

бенностями этих норок. Установлено снижение уровня нейтрофилов в апреле по сравнению с 10-месячным возрастом в феврале и уравнивание количества нейтрофилов и лимфоцитов в этот период («физиологический перекрест»). Соотношение нейтрофилов и лимфоцитов в определенной степени зависят от изменения гормонального фона животных и обусловлены биологическими особенностями норок и сезонной цикличностью размножения. Значения адаптационного индекса в определенной степени отражают течение адаптивных изменений в организме норок в постнатальном онтогенезе.

Список литературы

1. Антипов А. Д. Очерки по физиологии пушных зверей / А. Д. Антипов, В. А. Берестов, Р. И. Волкова и др. Л.: Наука, 1987. 239 с.
2. Берестов В. А. Лабораторные методы оценки состояния пушных зверей / В. А. Берестов. Петрозаводск: Карелия, 1981. 151 с.
3. Илюха В. А. Закон гомологических рядов Н. И. Вавилова и изменение лейкоформулы млекопитающих под влиянием domestikации / В. А. Илюха, А. Г. Кижина, С. Н. Калинина, Л. Б. Узенбаева, С. Лапински, П. Недбала, И. И. Окулова, Й. Ксу, О. В. Трапезов // Кролиководство и звероводство. 2020. № 5. Т. 2. С. 27–34.
4. Кавцевич Н. Н. Возрастные особенности клеточного состава крови тюленей / Н. Н. Кавцевич, Т. В. Минзюк // Труды ВНИРО. 2017. Т. 167. С. 78–95.

5. Кижина А. Г. Морфологические и цитохимические аспекты дефекта лейкоцитов в domestikируемых популяциях пушных зверей / А. Г. Кижина, Л. Б. Узенбаева, В. А. Илюха, Н. Н. Тютюнник, О. В. Трапезов, Н. Н. Шумилина, Е. Е. Ларина // Труды Карельского научного центра РАН. № 3. 2011. С. 62–68.

6. Клочков Д. В. Фотопериодическая регуляция репродуктивной функции животных и ее практические аспекты: автореф. дис. ... док. биол. наук: 06.02.01 / Д. В. Клочков. Сиб. н.-и. и проектно-технол. ин-т животноводства. Новосибирск, 1991. 48 с.

7. Лоечко Н. Н. Оценка физиологического состояния организма стандартной черной норки (*Neovison vison*) в различные биологические периоды / Н. Н. Лоечко, В. Н. Куликов, И. П. Люднов // Международный вестник ветеринарии. 2021. №2. С. 122–125. DOI: 10.17238/issn2072-2419.2021.2.122.

8. Любин Н. А. Методические рекомендации к определению и выведению гемограммы у сельскохозяйственных и лабораторных животных при патологиях / Н. А. Любин, Л. Б. Конова. Ульяновск: ГСХА, 2005. 113 с.

9. Турков В. Г. Динамика лейкоцитарных индексов у новорожденных телят / В. Г. Турков, Л. В. Клетикова, Н. Н. Якименко, М. С. Маннова, Н. П. Шишкина // Эффективное животноводство. 2020. № 2 (159). С. 75–77.

10. Тютюнник Н. Н. Физиолого-биохимический статус организма норки (*Mustela vison* Schr.) и песцов (*Alopex lagopus* L.) и пути его оптимизации: автореф. дис. док. с.-х. наук, п. Родники, Московская обл. / Н. Н. Тютюнник. 2002. 54 с.

11. Davis A. K. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists / A. K. Davis, D. L. Maney // Functional Ecology. 2008. Vol. 22. Pp. 760–772. DOI: 10.1111/j.1365-2435.2008.01457.x.

DOI: 10.24412/2074-5036-2024-262-6-10

УДК: 616.34-002-008.6:636.4

Ключевые слова: болезни молодняка, поросята, гастроэнтерит, пищеварительные ферменты, гомогенат, микро-биоценоз, пробиотики

Key words: young animals, piglets, gastroenteritis, protective enzymes, homogenate, microbiocenosis, probiotics.

^{1,2}Сепп А. Л., ²Яшин А. В., ²Прусаков А. В.

НАРУШЕНИЕ МИКРОБИОМА И МЕМБРАННОГО ПИЩЕВАРЕНИЯ У ПОРОСЯТ ПРИ ГАСТРОЭНТЕРИТЕ И ИХ КОРРЕКЦИЯ *DISORDERS OF THE MICROBIOME AND MEMBRANE DIGESTION IN PIGLETS WITH GASTROENTERITIS AND THEIR CORRECTION*

¹ФГБУН Институт физиологии им. И. П. Павлова Российской академии наук. Адрес: 188680, Россия, Ленинградская обл., Всеволожский район; Колтушское сельское поселение, село Павлово, ул. Быкова, д. 36
Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences. Address: 188680, Russia, Leningrad Region, Vsevolozhsk District; Koltushskoye rural settlement, Pavlovo village, st. Bykova, 36

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
Адрес: 196084, Россия, Санкт-Петербург, Черниговская ул., 5.
Saint-Petersburg State University of Veterinary Medicine
Address: 196084, Russia, Saint-Petersburg, Chernigovskaya str., 5.

^{1,2}Сепп Анастасия Леонидовна, научный сотрудник лаборатории физиологии питания ИФ РАН, ассистент кафедры внутренних болезней животных им. А. В. Синева СПбГУВМ. E-mail: anastasiya.sepp@bk.ru
Sepp Anastasia Leonidovna, Researcher of the Laboratory of Nutritional Physiology of the Institute of Physiology RAS, Assistant of Department of Internal Animal Diseases named after A. V. Sinev SPbUVM. E-mail: anastasiya.sepp@bk.ru

Прусаков Алексей Викторович, д. вет. н., доцент, заведующий кафедрой внутренних болезней животных им. А. В. Синева. E-mail: prusakovv-av@mail.ru

Prusakov Alexey Viktorovich, Doctor of Veterinary Science, Associate Professor, Head of Department of Internal Animal Diseases named after A. V. Sinev. E-mail: prusakovv-av@mail.ru

Яшин Анатолий Викторович, д. вет. н., профессор, профессор кафедры внутренних болезней животных им. А. В. Синева. E-mail: anatoliy-yashin@yandex.ru

Yashin Anatoly Viktorovich, Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Professor of the Department of Internal Diseases of Animals named after A. V. Sinev. E-mail: anatoliy-yashin@yandex.ru

Аннотация. Известно, что в период отъема поросят у них чаще всего регистрируют гастроэнтериты. Это, как правило, связано с низкой адаптацией животных к новому виду корма. Установлено, что этот критический период сопряжен с недостаточным синтезом как желудочного, так и кишечного соков. В дальнейшем эти нарушения приводят к расстройству пищеварения и развитию дисбактериоза, который сопровождается резким изменением соотношения сапрофитной и патогенной микрофлоры. Цель настоящего исследования состояла в изучении влияния пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 на микробиоту и активность ряда кишечных пищеварительных ферментов, участвующих в мембранном пищеварении у поросят с симптомами гастроэнтерита в период отъема. Анализируя полученные данные, можно сделать вывод, что применение современных пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 оказывает высокую терапевтическую эффективность при гастроэнтеритах у поросят отъемного периода [7]. Использование пробиотических энтерококков способствует восстановлению ферментативной активности и микробиоты кишечника у животных, что приводит к их быстрому выздоровлению.

Summary. It is known that during the weaning of piglets, gastroenteritis is most often recorded in them. This is usually due to the low adaptations of animals to a new type of feed. It has been established that this critical period is associated with insufficient synthesis of both gastric and intestinal juices. In the future, these disorders lead to digestive disorders and the development of dysbiosis, which is accompanied by a sharp change in the ratio of saprophytic and pathogenic microflora. The purpose of this study was to study the effect of probiotic strains *Enterococcus faecium* L-3 and *Enterococcus faecium* 1-35 on the microbiota and activity of a number of intestinal digestive enzymes involved in membrane digestion in piglets with symptoms of gastroenteritis during weaning. Analyzing the data obtained, it can be concluded that the use of modern probiotic strains *Enterococcus faecium* L-3 and *Enterococcus faecium* 1-35 has high therapeutic efficacy in gastroenteritis in weaning piglets. The use of probiotic enterococci contributes to the restoration of enzymatic activity and intestinal microbiota in animals, which leads to their rapid recovery.

Введение

Известно, что в период отъема поросят у них чаще всего регистрируют гастроэнтериты. Это как правило, связано с низкой адаптацией животных к новому виду корма. Установлено, что этот критический период сопряжен с недостаточным синтезом как желудочного, так и кишечного соков. В дальнейшем эти нарушения приводят к расстройству пищеварения и развитию дисбактериоза, который сопровождается резким изменением соотношения сапрофитной и патогенной микрофлоры [1, 9, 10, 11].

В настоящее время большое внимание уделяется изучению штаммов бактерии *Enterococcus faecium*, которые являются одними из представителей микробиоты кишечника животных и человека [5, 6, 8]. Эти микроорганизмы синтезируют органические кислоты и определенный спектр целлюлозно-литических ферментов, способствующих расщеплению клетчатки растительных кормов, улучшая тем самым их переваривание. Штаммы бактерий *Enterococcus faecium* широко применяются в качестве пробиотических препаратов в лечебной практике людей и животных

при различных патологических состояниях, обусловленных дисбиозами [2, 3]. Вместе с тем, в литературе, как отечественной, так и зарубежной, относительно мало данных об их влиянии на мембранное пищеварение и микробиом кишечника у поросят при гастроэнтерите.

Цель настоящего исследования состояла в изучении влияния пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 на микробиоту и активность ряда кишечных пищеварительных ферментов, участвующих в мембранном пищеварении, у поросят с симптомами гастроэнтерита в период отъема.

Материалы и методы исследования

Исследования проводили на кафедре внутренних болезней животных им. А. В. Синева ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Все исследования осуществлялись 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 позво-

ночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях, и Мерами по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных.

Изучение активности пищеварительных ферментов проводили в лаборатории физиологии питания ФГБУН «Институт физиологии имени И. П. Павлова» Российской академии наук. Полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени (ПЦР-РВ) проводили в лаборатории биомедицинской микроэкологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». Исследования на животных выполняли в условиях свиноводческого хозяйства Новгородской области. В экспериментах использовали 40 поросят в возрасте 27 дней в период отъема, с клинически выраженными симптомами гастроэнтерита. Перед началом исследований были сформированы четыре группы животных по принципу аналогов ($n=10$):

- контроль 0 – клинически здоровые животные (вместо пробиотиков животным перорально вводили воду по 1,0 мл в течение 14 дней);
- контроль 1 – поросята, больные гастроэнтеритом (вместо пробиотиков животным перорально вводили воду по 1,0 мл в течение 14 дней);
- опытная 1 – поросята, больные гастроэнтеритом (для лечения использовали пробиотический штамм *Enterococcus faecium* L-3 в дозе $1 \cdot 10^9$ КОЕ/мл на животное);
- опытная 2 – поросята, больные гастроэнтеритом (для лечения использовали пробиотический штамм *Enterococcus faecium* 1-35 в дозе $1 \cdot 10^9$ КОЕ/мл на животное).

Перед началом экспериментов, а также через 7 и 14 дней после лечения, отбирались пробы фекалий для исследования микробиоты и определения пищеварительных ферментов кишечника (мальтазы (НФ 3.2.1.20), щелочной фосфатазы (НФ 3.1.3.1) и аминопептидазы-N (НФ 3.4.11.2)) с использованием биохимических методов. Для каждого фермента рассчитывали значения удельной активности (мкмоль/мин на г влажного веса фекалий). Состояние микробиоты кишечника оценивали с использованием классического бактериологического метода на плотных питательных средах (энтерококкагар, MRS Agar, хроматинный агар). Для идентификации биологического материала проводили исследования методом ПЦР-РВ, используя для этих целей тест-систему «Колонофлор» (ООО «Альфа-лаб», Россия). Статистическая обработка проводилась с использованием t-критерия Стьюдента.

Достоверными считались изменения при уровне значимости $P \leq 0,05$.

Результаты исследований

Проведенные экспериментальные исследования доказали, что применение штаммов *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1) и *Enterococcus faecium* 1-35 (опыт 2) имеет высокую терапевтическую эффективность при лечении гастроэнтерита молодняка. Уже на третий день у больных гастроэнтеритом поросят исчезали его признаки (диарея) и отмечалось улучшение аппетита. При этом восстанавливались до референсных значений такие показатели, как частота дыхания, пульс, общая температура тела. Изменялся и характер фекалий. Последние приобретали из жидкой, водянистой консистенции кашицеобразную, постепенно сгущаясь и оформляясь. В то же время, у поросят контрольной группы (контроль 1), лишь на пятый день отмечалось улучшение работы желудочно-кишечного тракта.

Анализ результатов полимеразной цепной реакции (ПЦР-РВ) фекалий поросят на седьмой день эксперимента (рисунок 1) показал, что применение *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 увеличением числа бифидобактерий в среднем на 8,20 % ($P \leq 0,05$) и *Faecalibacterium prausnitzii* на 10,10 % ($P \leq 0,0027$) по сравнению с животными контрольной группы 1 (рисунок 1). В то же время наблюдалось снижение количества эшерихий в среднем на 24,70 % ($P \leq 0,0027$), бактероидов на 18,20 % ($P \leq 0,0027$) и лактобацилл на 12,20 % ($P \leq 0,0027$).

У животных, которым не применяли пробиотические энтерококки для лечения (контроль 1), в составе микробиоты кишечника наблюдалось также снижение количества *Faecalibacterium prausnitzii* на 6,70 % ($P \leq 0,0027$) по сравнению со здоровыми животными (контроль 0). Методом ПЦР-РВ исследований в кишечной микробиоте удалось выявить у 66,60 % поросят (контроль 1) наличие *Escherichia coli enteropathogenic*, 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 у 16,70 % и 14,30 % соответственно. В группе поросят, которым применяли *Enterococcus faecium* L-3 (опыт 1), данные бактерии обнаружены не были.

Бактериологические исследования фекалий в экспериментальных группах поросят на 14 день опыта показали, что у животных контрольной группы (контроль 1) было повышено количество

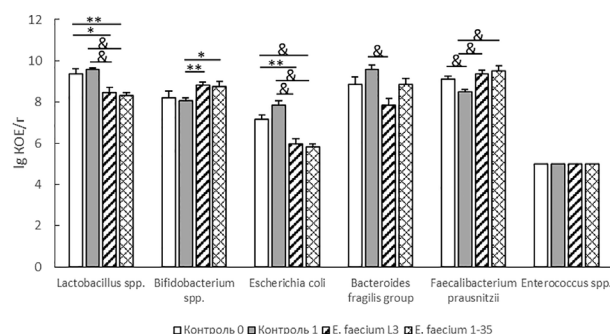


Рис. 1. Результаты полимеразной цепной реакции (ПЦР-РВ) фекалий поросят на седьмой день эксперимента (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; & $P \leq 0,0027$)

кишечной палочки на 7,00 % ($P \leq 0,05$) по сравнению с опытом 1 и на 8,00 % ($P \leq 0,05$) в сравнении с опытом 2. Однако, в группе здоровых животных (контроль 0) количество эшерихий также было выше, чем в опытных группах в среднем на 9,00 % ($P \leq 0,02$).

При этом в группе контроль 1 количество лактобацилл в фекалиях снижалось по сравнению со всеми группами животных.

Содержание энтерококков в микробиоте кишечника поросят было практически на одном уровне у всех экспериментальных животных, однако только в группе опыт 1 количество бактерий было выше на 11,00 % ($P \leq 0,05$) по сравнению с группой опыт 2.

Таким образом, применение пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 больным животным приводило к восстановлению в короткие сроки кишечной микробиоты, а именно стимулировало рост числа облигатных и факультативных форм и снижало количество условно-патогенных представителей микрофлоры.

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.

Наиболее значимые отличия в активности пищеварительных ферментов наблюдались через семь дней от начала лечения животных. Как видно из диаграммы, отображенной на рисунке 2, в группе животных, которым не применяли пробиотические энтерококки (контроль 1), была снижена по сравнению с контрольной группой (контроль 0) активность мальтазы на 29,00 % ($P \leq 0,01$) и аминопептидазы-N на 49,00 % ($P \leq 0,0027$). В то же время, применение пробиотических энтерококков для лечения

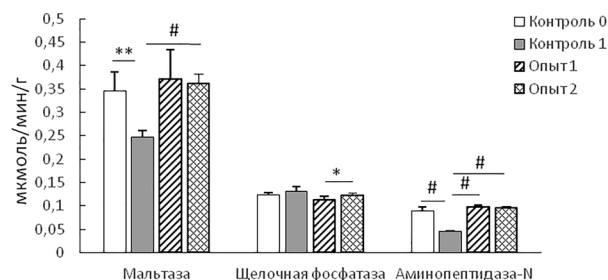


Рис. 2. Удельная активность ферментов через семь дней эксперимента (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; # $P \leq 0,0027$)

гастроэнтерита у поросят (опыт 1 и опыт 2) способствовало повышению по сравнению с контролем 1 активности мальтазы в среднем на 32,00 % ($P \leq 0,0027$) и аминопептидазы-N на 54,00 % ($P \leq 0,0027$). Также в группе контроль 1 наблюдалась тенденция к повышению щелочной фосфатазы.

Можно предположить, что повышение активности мальтазы в опытных группах связано с существенным гидролизом углеводов в кишечнике поросят. Это предположение косвенно подтверждается данными бактериологического исследования.

Таким образом, применение пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 уже через семь дней от начала лечения приводило к восстановлению активности пищеварительных ферментов до уровня здоровых животных, в то время как в контрольной группе животных (контроль 1) активность ферментов нарастала только через четырнадцать дней.

Заключение

Анализируя полученные данные, можно сделать вывод, что применение современных пробиотических штаммов *Enterococcus faecium* L-3 и *Enterococcus faecium* 1-35 оказывает высокую терапевтическую эффективность при гастроэнтеритах у поросят отъемного периода. Использование пробиотических энтерококков способствует восстановлению ферментативной активности и микробиоты кишечника у животных, что приводит к их быстрому выздоровлению.

Список литературы

1. Внутренние болезни животных. Для ссузов : учебник / Г. Г. Щербаков, А. В. Яшин, С. П. Ковалев, С. В. Винникова. 3-е издание, стереотипное. СПб.: «Лань», 2018. 496 с. (Учебники для вузов. Специальная литература.). ISBN 978-5-8114-1239-6.

2. Громова Л. В. Влияние пробиотических штаммов эшерихий и энтерококков на активность кишечных пище-

варительных 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. 2018. Т. 2 (Практическая гастроэнтерология), № 20 (357). 30 с.

3. 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.

4. Клиническая диагностика внутренних болезней животных : учебник для ВО / С. П. Ковалев, А. П. Курдеко, Е. Л. Братушкина [и др.] ; 4-е издание, стереотипное. СПб.: «Лань», 2020. 540 с.

5. Лаптев Г. Ю. Профорт в кормлении свиней / Г. Ю. Лаптев, Н. И. Новикова, В. В. Солдатов, В. Н. Большаков, Д. Г. Селиванов // Сельскохозяйственные вести. 2019. № 4. С. 48–49.

6. Сепп А. Л. Влияние пробиотических энтерококков на активность пищеварительных ферментов и состояние микробиоты кишечника у поросят в период отъема / А. Л. Сепп, А. В. Яшин, М. П. Котылева, Е. И. Ермоленко, Ю. К. Коваленок, С. А. Добровольский, Л. В. Громова // Международный вестник ветеринарии. № 3, 2019. С. 99–103.

7. Сепп А. Л. Применение пробиотического штамма *Enterococcus faecium* L3 при гастроэнтерите у поросят / А. Л. Сепп, А. В. Яшин, В. Д. Раднатаров // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии имени В. Р. Филиппова. № 3 (60). 2020. С. 74–80.

8. 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.

9. 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.

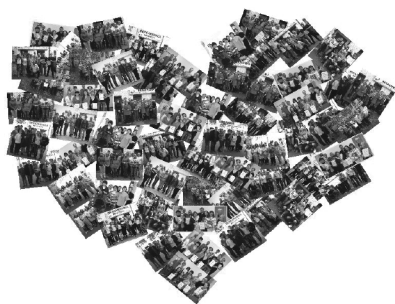
10. Яшин А. В. Особенности состояния микроциркуляторного русла и мембранного пищеварения у новорожденных телят при диспепсии / А. В. Яшин, А. В. Прусаков // Международный вестник ветеринарии. 2021. № 2. С. 155–160.

11. Influence of Modern Probiotics on Morphological Indicators of Pigs' Blood in Toxic Dyspepsia / V. Ponamarev, A. Yashin, A. Prusakov, O. Popova // Agriculture Digitalization and Organic Production: Proceedings of the Second International Conference, St. Petersburg, 06–08 июня 2022 года. Springer: Springer, 2022. P. 133–142.



ЧОУДПО «ИНСТИТУТ ВЕТЕРИНАРНОЙ БИОЛОГИИ»
г. Санкт-Петербург

Курсы повышения квалификации



- Ветеринарная эхокардиография (теория и практика)
- Лабораторная диагностика в ветеринарии
- Ветеринарная офтальмология
- Ветеринарная рентгенология, в т.ч. персонал группы А и ответственный за рентгенобезопасность
- Ультразвуковая диагностика в ветеринарии
- Ветеринарная фармация
(для лицензирования ветеринарных аптек)

Предварительная регистрация обязательна! Справки по тел. (812) 612-13-34 или (812) 232-55-92 доб. 208

График проведения и информация на сайте: www.invetbio.spb.ru/seminars.html

Лицензия Комитета по образованию Санкт-Петербурга на осуществление образовательной деятельности по образовательным программам дополнительного профессионального образования № 1093 от 04.08.2014 г.