УДК 579.864.1:579.62:636.2.053

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ЭНТЕРОКОККОВ НА АКТИВНОСТЬ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ И СОСТОЯНИЕ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА У ПОРОСЯТ В ПЕРИОД ОТЪЕМА

Сепп А. Л.-асп.кафедры внутренних болезней животных1, Яшин А. В.- докт. вет. наук, профессор, зав. кафедры внутренних незаразных болезней животных им. Синева А. В.1, Котылева М. П.- н. с. лаборатории биомедицинской микроэкологии3, Ермоленко Е. И.- д. м. н., профессор, зав. лабораторией биомедицинской микроэкологии3, Коваленок Ю. К., докт. вет. наук, профессор, зав. кафедрой клинической диагностики4, Добровольский С. А. - аспирант кафедры клинической диагностики4, Громова Л. В.- д. б. н., зав. лабораторией физиологии питания2

1ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская академия ветеринарной медицины», 2ФГБУН «Институт физиологии имени И. П. Павлова» Российской академии наук, 3ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», г. Санкт-Петербург, 4УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», Республика Беларусь

Ключевые слова: микробиом, поросята после отъёма, желудочно-кишечный тракт, пищеварительные ферменты, пробиотики, E. coli, щелочная фосфатаза. ***Keywords:*** microbiome, post-weaning piglets, gastrointestinal tract, digestive enzymes, probiotics, E. coli, alkaline phosphatase.

РЕФЕРАТ

Целью данного исследования было изучение влияния пробиотического штамма Enterococcus faecim L3 на состав кишечной микробиоты, биохимические показатели крови и активность кишечных пищеварительных ферментов.

Установлено, что введение Enterococcus faecim L3 поросятам в период отъема способствует снижению уровней щелочной фосфатазы, холестерина и увеличению уровня глюкозы в крови. При этом в кишечной микробиоте наблюдалась тенденция к снижению содержания Escherichia coli. Отмечено повышение активности ряда кишечных пищеварительных ферментов (α-амилаза, мальтаза, аминопептидаза N) и снижение активности щелочной фосфатазы.

Таким образом, применение пробиотического препарата на основе штамма Enterococcus faecim L3 поросятам в период отъема улучшает состав кишечной микробиоты, ряд биохимических показателей крови и активность ключевых кишечных пищеварительных ферментов, что ускоряет адаптацию организма животных к новому типу питания.

ВВЕДЕНИЕ

В период отъема пищеварительная система поросят еще не адаптирована к новому типу питания, что создает благоприятную среду для развития в кишечнике различных, в том числе патогенных, микроорганизмов. В последнее время для профилактики и лечения дисбиозов желудочно-кишечного тракта у человека и животных успешно применяются пробиотические препараты, содержащие различные штаммы живых бактерий [3; 4]. Вместе с тем, относительно мало известно о влиянии этих бактерий на микробиоту и пищеварительную функцию кишечника у поро-

сят в период отъема. Цель настоящего исследования состояла в изучении влияния пробиотического препарата, содержащего штамм Enterococcus faecim L3 на активность ряда кишечных пищеварительных ферментов и состояние микробиоты у поросят в период отъема.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили в свиноводческом хозяйстве Новгородской области на 20 поросятах в возрасте 27 дней в период отъема. До начала опыта были сформированы 2 группы животных (контрольная и опытная, n=10 в каждой). В опытной группе поросятам в течение 14 дней перорально вводили пробиотический штамм Enterococcus faecium L3 в дозе 5*109КОЕ, растворенной в 1 мл воды, на животное. В контрольной группе этот препарат не вводился. Через 7 и 14 дней у животных обеих групп отбирали пробы фекалий для анализа состояния микробиоты и определения активности кишечных пищеварительных ферментов. Состав кишечной микробиоты исследовали при помощи бактериологического метода и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) [5]. Активность пищеварительных ферментов: щелочной фосфатазы (НФ 3.1.3.1), аминопептидазы N (НФ 3.4.11.2), α-амилазы (НФ 3.2.1.1) и мальтазы (НФ 3.2.1.20) определяли в гомогенатах проб с применением биохимических методов [1; 2]. Для каждого фермента рассчитывали значения удельной активности (мкмоль/мин на г влажного веса фекалий). По окончании исследования у поросят обеих групп отбирали пробы крови для общего клинического и биохимического анализа.

Статистическая обработка проводилась с использованием t-критерия Стьюдента. Достоверными считались изменения при уровне значимости P<0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В конце эксперимента поросята, получавшие в течение 14 дней пробиотические бактерии Enterococcus faecium L3, имели более высокий (на 5%) прирост массы тела по сравнению с контролем (P<0,01).

При анализе результатов общего клинического и биохимического исследования сыворотки крови у животных опытной группы (по сравнению с контрольной) через 14 дней применения пробиотических энтерококков обнаружено снижение активности щелочной фосфатазы (263,42±4,0 МЕ/л - в контроле и 175,4±15,45 МЕ/л - в опыте, P<0,0027) и уровня холестерина (3,08±0,23 ммоль/л – в контроле и 2,08±0,05 ммоль/л – опыте, P<0,01) а также повышение уровня глюкозы (3,76±0,23 ммоль/л – в контроле и 5,55±0,22 ммоль/л – в опыте P<0,0027), что свидетельствует об улучшении общего метаболизма в организме.

При исследовании микробиоты методом ПЦР-РВ у животных опытной группы, получавших пробиотические энтерококки в течение 7 дней, не обнаружено существенных изменений (по сравнению с контрольной группой) в содержании таких бактерий как Lactobacillus spp., Bacteroides fragilis group и Fecalibacterium prausnitzii (Диаграмма 1).

В конце экспериментального периода (через 14 дней) при бактериологическом анализе микробиоты у животных опытной группы (по сравнению с контрольной) отмечены тенденции к увеличению содержания Lactobacillus spp. и Enterococcus spp., и тенденция к снижению содержания Escherichia coli (Диаграмма 2).

Наиболее значимые изменения активности пищеварительных ферментов наблюдались на седьмой день применения пробиотического препарата (Диаграмма 3). Активности α-амилазы, мальтазы и аминопептидазы N после применения препарата в течение 7 дней повышались на 24,4% (P<0,01), 36,1% и 52,6% (P<0,0027), соответственно, по сравнению с контролем. При этом активность щелочной фосфатазы, снизилась по сравнению с контролем на 18,7% (P<0,01). Учитывая, что щелочная фосфатаза помимо участия в пищеварении, выполняет также важную защитную функцию (детоксикация бактериального токсина - липополисахарида) [6], снижение ее активности после применения пробио-

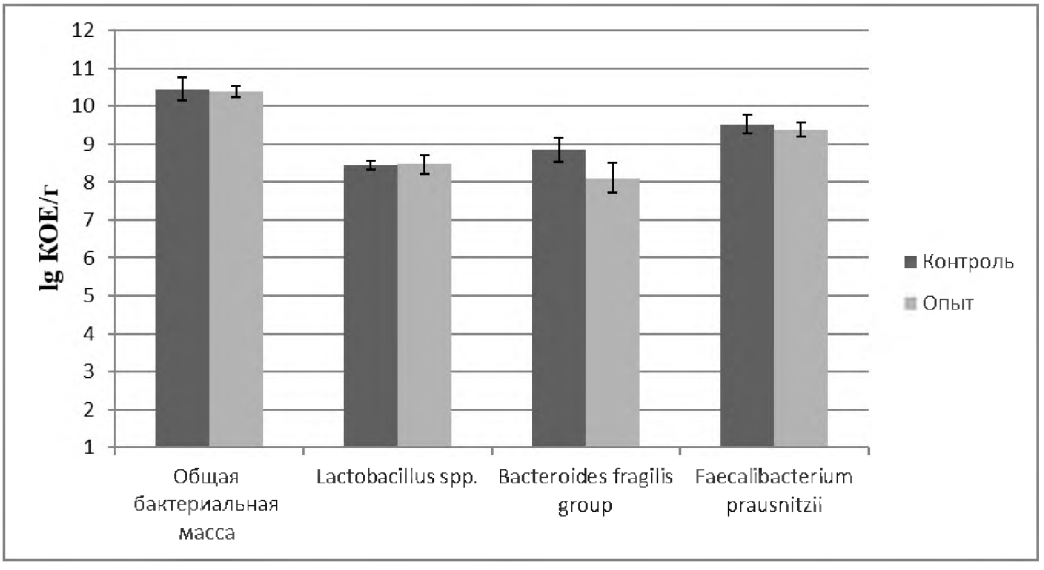

Диаграмма 1. Содержание некоторых представителей резидентной микрофлоры в фекалиях через 7 дней применения E. Faecium L3 (опыт) и в контроле (в отсутствие пробиотика)

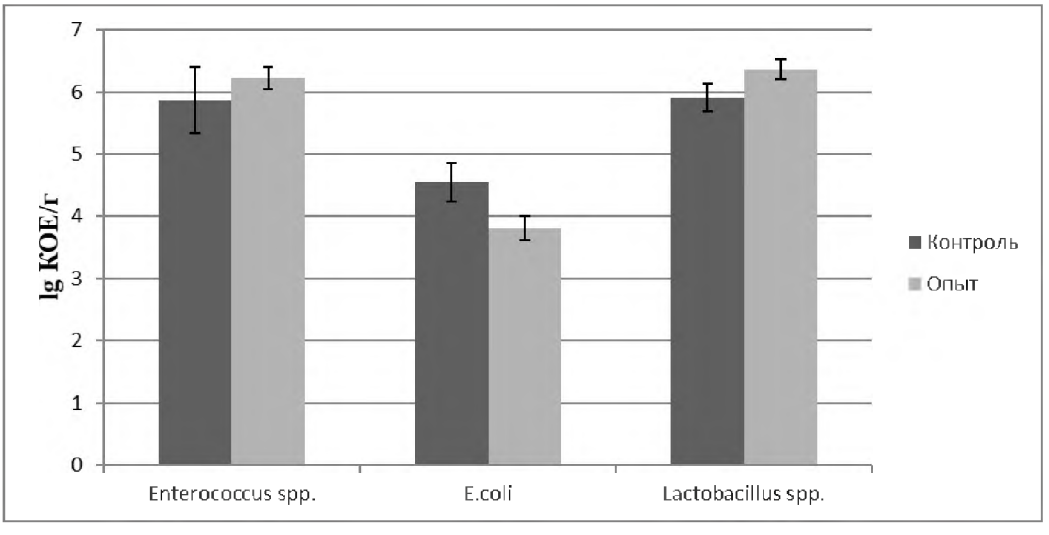

Диаграмма 2. Содержание некоторых представителей резидентной микрофлоры в фекалиях через 14 дней применения E. Faecium L3 (опыт) и в контроле (в отсутствие пробиотика)

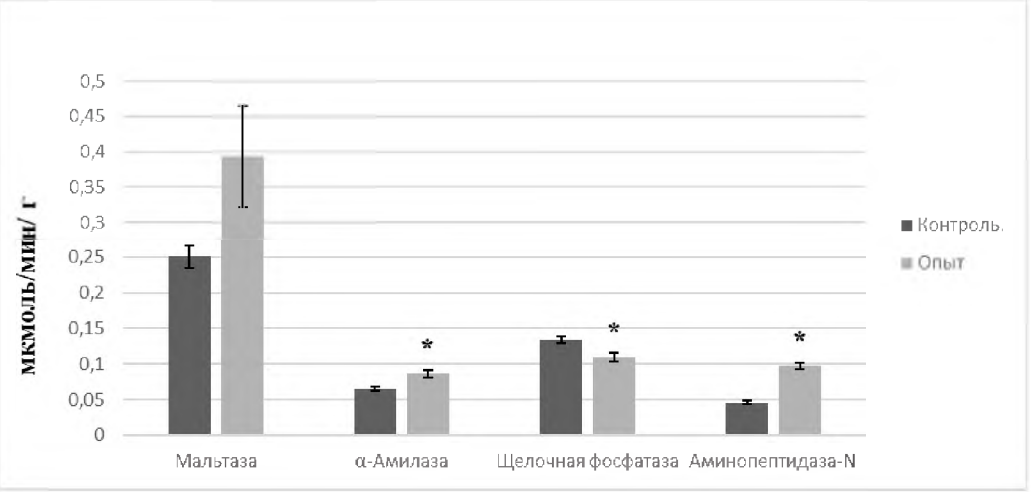

Диаграмма 3. Активность ферментов через 7 дней применения E. Faecium L3 (опыт) и в контроле (в отсутствие пробиотика). *-P<0,01 по отношению к контролю (без пробиотика).

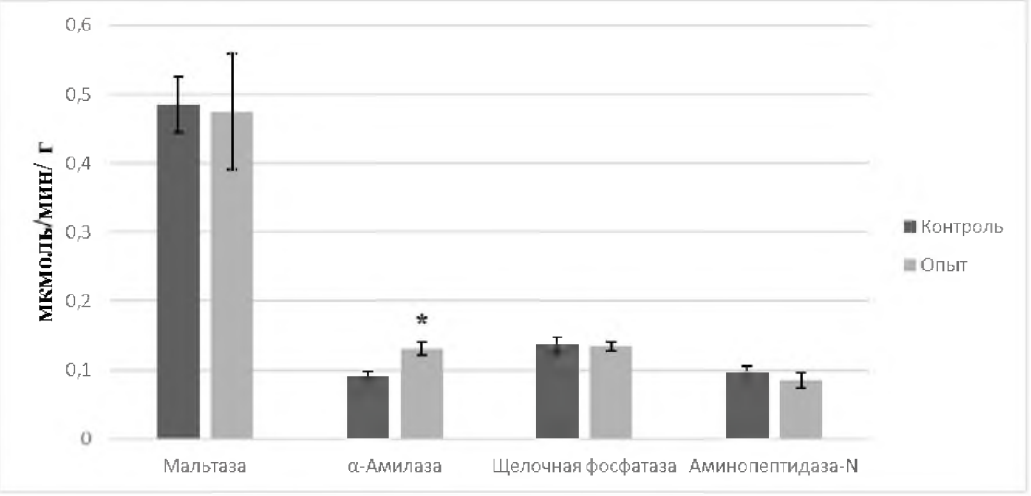

Диаграмма 4. Активность ферментов через 14 дней применения E. Faecium L3 (опыт) и в контроле (в отсутствие пробиотика). *-P<0,01 по отношению к контролю (без пробиотика).

тика на основе E. faecium L3 может быть следствием уменьшения в этих условиях содержания условно патогенных бактерий в кишечнике. Через 14 дней применения пробиотического препарата была повышенной на 29,8% (P<0,01) лишь активность α-амилазы (Диаграмма 4).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Введение пробиотического препарата на основе штамма Enterococcus faecim L3 поросятам в период отъема улучшает состав кишечной микробиоты и ряда биохимических показателей крови, а также повышает активность ключевых кишечных пищеварительных ферментов (α-амилазы,

мальтазы и аминопептидазы N), что ускоряет адаптацию желудочно-кишечного тракта к новому типу питания.

INFLUENCE OF THE PROBIOTIC ENTEROCOCCUS ON THE ACTIVITY OF DIGESTIVE ENZYMES AND THE STATE OF THE INTESTINAL MICROBIOME IN POST-WEANING PIGLETS

Sepp A. L. – graduate student., St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, Yashin A. V. – Dr. vet. sciences, professor, Head department of Internal Non-communicable Diseases FGBOU VO "SPbGAVM" Kotyleva M. P. - graduate student., Institute of Experimental Medicine, Ermolenko E. I. – Dr. med. sciences, professor, Institute of Experimental Medicine, Kavalionak Y. K. – Professor, Head of Diagnostics Department, Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Dobrovolskiy S. A. - graduate student, Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Gromova L. V. – Dr. biol. Sciences, Head of Laboratory of Nutrition Physiology I. P. Pavlov Institute of Physiology

ABSTRACT

The aim of this study was to study the effect of the probiotic strain Enterococcus faecim L3 on the composition of the intestinal microbiota, blood biochemical parameters, and the activity of intestinal digestive enzymes.

It was found that the administration of Enterococcus faecim L3 to piglets during weaning helps to reduce levels of alkaline phosphatase, cholesterol and increase blood glucose level. At the same time, there was a tendency towards a decrease in the content of E. coli in the intestinal microbiota. An increase in the activity of a number of intestinal digestive enzymes (α-amylase, maltase, aminopeptidase N) and a decrease in the activity of alkaline phosphatase were noted.

Thus, the use of a probiotic preparation based on the Enterococcus faecim L3 strain for piglets during weaning improves the composition of the intestinal microbiota, a number of biochemical blood parameters and the activity of key intestinal digestive enzymes, which accelerates the adaptation of the animal organism to a new type of nutrition.

ЛИТЕРАТУРА

1. 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. —2018. — Т. 2 (Практическая гастроэнтерология), № 20 (357). — 30 с.
2. 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.
3. Ковалёнок Ю. К. Активность мальтазы при кишечном дисбиозе животных / Ю. К. Коваленок, А. В. Напреенко // Учёные записки Витебской ордена «Знак Почета» гос. Акад. Ветеринар. Медицины. – 2017. – Т. 53. – В. 2. – С. 56-59.
4. 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. 19-25.
5. Ermolenko E., Gromova L., Borshchov Yu., Voeikova A., Karaseva A., Ermolenko K., Gruzdkov A., Suvorov A. Influence of different probiotic lactic acid bacteria on microbiota and metabolism of rats with disbiosis. // Bioscience of Microbiota, Food and Health. — 2013. — Vol. — 32, № 2. — P. 41–49.
6. Lallès J. P. Intestinal alkaline phosphatase: novel functions and protective effects // Nutr. Rev. — 2014. — Vol. 72, № 2. — P. 82–94.