрин, Г. А. Закономерности и особенности действия пробиотиков класса Ветом на морфологические показатели крови у разных животных / Г. А. Ноздрин // Международный вестник ветеринарии. – 2009. – №2. – 20 с.
84. Панин, А. Н. Повышение эффективности пробиотикотерапии у поросят / А. Н. Панин, Н. И. Серых, Е. В. Малик, И. М. Гараев, Н. В. Боровиков, А. А. Денисов // Ветеринария. – 1996. – №3. – 18 с.
85. Панин, А. Н. Влияние пробиотика Стрептобифида-форте на клеточный иммунитет / А. Н. Панин, Н. И. Малик, И. П. Степаненко // Аграрная наука. – 2000. – №5. – 20 с.
86. Панова, Н. А. Влияние пробиотиков и белкового гидролизата на повышение резистентности у поросят-сосунов / Н. А. Панова, В. Г. Скопичев // Сборник научных трудов «Актуальные проблемы ветеринарной медицины». – 2007. – №139. – С. 69-70.
87. Паршин, П. А. Клинико-морфологические изменения при гастроэнтеритах у молодняка / П. А. Паршин, С. М. Сулейманов // Ветеринария. – 2004. – № 2. – С. 45-47.

88. Паршин, П. А. Клинико-морфологическая характеристика, терапия и профилактика гастроэнтеритов молодняка животных: Дис....д-ра. вет. наук. – Воронеж, 1999. – 289 с.
89. Пашкин, В. А. Мембранное пищеварение белков у свиней при нитратно-нитритной интоксикации: автореф. дисс. канд. вет. наук. – СПб., 1993. – 19 с.
90. Петровский, С. В. Методические указания по отбору биологического материала для лабораторных исследований / С. В. Петровский [и др.]. – Витебск: УО ВГАВМ, 2017. – 48 с.
91. Пирс, Э. Гистохимия теоретическая и прикладная / Э. Пирс. – М.: Иностран. лит., 1962. – 962 с.
92. Полозюк, О. Н. Гематология: учебное пособие / О. Н. Полозюк, Т. М. Ушакова; Донской ГАУ. – Персиановский: Донской ГАУ, 2019. – 159 с.
93. Полуэктова, Е. А. Обоснование применения и оценка эффективности пробиотиков у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника / Е. А. Полуэктова, Ю. О. Сидорина, С. Ю. Кучумова, А. В. Королев, О. С. Шифрин, В. Т. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2016. – № 25(2). – С. 58-68.
94. Полякова, Е. П. Активность щелочной фосфатазы в пристеночной и полостной слизи разных отделов кишечника у мини-свиней светлогорской популяции / Е. П. Полякова, Т. А. Макашова, Т. В. Метревели, А. О. Ревякин // Биомедицина. – 2014. – № 4. – С. 80-84.
95. Пономарев, И. Н. Морфология лимфоидной ткани свиней при болезнях пищеварительной системы: Дис....канд. вет. наук. – Киров, 2010. – 184 с.
96. Попова, Т. С. Нутрицевтики и пробиотики в лечении синдрома кишечной недостаточности и нормализации микробиоценоза кишечника / Т. С. Попова, Л. У. Шрамко // Научно-практический журнал клинической медицины. – 2001. – №4. – С. 6-8.
97. Прусаков, А. В. Методические указания по внутренним незаразным болезням животных "Диспансеризация животных на объектах

сельскохозяйственного назначения": для студентов очной, очно-заочной (вечерней) и заочной форм обучения факультета ветеринарной медицины / А. В. Прусаков, Г. В. Куляков. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2020. – 20 с.

98. Реутова, Е. А. Морфологическое состояние тонкого кишечника поросят при введении иммунокорректора «Вестин» в системе «мать-плод» / Е. А. Реутова, Л. И. Дроздова // Вестник КрасГАУ. – 2018. - №1. – С. 50-55.

99. Романов, В. Н. Исследование физиологического действия биологически активной добавки на основе пробиотика и шунгита у овец и растущих бычков / В.Н. Романов, Н.В. Боголюбова, А.В. Мищуров, Р.А. Рыков // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2019. – № 2. – С. 54-63.

100. Ручкина, И. Н. Иммунологические аспекты применения пробиотиков / И. Н. Ручкина, А. И. Парфенов, Т. М. Царегородцева // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2007. - №1-2. – 11 с.

101. Рыбальченко, О. В. Атлас ультраструктуры микробиоценоза кишечника человека / О. В. Рыбальченко, В. М. Бондаренко, В. П. Добрица. – Спб. ИИЦ ВМА, 2008 – 112 с.

102. Самсонович, В. А. Активность щелочной фосфатазы содержимого и слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта у свиней / В. А. Самсонович // Вести национальной академии наук Беларуси. – 2013. – № 1. – С. 84-87.

103. Селиванова, И. Р. «Бифилак» - новый поликомпонентный пробиотический препарат для лечения и профилактики расстройств пищеварения у поросят / И. Р. Селиванова // Ветеринарная практика. – 2007. – №3 (34). – С. 10-13.

104. Селиверстов, И. В. Взаимоотношения печени и кишечника на фоне дисбаланса микрофлоры толстой кишки / И. В. Селиверстов, В. Г. Радченко, И. Г. Сафроненкова, С. И. Ситкин // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2010. – №2-3. – 15 с.

105. Симаненков, В. И. Применение антисекреторных препаратов при кислотозависимых заболеваниях / В. И. Симаненков, Н. В. Захарова // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2002. – №4. – С. 30-32.
106. Смирнова, Е. М. Методика статистического анализа в исследованиях по ветеринарной морфологии / Е. М. Смирнова, Н. В. Зеленевский, А. В. Прусаков // Иппология и ветеринария. – 2021. – № 1(39). – С. 172-177.
107. Спиридонов, А. Г. Этиология инфекционных диарей новорожденных поросят и телят / А. Г. Спиридонов, А. Ф. Махмутов // Ветеринарная медицина – 2011. – В.95. – С. 264-265.
108. Старченков, С. В. Мембранное пищеварение у свиней при нитратном токсикозе: автореф. дисс. докт. вет. наук – СПб, 2010. – 32 с.
109. Стекольников, А. А. Применение пробиотической добавки у супоросных свиней в условиях промышленного свиноводства / А. А. Стекольников, Л. Ю. Карпенко, Н. А. Шинкаревич, А. А. Бахта, А. И. Козицына // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 4. – С. 160-165.
110. Терехов, В. И. Эффективность использования пробиотического средства в профилактике острых кишечных заболеваний у телят и поросят / В. И. Терехов, А. В. Скориков, В. Н. Псиола // Ветеринария кубани. – 2015. – №2. – 8 с.
111. Тимофеева, Н. М. Современные представления о всасывании моносахаридов, аминокислот и пептидов в тонкой кишке млекопитающих / Н. М. Тимофеева, Н. Н. Иезуитова, Л. В. Громова // Усп. физиол. наук. – 2000. – Т. 31. – N 4. – С. 24-37.
112. Точилина, О. А. Особенности взаимосвязи активности пищеварительных ферментов и представителей микробиоценоза толстой кишки у детей раннего возраста при изменении биоценоза кишечника / О. А. Точилина, И. А. Частоедова // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 2 (21) – С. 4676-4680.
113. Уголев, А. М. Пристеночное (контактное) пищеварение. – Л.: Наука, 1963. – 170 с.

114. Уголев, А. М., Иезуитова Н. Н., Цветкова В. А. Структурная и функциональная организация мембранного пищеварения // Мембранный гидролиз и транспорт: Новые данные и гипотезы. – Л.: Наука, 1986. – 240 с.
115. Уголев, А. М. Теория адекватного питания и трофология. – Л.: Наука, 1991. – 272 с.
116. Уголев, А. М. Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций. Элементы современного функционализма. – Л.: Наука, 1985. – 544 с.
117. Урбан, В.П. Болезни молодняка в промышленном животноводстве / В. П. Урбан, И. Л. Найманов. – М.: Колос, 1984. – 207 с.
118. Урбан, В.П. Лигнин для профилактики желудочно-кишечных болезней и лечения молодняка / В. П. Урбан, В. П. Леванова, М. И. Кузнецов // Ветеринария. – 1987. – № 1. – С. 57-60.
119. Филатов, А. В. Пробиотик Профорт и рентабельность молока / А. В. Филатов, Н. А. Шемуранова, А. Ф. Сапожников, С. В. Аникин // Сельскохозяйственные вести. – 2020. – № 2. – С. 26-27.
120. Храпова, Н. Н. Нормализация морфофункциональных изменений в тонком отделе кишечника поросят при гастроэнтерите: Дис....канд. вет. наук. – Благовещенск, 2000. – 118 с.
121. Чичерин И. Ю. Аутопробиотикотерапия / И. Ю. Чичерин, И. П. Погорельский, И. А. Лундовских, К. Е. Гаврилов, М. Р. Шабалина, И. В. Дармов // Журнал инфектологии. – 2013. – Том 5. – №4. – С. 43-54.
122. Шавров, С. С. Морфологические изменения структур тонкой кишки при неспецифической диспепсии / С. С. Шавров, А. В. Прусаков, А. В. Яшин, М. С. Голодяева // Материалы национальной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГУВМ, Санкт-Петербург, 30 января 2023 года / Племяшов К. В. (отв. редактор), А. А. Сухинин (редактор), Г. С. Никитин (редактор). – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2023. – С. 93-95.

123. Шахов, А. Г. Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях / А.Г. Шахов // Ветеринарная Патология. – 2003. – л №2. – С. 6-7.

124. Шептулин, А. А. Синдром избыточного роста бактерий и «дисбактериоз кишечника»: их место в современной гастроэнтерологии / А. А. Шептулин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 1999. – №3. – С. 52-53.

125. Шинкаревич, Н.А. Влияние применения кормовой биологически активной добавки «Ветлактофлор» супоросным свиньям на показатели опоросов и качество получаемого молодняка / Н. А. Шинкаревич, Л. Ю. Карпенко, А. А. Бахта // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2022. – № 4. – С. 140-142.

126. Шульпекова, Ю. О. Кисломолочные бактерии: роль в регуляции кишечной перистальтики / Ю. О. Шульпекова // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2010. – Том 20. – № 3. – С. 68-73.

127. Щербаков, Г. Г. Сравнительно-физиологические исследования пристеночного (мембранного) пищеварения у кур, рыб и млекопитающих: автореф. дисс. канд. вет. наук – Ленинград, 1969. – 21 с.

128. Щербаков, Г. Г. Внутренние болезни животных. Для ссузов: учебник / Г. Г. Щербаков, А. В. Яшин, С. П. Ковалев, С. В. Винникова. – 3-е издание, стереотипное. – Санкт-Петербург: Издательство "Лань", 2018. – 496 с.

129. Яковскис, А. М. Мембранное пищеварение у поросят при гастроэнтерите и применении лечебных препаратов: Дис....канд. вет. наук. – Ленинград, 1987. – 180 с.

130. Яшин, А. В. Исследование иммунокорректирующего влияния пробиотика Ветом-1.1 на организм поросят-отъемышей / А. В. Яшин, В. Г. Дмитриенко // Ветеринарная практика. – СПб., 2004. - №26 (3). – С. 16-21.

131. Яшин, А. В. Мембранное пищеварение у телят при нарушении кровоснабжения: Дисс. д-ра вет. наук – СПб, 1997. – 502 с.

132. Яшин, А. В. Особенности состояния микроциркуляторного русла и мембранного пищеварения у новорожденных телят при диспепсии / А. В. Яшин, А. В. Прусаков // *Международный вестник ветеринарии*. – 2021. – № 2. – С. 155-160.
133. Abdelhamid, A. G. Probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains possess safety characteristics, antiviral activities and host adherence factors revealed by genome mining / A. G. Abdelhamid, S. S. El-Masry, N. K. El-DougDoug // *EPMA J.* – 2019. Vol. 10(4). – P. 337-350.
134. Akiba, Y. Duodenal brush border intestinal alkaline phosphatase activity affects bicarbonate secretion in rats/ Y. Akiba, M. Mizumori, P. H. Guth, J. D. Kaunitz // *Am J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2007. – 293: G1223-1233.
135. Alain, B. P. E. Assessment of fecal bacterial diversity among healthy piglets during the weaning transition / B. P. E. Alain, J. P. Chae, M. P. Balolong, K. H. Bum, D. K. Kang // *J. Gen. Appl. – 2014. – Microbiol.* 60. – P. 140-146.
136. Alam, S. N. Intestinal alkaline phosphatase prevents antibiotic-induced susceptibility to enteric pathogens / S. N. Alam, H. Yammin, O. Moaven // *NIH Public Acc. Auth. Man.* – 2014, Apr. – Vol. 259 (4). – P. 715-722.
137. Alvarenga, L. Intestinal alkaline phosphatase modulation by food components: predictive, preventive, and personalized strategies for novel treatment options in chronic kidney disease / L. Alvarenga, L. F. M. F. Cardozo, B. Lindolm, P. Stenvinkel, D. Matra // *EPMA J.* – 2020. – Vol. 11 (4). – P. 565-579.
138. Atarashi, K. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species / K. Atarashi, T. Tanoue, T. Shima, A. Imaoka, T. Kuwahara, Y. Momose et al. // *Science.* – 2011. – P. 331-341.
139. Bahmani, S. Anti-colon cancer activity of *Bifidobacterium* metabolites on colon cancer cell line SW742 / S. Bahmani, N. Azarpira, E. Moazamian, // *Turk. J. Gastroenterol.* – 2019 – Vol. 30. – P. 835-842.
140. Bailey, M. The development of the mucosal immune system pre- and post-weaning: balancing regulatory and effector function / M. Bailey, K. Haverson, C. Inman, C. Harris, P. Jones, G. Corfield, B. Miller, C. Stokes // *Proceedings of the Nutrition Society.* – 2005. – Vol. 64. – P. 451-457.

141. Bailey, M. Regulation of mucosal immune responses in effector sites / M. Bailey, F. J. Plunkett, H.-J. Rothkotter, M. A. Vega-Lopez, K. Haverson, C. R. Stokes // *Proceedings of the Nutrition Society*. – 2001. – Vol. 60. P. 427-435.
142. Bank, U. Inhibition of alanyl-aminopeptidase on CD 4+CD 25+ regulatory T-cells enhances expression of FoxP3 and TGF-beta1 and ameliorates acute colitis in mice / U. Bank, M. Tadge, C. Wolke, A. Bukowska, A. Ittenson, et al. // *Int. Mol. Med.* – 2007, Oct. – Vol. 20, № 4. – P. 483-492.
143. Bentala, H. Removal of phosphate from lipid A as a strategy to detoxify lipopolysaccharide / H. Bentala, W. R. Verweij, A. Vlag, A. M. Loenen Weemaes, D. K. Meijer, K. Poelstra // *Shock*. – 2002. – Vol. 18(6). – P. 561-566.
144. Bilski, J. The role of intestinal alkaline phosphatase in inflammatory disorders of gastrointestinal tract / J. Bilski, A. Mazur-Bialy, D. Wojcik, J. Zahradnik-Bilska, B. Brzozowski, M. Magierowski, et al. // *Mediat. Inflamm.* – 2017. – P. 592-601.
145. Boirivant, M. The mechanism of action of probiotics / M. Boirivant, W. Strober // *Curr. Opin. Gastroenterol.* – 2007. – Vol. 23. – P. 679-692.
146. Borchers, A. T. Probiotics and immunity / A. T. Borchers, C. Selmi, F. J. Meyers, et al. // *J. Gastroenterol.* – 2009. – Vol. 44. – P. 26-46.
147. Boudry, G. Weaning induces both transient and long-lasting modifications of absorptive, secretory, and barrier properties of piglet intestine / G. Boudry, V. Pe´ron, I. Le Hue´rou-Luron, J. P. Lalle`s, B. Se`ve // *Journal of Nutrition*. – 2004. – Vol. 134. – P. 2256-2262.
148. Bruininx, E. M. Effect of creep feed consumption on individual feed intake characteristics and performance of group-housed weanling pigs / E. M. Bruininx, G. P. Binnendijk, C. M. van der Peet-Schwering, J. W. Schrama, L. A. den Hartog, H. Everts, A. C. Beynen // *Journal of Animal Science*. – 2002. – Vol. 80. – P. 1413-1418.
149. Bubnov, R. V. Specific properties of probiotic strains: relevance and benefits for the host / R. V. Bubnov, L. P. Babenko, L. M. Lazarenko, V. V. Mokrozub, M. Y. Spivak // *EPMA J.* – 2018. – Vol. 9(2). – P. 205-223.
150. Buchet, R. Multisystemic functions of alkaline phosphatases / R. Buchet, J. L. Millán, D. Magne // *Methods Mol. Biol.* – 2013. – 1053:27-51.

151. Caesar, R. Effect of gut microbiota on obesity and atherosclerosis via modulation of inflammation and lipid metabolism / R. Caesar, F. Backhed // *J. Intern. Med.* – 2010. – 268:320-328.
152. Cani, P. D. Involvement of gut microbiota in the development of low-grade inflammation and type 2 diabetes associated with obesity / P. D. Cani, M. Osto, L. Geurts, A. Everard // *Gut Microbes.* – 2012. – Vol. 3(4). – P. 279-288.
153. Carstensen, L. Escherichia coli post-weaning diarrhea occurrence in piglets with monitored exposure to creep feed / L. Carstensen, A. K. Ersboll, K. H. Jensen, J. P. Nielsen // *Veterinary Microbiology.* – 2005. – Vol. 110. – P. 113-123.
154. Chen, K. T. A role for intestinal alkaline phosphatase in the maintenance of local gut immunity / K. T. Chen, M. S. Malo, L. K. Beasley-Topliffe, K. Poelstra, J. L. Millan, G. Mostafa, S. N. Alam, S. Ramasamy, H. S. Warren, E. L. Hohmann, R. A. Hodin // *Dig. Dis. Sci.* – 2011. – Vol. 56. – P. 1020-1027.
155. Chiang, M. L. Optimizing Production of Two Potential Probiotic Lactobacilli Strains Isolated from Piglet Feces as Feed Additives for Weaned Piglets / M. L. Chiang, H. C. Chen, K. N. Chen, Y. C. Lin, Y. T. Lin, M. J. Chen // *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* – 2015. – Vol. 28. – P. 1163-1170.
156. Cong, Y. Porcine aminopeptidase N mediated polarized infection by porcine epidemic diarrhea virus in target cells / Y. Cong, X. Li, Y. Bai, et al. // *Virology.* – 2015. – Vol. 478. – P. 1-8.
157. Delcenserie, V. Immunomodulatory effects of probiotics in the intestinal tract / V. Delcenserie, D. Martel, M. Lamoureux, et al. // *Curr. Issues Mol. Biol.* – 2008. – Vol. 10, N 1-2. – P. 37-54.
158. De Vrese, M. Probiotics, prebiotics, synbiotics / M. De Vrese, J. Schrezenmeir // *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* – 2008. Vol. 111. – P. 1-66.
159. Ermolenko, E. Effects of autoprobiotic consortium and fecal transplant on the digestive system and intestinal microbiota in the correction of experimental dysbiosis / E. Ermolenko, L. Gromova, N. Lavrenova, M. Kotyleva, Y. Dmitrieva, A. Alekseeva, A. Karaseva, T. Kramskaya, A. Lapidus, A. Sepp, et al // *Gastroenterol. Hepatol. Open Access.* – 2020. – Vol. 11. – P. 198-206.

160. Ermolenko, E. Influence of different probiotic lactic acid bacteria on microbiota and metabolism of rats with dysbiosis / E. Ermolenko, L. Gromova, Yu. Borshchov, A. Voeikova, A. Karaseva, K. Ermolenko, A. Gruzdkov, A. Suvorov // *Bioscience of Microbiota, Food and Health*. — 2013. — Vol. 32, № 2. — P. 41-49.
161. Estaki, M. Interplay between intestinal alkaline phosphatase, diet, gut microbes and immunity / M. Estaki, D. DeCoffe, D. L. Gibson // *World J. Gastroenterol.* — 2014, Nov. — Vol. 20. — P. 15650-15656.
162. Fan, M. Z. Growth and ontogeny of the gastrointestinal tract / M. Z. Fan // *Neonatal pig gastrointestinal physiology and nutrition*. Thrumpton (UK): Nottingham University Press. — 2003. — P. 31-60.
163. Fawley, J. Intestinal alkaline phosphatase: a summary of its role in clinical disease / J. Fawley, D. M. Gourlay // *J. of Surgical Research*. — 2016. — Vol. 202, № 1. — P. 225-234.
164. Flint, H. J. Plant Cell Wall Breakdown by anaerobic microorganisms from the mammalian digestive tract / H. J. Flint, E. A. Bayer // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 2008. — Vol. 1125. — P. 280-288.
165. Franz, C. M. Enterococci as probiotics and their implications in food safety / C. M. Franz, M. Huch, H. Abriouel, W. Holzapfel, A. Gálvez // *International Journal of Food Microbiology*. — 2011. — Vol. 151(2). — P. 125-140.
166. Gänzle, M. G. Metabolism of oligosaccharides and starch in lactobacilli: a review / M. G. Gänzle, R. Follador // *Fron. In Microb.* — 2012, Sept. — Vol. 3. — P. 1-15.
167. Gasbarrini, G. Probiotics History / G. Gasbarrini, F. Bonvicini // *J. Clin. Gastroenterol.* — 2016, Nov./Dec. — Vol. 50. — P. 116-119.
168. Geddes, K. A new role of intestinal alkaline phosphatase in gut barrier maintenance / K. Geddes, D. J. Philpott // *Gastroenterology*. — 2008. — 135:8-12.
169. Ghosh, S. S. Intestinal barrier dysfunction, LPS translocation, and disease development / S. S. Ghosh, J. Wang, P. J. Yannie, S. Ghosh // *J. Endocr. Soc.* — 2020. — Vol. 4(2) — P. 27-39.
170. Goldberg, R. F. Intestinal alkaline phosphatase is a gut mucosal defense factor maintained by enteral nutrition / R. F. Goldberg, W. G. Austen, X. Zhang, G.

Munene, G. Mostafa, S. Biswas, M. McCormack, K. R. Eberlin, J. T. Nguyen, et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2008. – Vol. 105. – P. 3551-3556.

171. Guevarra, R. B. Piglet gut microbial shifts early in life: Causes and effects / R. B. Guevarra, J. H. Lee, S. H. Lee, M.-J. Seok, D. W. Kim, B. Na Kang, T. J. Johnson, R. E. Isaacson, H. B. Kim // J. Anim. Sci. Biotechnol. – 2019. Vol. 10. – P. 1-10.

172. Hammer, H. F. Diarrhea caused by carbohydrate malabsorption / H. F. Hammer, J. Hammer // Gastroenterol. Clin. N. Am. – 2012. – Vol. 41. – P. 611-627.

173. He, Y. Dietary *Bacillus* spp. enhanced growth and disease resistance of weaned pigs by modulating intestinal microbiota and systemic immunity / Y. He, C. Jinno, K. Kim, Z. Wu, B. Tan, X. Li, R. Whelan, Y. Liu // J. Anim. Sci. Biotechnol. – 2020. – Vol. 11. – P. 1-19.

174. Henderson, P. Function of the intestinal epithelium and its dysregulation in inflammatory bowel disease / P. Henderson, J. Van Limbergen, J. Schwarze, D. C. Wilson // Inflamm. Bowel Dis. – 2011. Vol. 17. – P. 382-395.

175. Hopwood, D. E. Addition of pearl barley to a rice-based diet for newly weaned piglets increases the viscosity of the intestinal contents, reduces starch digestibility and exacerbates post-weaning colibacillosis / D. E. Hopwood, D. W. Pethick, J. R. Pluske, D. J. Hampson // British Journal of Nutrition. – 2004. – Vol. 92. – P. 419-427.

176. Huang, C. Effects of lactobacilli on the performance, diarrhea incidence, VFA concentration and gastrointestinal microbial flora of weaning pigs / C. Huang, S. Qiao, D. Lifa, X. Piao, J. Ren // Asian-Australasian Journal of Animal Science. – 2004. – Vol. 17. - P. 401-409.

177. Johnson, L. R. Physiology of the Gastrointestinal Tract / L. R. Johnson // Fifth Edition. – 2012. – Vol. 1. – 2189 p.

178. Kato, K. Age-related changes in the composition of gut *Bifidobacterium* species / K. Kato, T. Odamak, E. Mitsuyama, S. Hirosuke, J.-Z. Xiao, R. Osawa // Curr. Microbiol. – 2017. Vol. 8. – P. 987-995.

179. Kim, H. B. Longitudinal investigation of the age-related bacterial diversity in the feces of commercial pigs / H. B. Kim, K. Borewicz, B. A. White, R. S. Singer, S. Sreevatsan, Z. J. Tu, R. E. Isaacson // *Vet. Microbiol.* – 2011. – Vol. 153. – P. 124-133.
180. Komazin, G. Substrate structure-activity relationship reveals a limited lipopolysaccharide chemotype range for intestinal alkaline phosphatase / G. Komazin, M. Maybin, R. W. Woodard, T. Scior, D. Schwudke, U. Schombel, et al. // *J. Biol. Chem.* – 2019. – 294(50):19405-23.
181. Konstantinov, S. R. Microbial diversity studies of the porcine gastrointestinal ecosystem during weaning transition / S. R. Konstantinov, C. F. Favier, W. Y. Zhu, et al. // *Animal Research.* – 2004. – Vol. 53. – P. 317–324.
182. Kramer, W. Aminopeptidase N (CD13) is a molecular target of the cholesterol absorption inhibitor ezetimibe in the enterocyte brush border membrane / W. Kramer, F. Girbig, D. Corsiero, et al. // *The J. of Biolog. Chem.* – 2005. – Vol. 280 (2). – P. 1306-1320.
183. Kushak, R. I. Dietary carbohydrates: digestion and absorption / Trends in dietary fats research / R. I. Kushak, H.S. Winter // Ed. Landow M.V. Nova Science Publishers Inc. – 2005. – P. 1-30.
184. Lackeyram, D. Early weaning reduces small intestinal alkaline phosphatase expression in pigs / D. Lackeyram, C. Yang, T. Archbold, et al. // *The Journal of Nutrition.* – 2010. – P. 461-468.
185. Lallès, J. P. Intestinal alkaline phosphatase: novel functions and protective effects / J. P. Lallès // *Nutr. Rev.* – 2014. – Vol. 72, № 2. – P. 82-94.
186. Lallès, J. P. Microbiota-host interplay at the gut epithelial level, health and nutrition / J. P. Lallès // *J. Anim. Sc.* – 2016. – P. 7-15.
187. Lalle`s, J. P. Nutritional management of gut health in pigs around weaning / J. P. Lalle`s, P. Bosi, H. Smidt, S. R. Stokes // *Proceedings of the Nutrition Society.* – 2007. – Vol. 66. – P. 260-268.
188. Lassenius, M. I. Intestinal alkaline phosphatase at the crossroad of intestinal health and disease - a putative role in type 1 diabetes / M. I. Lassenius, C. L. Fogarty, M.

Blaut, K. Haimila, L. Riittinen, A. Paju, et al. // *J. Intern. Med.* – 2017. – Vol. 281(6). – P. 586-600.

189. Layton, B. A. Enterococcus species distribution among human and animal hosts using multiplex PCR / B. A. Layton, S. P. Walters, L. H. Lam, A. B. Boehm // *J. Appl. Microbiol.* – 2010. Vol. 109(2). – P. 539-574.

190. Leavis, H. L. Identification of high-risk enterococcal clonal complexes: global dispersion and antibiotic resistance / H. L. Leavis, M. J. Bonten, R. J. Willems // *Current Opinion in Microbiology.* – 2006. Vol. 9(5). – P. 454-460.

191. Leblois, J. Modulation of piglets' microbiota: differential effects by a high wheat bran maternal diet during gestation and lactation / J. Leblois, S. Massart, L. Bing, et al. // *Scientific Reports.* – 2017, Aug. – P. 1-11.

192. Li, Y. Weaning Stress Perturbs Gut Microbiome and Its Metabolic Profile in Piglets / Y. Li, Y. Guo, Z. Wen, X. Jiang, X. Ma, X. Han // *Sci. Rep.* – 2018. – Vol. 8. – P. 1-12.

193. Linskens, R. K. The bacterial flora in inflammatory bowel disease: current insights in pathogenesis and the influence of antibiotics and probiotics / R. K. Linskens, X. W. Huijsdens, P. H. Savelkoul // *Scand. J. Gastroenterol. Suppl.* – 2001. – № 234 (Suppl.). – P. 29-40.

194. Lomer, M.C.E. The etiology, diagnosis, mechanisms and clinical evidence for food intolerance / M.C.E. Lomer // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2015. – Vol. 41. – P. 262-275.

195. Lynes, M. Interactions between CD36 and global intestinal alkaline phosphatase in mouse small intestine and effects of high-fat diet / M. Lynes, S. Narisawa, J. L. Millán, E. P. Widmaier // *Am. J. Phys. Regul. Integr. Comp. Phys.* – 2011. – Vol. 301(6). – P. 1738-1747.

196. Malo, M. S. A High Level of Intestinal Alkaline Phosphatase Is Protective Against Type 2 Diabetes Mellitus Irrespective of Obesity / M. S. Malo // *EBioMedicine.* – 2015. – V. 2. – P. 2016-2023.

197. Marion, J. Early weaning stimulates intestinal brush border enzyme activities in piglets, mainly at the posttranscriptional level / J. Marion, Y. M. Petersen, V. Rome',

F. Thomas, P. T. Sangild, J. Le Dividich, I. Le Hue"rou-Luron // *J. Pediatr. Gasterentol. Nutr.* – 2005. – 41:401-10.

198. Martínez-Moya, P. Exogenous alkaline phosphatase treatment complements endogenous enzyme protection in colonic inflammation and reduces bacterial translocation in rats / P. Martínez-Moya, M. Ortega-González, R. González, et al. // *Pharmacol. Res.* – 2012. – Vol. 66. – P. 144-153.

199. Mauro, M. G. The greater inflammatory pathway-high clinical potential by innovative predictive, preventive, and personalized medical approach / M. G. Mauro, M. Soligo, G. Gibson, L. Manni, C. Nardini // *EPMA J.* – 2019. – Vol.11(1). – P. 1-16.

200. Maxwell, C. V. Feeding the weaned pig / C. V. Maxwell, S. D. Carter // *Swine nutrition*. Boca Raton (FL): CRC Press. – 2001. – P. 691-715.

201. Metzler, B. Microflora management in the gastrointestinal tract of piglets / B. Metzler, E. Bauer, R. Mosenthin // *Asian-Australasian Journal of Animal Science.* – 2005. – Vol. 18. – P. 1353-1362.

202. Millán, J. L. Alkaline phosphatases: structure, substrate specificity and functional relatedness to other members of a large superfamily of enzymes / J. L. Millán // *Purinergic. Signal.* – 2006. – Vol. 2(2). – P. 335-341.

203. Moeser, A. J. Weaning stress and gastrointestinal barrier development: Implications for lifelong gut health in pigs / A. J. Moeser, C.S. Pohl, M. Rajput // *Anim. Nutr.* 2017. – Vol. 3. – P. 313-321.

204. Molnár, K. Intestinal alkaline phosphatase in the colonic mucosa of children with inflammatory bowel disease / K. Molnár, A. Vannay, B. Szebeni, N. F. Bánki, E. Sziksz, A. Cseh, et al. // *World J. Gastroenterol.* – 2012. – Vol. 18(25). – P. 3254-3259.

205. Montagne, L. Effect of diet composition on postweaning colibacillosis in piglets / L. Montagne, F. S. Cavaney, D. J. Hampson, J. P. Lalle`s, J. R. Pluske // *Journal of Animal Science.* – 2004. – Vol. 82. – P. 2364-2374.

206. Moon, H. W. Mechanisms in the pathogenesis of diarrhea: a review / H. W. Moon // *J. Amer. Vet. Med. Assoc.* – 1978. – V. 172. – № 4. – P. 443-448.

207. Moss, A. K. Intestinal alkaline phosphatase inhibits the proinflammatory nucleotide uridine diphosphate / A. K. Moss, S. R. Hamarneh, M. M. Rafat Mohamed, et al. // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2013. – Vol. 304. – P. 597-604.
208. McFarland, L. Epidemiology, risk factors and treatments for antibiotic associated diarrhea / L. McFarland // *Diagn. Dis.* – 1998. – Vol. 16. – P. 292-307.
209. Nam, E. Contribution of the porcine aminopeptidase N (CD13) receptor density to porcine epidemic diarrhea virus infection / E. Nam, C. Lee // *Vet. Microbiol.* – 2010. – Vol. 144 (1-2). – P. 41-50.
210. Nguyen, D. H. Evaluation of effect of probiotics mixture supplementation on growth performance, nutrient digestibility, faecal bacterial enumeration, and noxious gas emission in weaning pigs / D. H. Nguyen, C. M. Nyachoti, I. H. Kim // *Ital. J. Anim. Sci.* – 2018. – Vol. 18. – P. 466-473.
211. Nguyen, Vo. Piglet Gut Microbiota Responses to Exposure to Outdoor Simulated Environment and Formula Feeding / Vo. Nguyen // *Theses and Dissertations.* – 2017. – 86 p.
212. Pácha, J. Development of Intestinal Transport Function in Mammals / J. Pácha // *Physiol. Rev.* – 2000. – Vol. 80. – P. 1633-1667.
213. Pajarillo, E. A. B. Assessment of fecal bacterial diversity among healthy piglets during the weaning transition / E. A. B. Pajarillo, J.-P. Chae, M. P. Balolong, H. B. Kim, D.-K. Kang // *J. Gen. Appl. Microbiol.* – 2014. – Vol. 60. – P. 140-146.
214. Peters, E. Alkaline phosphatase protects against renal inflammation through dephosphorylation of lipopolysaccharide and adenosine triphosphate / E. Peters, S. Geraci, S. Heemskerk, M. J. Wilmer, A. Bilos, B. Kraenzlin, et al. // *Br. J. Pharmacol.* – 2015. – Vol. 172(20). – P. 4932-4945.
215. Pie', S. Weaning is associated with an upregulation of expression of inflammatory cytokines in the intestine of piglets / S. Pie', J. P. Lalle's, F. Blazy, J. Laffitte, B. Se've, I. P. Oswald // *Journal of Nutrition.* – 2004. – Vol. 134. – P. 641-647.
216. Pierce, K. M. The interaction between lactose level and crude protein concentration on piglet post-weaning performance, nitrogen metabolism, selected faecal microbial populations and faecal volatile fatty acid concentrations / K. M. Pierce, J. J.

Callan, P. McCarthy, J. V. O'Doherty // *Animal Feed Science and Technology*. – 2007. – Vol. 132. – P. 267-282.

217. Plaeke, P. Effects of intestinal alkaline phosphatase on intestinal barrier function in a cecal ligation and puncture (CLP)-induced mouse model for sepsis / P. Plaeke, J. G. De Man, A. Smet, S. Malhotra-Kumar, I. Pintelon, J. P. Timmermans, et al. // *Neurogastroenterol. Motil.* – 2020. – Vol. 32(3). – 13754 p.

218. Preter V. Effect of dietary intervention with different pre- and probiotics on intestinal bacterial enzyme activities / V. Preter, H. Raemen, L. Cloetens et al. // *Eur. J. Clin. Nutr.* – 2007. – Vol. 10. – P. 1038-1046.

219. Rader, B. A. Alkaline phosphatase, an unconventional immune protein / B. A. Rader // *Front. Immunol.* – 2017. – Vol. 8. – 897 p.

220. Rambaud, J. C. Gut microflora: Digestive physiology and pathology / J. C. Rambaud, J. P. Buts, G. Corthier, B. Flourie // Paris. – 2006. – 247 p.

221. Reid, G. How do probiotics and prebiotics function at distant sites? / G. Reid, T. Abrahamsson, M. Bailey, L. B. Bindels, R. Bubnov, K. Ganguli, et al. // *Benefic. Microbes.* – 2017. – Vol. 8(4). – P. 521-533.

222. Riggle, K. M. Intestinal alkaline phosphatase prevents the systemic inflammatory response associated with necrotizing enterocolitis / K. M. Riggle, R. M. Rentea, S. R. Welak, K. A. Pritchard, K. T. Jr Oldham, D. M. Gourlay // *J. Surg. Res.* – 2013. – Vol. 180(1). – P. 21-26.

223. Roselli, M. Alternatives to in-feed antibiotics in pigs: Evaluation of probiotics, zinc or organic acids as protective agents for the intestinal mucosa. A comparison of in vitro and in vivo results / M. Roselli, A. Finamore, M. S. Britti, P. Bosi, I. P. Oswald, E. Mengheri // *Animal Research*. – 2005. – Vol. 54. – P. 203-218.

224. Semenza, G. Intestinal oligo- and disaccharidases / Carbohydrate metabolism and its disorders / G. Semenza // Ed. by J.P. Randle et al. - London, Acad. Press. – 1981. – Vol. 3. – P. 245-479.

225. Scharek, L. Influence of a probiotic *Enterococcus faecium* strain on development of the immune system of sows and piglets / L. Scharek, J. Guth, K. Reiter, K. D. Weyrauch, D. Taras, P. Schwerk, P. Schierack, M. F. Schmidt, L. H. Wieler, K.

Tedin // *Veterinary Immunology and Immunopathology*. – 2005. – Vol. 105. – P. 151-161.

226. Shen, Y. B. Effects of yeast culture supplementation on growth performance, intestinal health, and immune response of nursery pigs / Y. B. Shen, X. S. Piao, S. W. Kim, L. Wang, P. Liu, I. Yoon, Y. G. Zhen // *J. Anim. Sci.* – 2009. – Vol. 87. – P. 2614-2624.

227. Shizgal, N. M. Nutrition and immune function / N. M. Shizgal // *Ann. Surg.* – 2001. – Vol. 13. – P. 15-29.

228. Silk, D. B. Disorders of nitrogen absorption / D. B. Silk // *Clinic. Gastroenter.* – 2002. – Vol. 11. – P. 47-72.

229. Singh, S. B. Intestinal alkaline phosphatase exerts anti-inflammatory effects against lipopolysaccharide by inducing autophagy / S. B. Singh, A. Carroll-Portillo, C. Coffman, N. L. Ritz, H. C. Lin // *Sci. Rep.* – 2020. – Vol. 10(1). – 3107 p.

230. Slifierz, M. J. Longitudinal study of the early-life fecal and nasal microbiotas of the domestic pig / M. J. Slifierz, R. M. Friendship, J. S. Weese // *BMC Microbiol.* – 2015. – P. 175-184.

231. Spreeuwenberg, M.A.M. Small intestine epithelial barrier function is compromised in pigs with low feed intake at weaning / M.A.M. Spreeuwenberg, J.M.A.J. Verdonk, H.R. Gaskins, M.W.A. Verstegen // *J. Nutr.* – 2001. – Vol. 131. – P. 1520-1527.

232. Stokes, C.R. Postnatal development of intestinal immune system in piglets: Implications for the process of weaning / C.R. Stokes, M. Bailey, K. Haverson, C. Harris, P. Jones, C. Inman, S. Pié, I.P. Oswald, B.A. Williams, A.D. Akkermans, et al. // *Anim. Res.* – 2004. – Vol. 53. – P. 325-334.

233. Suvorov, A. Gut microbiota, probiotics and human health / A. Suvorov // *Bioscience of microbiota, food and health*. – 2013. – № 32 (3). – P. 81-93.

234. Symonds, E. L. *Bifidobacterium infantis* 35624 protects against salmonella-induced reductions in digestive enzyme activity in mice by attenuation of the host inflammatory response / E. L. Symonds, C. O'Mahony, S. Laphorne, D. O'Mahony, J. M. Sharry, L. O'Mahony, et al. // *Clin. Transl. Gastroenterol.* – 2012. – Vol. 3(5). – 15 p.

235. Tansey, T. Intestinal absorption / T. Tansey, D. A. Christie, E. M. Tansey // London: Wellcome Trust. - 2000. – 81 p.
236. Tojo, R. Intestinal microbiota in health and disease: Role of bifidobacteria in gut homeostasis / R. Tojo, A. Suárez, M.G. Clemente, C.G. de los Reyes-Gavilán, A. Margolles, M. Gueimonde, P. Ruas-Madiedo // World J. Gastroenterol. – 2014. – Vol. 20. – P. 15163–15176.
237. Tuin, A. Role of alkaline phosphatase in colitis in man and rats / A. Tuin, K. Poelstra, A. de Jager-Krikken, L. Bok, W. Raaben, M. P. Velders, G. Dijkstra // Gut. – 2009. – Vol. 58. – P. 379-387.
238. Upadhaya, S.-D. The impact of weaning stress on gut health and the mechanistic aspects of several feed additives contributing to improved gut health function in weanling piglets - a review / S.-D. Upadhaya, I.-H. Kim // Animals. – 2021. – Vol. 11. – 2418 p.
239. Van der Peet-Schwering, C. M. C. Effects of yeast culture on performance, gut integrity, and blood cell composition of weanling pigs / C. M. C. Van der Peet-Schwering, A. J. M. Jansman, H. Smidt, I. Yoon // J. Anim. Sci. – 2007. – Vol. 85. – P. 3099-3109.
240. Výrostková, J. Antimicrobial resistance of enterococcus sp. isolated from sheep and goat cheeses / J. Výrostková, I. Regecová, E. Dudriková, S. Marcinčák, M. Vargová, M. Kováčová // Foods. – 2021. – Vol. 10. – 1844 p.
241. Wang, H. Influence of *Bacillus subtilis* GCB-13-001 on growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics, faecal microbiota and faecal score in weanling pigs / H. Wang, K. P. Kim, I. H. Kim // J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. – 2019. – Vol. 103. – P. 1919-1925.
242. Williams, B. A. Fermentation in the monogastric large intestine: its relation to animal health / B. A. Williams, M. W. A. Verstegen, S. Tamminga // Nutrition Research Reviews. – 2001. – Vol. 14. – P. 207-227.
243. Xiong, X. Nutritional intervention for the intestinal development and health of weaned pigs / X. Xiong, B. Tan, M. Song, P. Ji, K. Kim, Y. Yin, Y. Liu // Front. Vet. Sci. – 2019. – Vol. 6. – 46 p.

244. Yang, Q. Structure and Function of the Fecal Microbiota in Diarrheic Neonatal Piglets / Q. Yang, X. Huang, S. Zhao, et al. // *Frontiers in Microbiology*. – March 2017. – Volume 8. – P. 1-13.

245. Zhang, J. A phylofunctional core of gut microbiota in healthy young Chinese cohorts across lifestyles, geography and ethnicities / J. Zhang, Z. Guo, Z. Xue, Z. Sun, M. Zhang, L. Wang, et al. // *ISME J*. – 2015. – Vol. 9. – P. 1979-1990.

246. Zoetendal, E. G. Molecular ecological analysis of the gastrointestinal microbiota: A review / E. G. Zoetendal, C. T. Collier, S. Koike, R. I. Mackie, H. R. Gaskins // *Journal of Nutrition*. – 2004. – Vol. 134. – P. 465-472.

9. ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1


**КОМИТЕТ ВЕТЕРИНАРИИ
НОВГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ**

Дворцовая ул., д.11,
Великий Новгород, Россия, 173000
тел. 77-63-65, факс (816+2) 77-83-84
E-mail: nov_vet@novreg.ru

от 15.03.2019

№ 559

на №

от 11.03.2019

Аспиранту СПбГАВМ

А.Л. Сепп

anastasiya.sepp@bk.ru
**О согласовании исследования
свинопоголовья**

Комитет ветеринарии Новгородской области согласовывает отбор проб биоматериала от свинопоголовья, содержащегося в ЛПХ Симора Н.И., расположенного по адресу: д. Сырково, ул. Советская д.9, для бактериологического и биохимического исследования аспиранта СПбГАВМ А.Л. Сепп по теме диссертации «Состояние мембранного пищеварения, микробиоценоза кишечника при гастроэнтерите поросят в период отъема».

Зам. Председатель комитета

Л.С. Сукачева

«УТВЕРЖДАЮ»

Председатель Комитета ветеринарии
Новгородской области

Л. С. Сукачева

«0» апреля 2024 г.



СПРАВКА О ВНЕДРЕНИИ

Результаты диссертационной работы Сепп Анастасии Леонидовны на тему «Состояние мембранного пищеварения и микробиоценоза при гастроэнтерите у поросят в период отъема» имеют практическое и теоретическое значение. Автором установлено, что неспецифический гастроэнтерит у поросят в период отъема протекает с расстройством полостного и мембранного пищеварения, сопровождается нарушением микробиоценоза кишечника, диареей, нарушением водно-электролитного, белкового обменов, а также гипогликемией.

Впервые на клеточно-молекулярном уровне охарактеризовано состояние микробиоценоза кишечника, мембранного пищеварения, структуры слизистой оболочки тонкой кишки, а также проведен мониторинг клинических, морфологических и биохимических исследований крови у больных гастроэнтеритом поросят в начале и после лечения с использованием пробиотических бактерий *Enterococcus faecium* L-3, *Enterococcus faecium* 1-35.

В результате раскрыты ранее неизвестные стороны патогенеза данной патологии, что позволило разработать схему лечения с применением пробиотических бактерий *Enterococcus faecium* L-3, *Enterococcus faecium* 1-35 в дозе 9 lgКОЕ/мл.

Результаты диссертационной работы Сепп А. Л. внедрены в практическую деятельность ветеринарной службы Новгородской области.

Зам. Председателя комитета

Е. П. Данилова

«УТВЕРЖДАЮ»

Председатель Комитета ветеринарии
Новгородской области
Л. С. Сукачева
19» апреля 2024 г.



СПРАВКА

о проведении научных исследований Сепп Анастасией Леонидовной по теме кандидатской диссертации «Состояние мембранного пищеварения и микробиоценоза при гастроэнтерите у поросят в период отъема».

Подтверждаем, что Сепп Анастасия Леонидовна, аспирантка кафедры внутренних болезней животных им. Синева А. В. Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», проводила научно-исследовательскую работу в ЛПХ Симора Николая Ивановича по адресу: Новгородская обл., Новгородский район, д. Сырково, ул. Советская д. 9.

Научно-исследовательская работа направлена на изучение патогенеза, микробиоценоза кишечника, мембранного пищеварения, структуры слизистой оболочки тонкой кишки, а также исследований крови у больных гастроэнтеритом поросят в период отъема. Также на базе ЛПХ Симора Н. И. была испытана схема терапии поросят больных гастроэнтеритом с использованием пробиотических бактерий *Enterococcus faecium* L-3, *Enterococcus faecium* 1-35.

Зам. Председателя комитета

Е. П. Данилова

«УТВЕРЖДАЮ»
Начальник
ОБУ «Новгородская районная
ветеринарная станция»
Л. Н. Бурцев
10 июня 2019 г.

АКТ

о внедрении научно-исследовательской работы

Данным актом подтверждается, что результаты диссертационной работы по теме: «Состояние мембранного пищеварения и микробиоценоза при гастроэнтерите у поросят в период отъема», выполненной Сепп А. Л., внедрены в практическую деятельность ЛПХ Симора Н. И. по адресу: Новгородская обл., Новгородский район, д. Сырково, ул. Советская д. 9 для профилактики и лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта у свиней.

Результаты проведенной научно-исследовательской работы позволили определить характер изменения микробиоценоза кишечника, общих клинических и биохимических показателей крови, а также мембранного пищеварения в зависимости от клинического состояния поросят с симптомами гастроэнтерита в период отъема, а также эффективность лечения данной патологии с использованием пробиотических бактерий *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35.

В чем и был составлен настоящий акт в трех экземплярах.

Подписи:

Филиппова Е. В.

Иванова А. М.

Симора Н. И.

«Утверждаю»
Проректор по учебной работе
ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ
доктор технических наук,
профессор Н. М. Дерканосова
документов
2024 г.

КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Результаты научных исследований аспирантки кафедры внутренних болезней животных им. А. В. Синева ФГБОУ ВО ФГБОУ ВО СПбГУВМ Сепп Анастасии Леонидовны по диссертационной работе на тему: «Состояние мембранного пищеварения и микробиоценоза при гастроэнтерите у поросят в период отъема» приняты к внедрению в учебный процесс. Они используются как справочный материал для чтения лекций и проведения лабораторно-практических занятий по внутренним болезням животных. Полученные Сепп А.Л. результаты будут использованы в научно-исследовательской работе студентов, соискателей и аспирантов.

Материалы научных исследований Сепп А.Л. рассмотрены на заседании кафедры терапии и фармакологии ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ (протокол №7 от 13.03.2024).

Заведующий кафедрой
терапии и фармакологии
ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ
к.в.н, доцент



Д. А. Саврасов

Исполнитель Саврасов Д.А.
89518592663

«Утверждаю»
 Проректор по научной работе,
 международным связям и цифровой трансформации
 ФГБОУ ВО ФГБОУ ВО Великолукская ГСХА
 к.с.-х.н., доцент А. Н. Павлов
 2024 г.



КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Данные информационного письма о диссертационной работе Сепп Анастасии Леонидовны на тему: «Состояние мембранного пищеварения и микробиоценоза при гастроэнтерите у поросят в период отъема» рассмотрены на заседании кафедры «Ветеринария» (протокол № 12 от 26 марта 2024 г.) и приняты к использованию в учебном процессе и научно-исследовательской работе, в качестве справочного материала при проведении НИР.

26.03.2024

И.о. заведующей кафедрой «Ветеринария»
 ФГБОУ ВО ФГБОУ ВО Великолукская ГСХА
 к.с.-х.н., доцент

Т.И. Скопцова

182112, Псковская обл., г. Великие Луки, пр. Ленина, д.2,
 федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
 "Великолукская государственная сельскохозяйственная академия"
 E-mail: edu@vgsa.ru, vgsha@mart.ru
 Факс (телефон-факс): +7 (81153) 7-52-82

«Утверждаю»
 Ректор ФГБОУ ВО
 «БГСХА им. В.Р.Филиппова»
 Б.Б.Цыбиков
 « 15 » 05 2024г.



КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Данные информационного письма о диссертационной работе Сепп Анастасии Леонидовны на тему: «**Состояние мембранного пищеварения и микробиоценоза при гастроэнтерите у поросят в период отъема**» рассмотрены на заседании кафедры болезней животных и ветеринарно-санитарной экспертизы (протокол от № 12 15.05.2024г.) и приняты к использованию в учебном процессе и научно-исследовательской работе, в качестве справочного материала при проведении НИР.

15.05.2024

Заведующая кафедрой терапии, клинической диагностики, акушерства и биотехнологии факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО БГСХА имени В.Р.Филиппова д.в.н., профессор



Н.В.Мантатова

670010, Республика Бурятия, г. Улан-Удэ, ул. Пушкина, 8
 Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Бурятская государственная сельскохозяйственная академия имени В.Р.Филиппова»
 Телефон: 8 (3012) 44-26-11
 Факс: 8 (3012) 44-21-33
 E-mail: bgsha@bgsha.ru

«УТВЕРЖДАЮ»

Ректор ФГБОУ ВО Костромская ГСХА,

доктор технических наук, профессор


М.С. Волхонов

« 05 » 04 2024 г

**КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ**

Результаты научных исследований по теме кандидатской диссертации Сепп Анастасии Леонидовны на тему: «Состояние мембранного пищеварения и микробиоценоза при гастроэнтерите у поросят в период отъема» внедрены в учебный процесс, используются на лекциях, лабораторно-практических занятиях и при проведении научно-исследовательской работы на кафедре внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства факультета ветеринарной медицины и зоотехнии ФГБОУ ВО Костромская ГСХА.

Материалы рассмотрены на заседании кафедры внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства протокол № 10 от 05 апреля 2024 г.

Наименование организации

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Костромская государственная сельскохозяйственная академия»

Почтовый адрес

156530 Костромская область, Костромской район, п. Караваево, Учебный городок, дом 34, Телефон: 8(4942) 46-65-29, добавочный 20-00; факс: 8(4942) 65-75-99, E-mail: sv44kostroma@yandex.ru

Web-сайт: <https://www.kgsxa.ru>

Зав. кафедрой внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства, кандидат ветеринарных наук, доцент

В.В. Решетняк



Первый Санкт-Петербургский
государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова

ДИПЛОМ

II степени

награждается коллектив авторов:

Сепп А.Л., Громова Л.В.

за доклад

**«МЕМБРАННОЕ ПИЩЕВАРЕНИЕ ПРИ
КОРРЕКЦИИ ДИСБИОЗА У КРЫС С ПРИМЕНЕНИЕМ
ПРОБИОТИЧЕСКИХ ЭНТЕРОКОККОВ»**

на секции молодых ученых:

«Физиология висцеральных систем»

**XXVII ВСЕРОССИЙСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ МОЛОДЫХ УЧЁНЫХ
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ**

«АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ БИОМЕДИЦИНЫ – 2021»

25-26 МАРТА 2021 ГОДА,

г. САНКТ-ПЕТЕРБУРГ

Директор Научно-образовательного института биомедицины
ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова,
профессор

Т.Д. Власов

Заведующая кафедрой нормальной физиологии
ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова,
профессор

Е.В. Лопатина

