

*На правах рукописи*

**Севрюков Антон Васильевич**

**ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО СОСТАВА КРОВИ,  
ПОКАЗАТЕЛЕЙ МЕТАБОЛИЗМА И ПУТИ ИХ КОРРЕКЦИИ ПРИ  
СТРЕССЕ У СЛУЖЕБНЫХ СОБАК**

06.02.01 - диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология  
и морфология животных

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Ростов-на-Дону – 2016

Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Ростов-на-Дону)

Научный руководитель

доктор биологических наук, доцент  
**Колмакова Татьяна Сергеевна**

Официальные оппоненты

**Михайленко Антонина Кузьминична,**  
доктор биологических наук, профессор кафедры биологии ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России

**Дерезина Татьяна Николаевна,**  
доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБОУ ВО «Донской государственный аграрный университет», заведующая кафедрой терапии и пропедевтики

Ведущая организация

ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет»

Защита диссертации состоится «07» июля 2016 г. в 13.30 час. на заседании диссертационного совета Д 220.062.02 в ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» по адресу: 355017, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический 12, ауд. 3

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на официальном сайте ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» <http://www.stgau.ru>.

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2016 г. и размещен на сайтах: ВАК Минобразования и науки РФ:

<http://vak3.ed.gov.ru> «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2016 г.; ФГБОУ ВПО «Ставропольский ГАУ»: <http://www.stgau.ru> «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2016 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

**Дьяченко Юлия Васильевна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Здоровье животных – главный индикатор взаимодействия их организма с окружающей средой. Особую значимость этот показатель имеет, когда от здоровья зависит работоспособность и продуктивность. Почти каждому владельцу собаки приходится сталкиваться с проблемой транспортировки своего питомца: на выставку, состязания, дачу, охоту или необходимостью оставить свою собаку на время в специализированных гостиницах или приютах для животных. Такие ситуации, как правило, сопровождаются сменой рациона питания и неизбежным воздействием неблагоприятных факторов, из-за смены окружающей обстановки (И.А. Терещенко, 2004; Б.А. Шендеров, 2008).

На фоне всех неблагоприятных воздействий на животных одним из главных факторов, воздействующих на организм, является пищевой стресс, провоцирующий различные функциональные нарушения в организме и болезни.

В настоящее время, проблема этиологии и патогенеза пищевого стресса является одним из актуальных вопросов, как в ветеринарии, так и в медицине. Механизмы его действия лежат в основе развития дезадаптозов и дисбиозов. Проблеме пищевого стресса уделяется достаточное внимание, однако патогенез нарушений обмена веществ, обусловленных пищевыми факторами, до конца не изучен, что затрудняет разработку оптимальных методов профилактики и лечения этих патологий (М.М. Романова, 2011; К.Ж. Acheson, Y. Schutz, T. Bessard et al., 1988).

Одним из эффективных методов профилактики нарушения здоровья, является нутрицевтическое воздействие на организм животных при стрессорных нагрузках (в том числе и при пищевом стрессе) посредством приема пробиотиков. Пробиотики оказывают влияние не только на микрофлору желудочно-кишечного тракта животных, но и оказывают выраженное положительное действие на жизненно важные метаболические процессы, увеличивая тем самым эффективность использования ресурсов организма (Н.В. Данилевская, 2008; А.Н. Парфенов, Т.А. Яшин, С.Н. Португалов, 2009).

С помощью нутрицевтиков можно повлиять на состав микрофлоры кишечника, которой в последнее время придается большое значение в генезе многих заболеваний (D.D. Mijaci, G.C. Jankovica 2010).

**Степень разработанности.** В настоящее время в ветеринарии большое внимание уделяется проблеме питания животных, так как структура питания является фактором воздействия на механизмы нейрогуморальной регуляции обменных процессов в организме животных, начиная с клеточного уровня (В. Kohler, С. Stengel, R. Neiger, 2012). Процесс адаптации к любым стресс-факторам требует достаточно длительного времени и может привести к болезни животных, поскольку стресс (будь то пищевой или психологический) угнетает иммунитет собак, снижая способность организма сопротивляться болезням, в том числе инфекционным (А.В. Санин, 2006). Несмотря на многочисленные исследования по кормлению собак, этот вопрос остается все ещё до конца

не изученным, так как не существует универсального рациона кормления, который бы подходил всем собакам: каждому конкретному животному или группе необходим индивидуальный подход.

Особенно тщательный подход к решению этой проблемы необходим для собак несущих службу в кинологических подразделениях МВД России и других силовых структурах, по сравнению с представителями данного вида, ведущих обычный образ жизни. Питание служебных собак требует особого внимания. Собаки, ежедневно выполняющие физическую и интеллектуальную работу, нуждаются в правильно подобранном рационе, который обеспечит высокую работоспособность, стресс-устойчивость и резистентность.

В отечественной литературе вопрос о способах коррекции метаболически обусловленных нарушений у домашних животных освещен недостаточно широко. Большинство работ по изучению способов коррекции метаболических нарушений при стрессе у животных носят фрагментарный характер и не в полной мере затрагивают проблемы повышения адаптивных возможностей организма (Н.В. Данилевская, Е.В. Иовдальская, 2013; А.В. Санин, 2006; С.В. Нотова и соавт., 2012), что указывает на актуальность исследований в этой области.

**Цель исследования:** изучить характер метаболических изменений и возможность их коррекции нутрицевтическим путем у служебных собак при смене рациона питания и условий содержания. Сравнить возможности применения пробиотического продукта на основе штамма *Bacillus subtilis* и высокоэнергетической кормовой добавки «Energy» производства «Royal Canin» при стрессе.

**Задачи исследования:**

1. Изучить адаптационный потенциал собак по изменению количественного состава форменных элементов крови в период адаптации к действию стрессогенных факторов.
2. Изучить глюкокортикоидную и тиреоидную регуляцию метаболизма собак при адаптации к условиям кормления и содержания в школе служебного собаководства.
3. Изучить активность и изменения видового состава микрофлоры кишечника собак во время адаптации к смене рациона питания и условий содержания.
4. Провести сравнительное изучение влияния пробиотического продукта на основе штамма *Bacillus subtilis* В-1895 и кормовой добавки «Energy» производства «Royal Canin» на адаптацию служебных собак к стрессу.

**Научная новизна результатов:**

1. Впервые осуществлена оценка адаптационного потенциала у собак путем определения состава лейкоцитарной формулы крови, как сигнального критерия интегральной реакции организма на стресс в соответствии с методикой, разработанной Л.Х. Гаркави, Е.В. Квакиной, М.А. Уколовой (1990).

2. Показано, что добавление к рациону пробиотического продукта и кормовой добавки «Energy» повышает неспецифическую резистентность, способствует восстановлению метаболических процессов при стрессе.

3. Показаны функциональные взаимодействия глюкокортикоидной и тиреоидной регуляции при изменении рациона и условий содержания собак в период адаптации: уровень глюкокортикоидной активности определяет устойчивость организма собак к действию стресса, а уровень активности тиреоидной регуляции определяет характер течения адаптации собак к новому рациону и условиям содержания.

4. Впервые установлено, что переход из стресса в реакцию активации сопровождается положительным влиянием на микрофлору кишечника, которое оказывает пробиотический продукт на основе *Bacillus subtilis*, а использование кормовой добавки «Energy» производства «Royal Canin» снижает риск срыва адаптации у собак с высоким уровнем содержания кортизола.

#### **Теоретическая и практическая значимость работы.**

Научно-практическая значимость работы состоит в углублении современных представлений о закономерностях развития стресс реакции у собак.

Исследования, проводимые в данном направлении, представляют интерес с позиции изучения развития неспецифических реакций организма собак, при адаптации к стрессогенным факторам.

Результаты исследования показали особенности направленной гормональной регуляции интенсивности стресса у служебных собак с разным уровнем адаптационного потенциала при переходе к новому рациону и условиям содержания. Исследования в данном направлении в будущем могут быть полезными для совершенствования эффективности основных терапевтических мероприятий, направленных на повышение резистентности организма служебных собак. Установлена возможность использования разных форм нутрицевтического воздействия (энергетические кормовые добавки и пробиотические продукты) на организм служебных собак при стрессе. Полученный в работе фактический материал может быть полезен для понимания механизмов патогенеза и профилактики многих заболеваний обмена веществ, как в ветеринарии, так и в медицине.

**Методология и методы исследования.** Методология диссертационной работы спланирована в соответствии со структурой и задачами исследования. Предметом исследования явилось моделирование процесса адаптации служебных собак в период стрессорных нагрузок, вызванных сменой условий содержания, рациона кормления. Объектом исследования послужили служебные собаки в период адаптации, которым в корм вводились нутрицевтики, такие как, кормовая добавка «Energy» и пробиотический продукт на основе штамма *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895, любезно предоставленный лабораторией центра биомедицинских исследований ЮФУ г. Ростова-на-Дону.

В ходе работы было изучено влияние изменения рациона питания и условий содержания: на морфологический состава крови, белковый,

углеводный, липидный обмен собак, глюкокортикоидную и тиреоидную регуляцию метаболизма, активность и изменения видового состава микрофлоры кишечника, а также влияние пробиотического продукта на основе штамма *Bacillus subtilis* и кормовой добавки «Energy» производства «Royal Canin» на регуляцию метаболизма и активность микрофлоры кишечника при стрессе у собак.

Научная литература, посвященная исследованиям в области процессов адаптации при стрессе, проанализирована формально-логическими методами. В работе использовались клинические, гематологические, биохимические, микробиологические методы исследования.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. При изменении условий содержания и рациона кормления у собак стрессорная реакция сопровождается повышением общего числа нейтрофилов, а именно, увеличивается уровень сегментоядерных нейтрофилов на фоне снижения количества лимфоцитов. Изменение содержания лейкоцитов отражает характер адаптации собак.

2. Функциональное взаимодействие глюкокортикоидного и тиреоидного звеньев определяют характер адаптации служебных собак при изменении условий содержания и рациона. Высокая секреция кортизола является фактором риска срыва адаптационного процесса.

3. Применение пробиотического продукта на основе штамма *Bacillus subtilis* способствует снижению напряжения адаптационных процессов при стрессе за счет нормализации микробиоты кишечника и преобладанию анаболических процессов над катаболическими.

4. Кормовая добавка «Energy» производства «Royal Canin» снижает риск дезадаптоза у собак с низким адаптационным потенциалом при истощении надпочечниковой регуляции за счет дополнительного поступления высокоэнергетических субстратов.

**Степень достоверности.** О достоверности полученных результатов работы свидетельствует значительный объем исследований, проведенных на достаточном количестве животных с использованием апробированных методик и применением специального оборудования в сертифицированных лабораториях.

Объективность научных положений и выводов подтверждается применением биометрической обработки экспериментальных данных.

Результаты исследования опубликованы в рецензируемых источниках и апробированы на специализированных научных конференциях.

**Апробация работы.** Диссертация апробирована на совместном заседании кафедры медицинской биологии и генетики, и координационного совета ГБОУ ВПО «Ростовского государственного медицинского университета» Минздрава России (протокол № 3 от 29.06.2015 г.)

Основные результаты исследования доложены на: II Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии,

нанотехнологий и медицины», (Ростов-на-Дону, 8-10 октября 2008 г.); III Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины», (Ростов-на-Дону, 1-4 октября 2009 г.); III Международной научно-практической конференции по физиологии и медицине «Высокие технологии, исследования, образование в физиологии, медицине и фармакологии», (г. Санкт-Петербург, 26-28 апреля 2012 г.); III Научно-практической конференции «Проблемные вопросы служебной кинологии на современном этапе», ФГКОУ ДПО РШ СРС МВД России. (Ростов-на-Дону, 29 мая 2014 г.); Межвузовской научно-практической конференции «Лабораторные животные в медицинских и нутрицевтических исследованиях», (Ростов-на-Дону, 27 февраля 2015 г., РостГМУ); XIV межвузовской биохимической научно-практической конференции с международным участием «Обмен веществ при адаптации и повреждении», (Ростов-на-Дону, 15-16 мая 2015 г.).

**Личный вклад соискателя.** В 2009-2010 гг. был участником проекта научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ У.М.Н.И.К.: «Разработка методики получения пробиотических препаратов на основе пробиотических бактерий *Bacillus subtilis*».

С 2011 по 2015 гг. автор лично принимал участие в сборе материала, лабораторном исследовании, статистическом анализе, в обработке материала и написании глав диссертации. Доля участия соискателя при выполнении работы составляет 100%.

**Публикация результатов исследований.** По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ, в которых изложены основные положения выполненной работы, в том числе 3 работы в периодических изданиях, входящих в перечень ведущих рецензируемых научных изданий, утвержденных ВАК Министерства образования и науки России и рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени («Валеология», «Актуальные вопросы ветеринарной биологии», «Ветеринария Кубани»).

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 160 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования, заключения, выводов, практических предложений, списка литературы включающего 136 источников, из них 64 – отечественных и 72 зарубежных, списка работ опубликованных по теме диссертации, Приложения изложены на 5 страницах. Диссертационная работа иллюстрирована 32 рисунками и содержит 15 таблиц.

# ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

## 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзоре литературы рассматриваются различные формы метаболических нарушений, вызванных стресс-факторами в организме мелких домашних животных, современные способы фармакокоррекции и профилактики метаболических нарушений, вызванных стресс-реакцией организма посредством приема нутриентов, механизмы развития антистрессорных реакций, а также имеющиеся на сегодняшний день не решенные задачи в данном направлении.

## 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Характеристика объекта исследования

Работа выполнена в период с 2011 по 2015 год на кафедре медицинской биологии и генетики ГБОУ ВПО РостГМУ Минздрава России, в ФГКОУ ДПО РШ СРС МВД России «Ростовская школа служебно-розыскного собаководства МВД России» (РШ СРС).

Экспериментальная работа была проведена на 86 служебных собаках породы немецкая овчарка обоего пола в возрасте 1,5-3 года, весом 25-30 кг. Все испытуемые собаки были здоровы.

Для проведения исследования были взяты нутрицевтические добавки:

1) пробиотический продукт на основе штамма *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895; из Всероссийской Коллекции Промышленных Микроорганизмов ФГУП ГосНИИ Генетика, регистрационный номер штамма в коллекции ВКПМ: В-1895. *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 относится к микроорганизмам, непатогенным для человека, согласно классификации микроорганизмов, приведенных в Санитарных правилах СП. 1.3.2322-09. Работа со штаммом *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 не требует специальных мер предосторожности. Пробиотический продукт разработан лабораторией биомедицинских исследований ЮФУ для применения в качестве пищевых добавок и прошел испытание в рыбоводстве (Патент № 2376755). Результаты исследований, выполненных в рамках проекта «Разработка технологии синбиотических препаратов на основе иммобилизованных на растительных субстратах биопленок бактерий рода *Bacillus*» (Государственный контракт от «11» февраля 2011 г. № 16.512.11.2017 г. в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технического комплекса России на 2007-2013 годы») подтвердили для полученных субстанций отсутствие острой токсичности, микробиологическую безопасность, а также соответствие гигиеническим требованиям к допустимому уровню содержания токсичных элементов и пестицидов.



Пробиотический продукт на основе штамма *B. subtilis* (ВКПМ) В-1895, на момент исследования содержал  $3 \times 10^{10}$  КОЕ/г.

2) пищевая добавка для собак «Energy» производства «Royal Canin» используется для дополнительного снабжения энергией собак с повышенной физической активностью. Добавка содержит комплекс витаминов группы В, жирорастворимые витамины, L-карнитин, короткоцепочечные жирные кислоты. Измеренная метаболическая энергия 5080 кКал/кг.

## **2.2. Формирование контрольной и опытных групп животных для исследования**

Все испытуемые собаки с первых суток пребывания в условиях РШ СРС получали сухой корм «Royal Canin» из расчета 600 г корма в сутки. Собаки были разделены на три группы: 1 – контрольная группа (n=28) получала только сухой корм «Royal Canin»; 2 – группа животных (n=29) получала дополнительно пробиотический продукт на основе штамма *Bacillus subtilis* из расчета 1 г на 100 г корма ежедневно 1 раз в сутки; 3 – группа животных (n=29) получала с кормом пищевую добавку «Energy» производства «Royal Canin» в количестве 1 упаковки (50 г) в сутки.

## **2.3. Получение биологического материала и методы лабораторных исследований**

Материалом для лабораторного исследования служила кровь собак, полученная на 2, 14 и 30 сутки пребывания в РШ СРС и образцы фекалий для микробиологического исследования, полученные на 2 и 14 сутки. В крови определяли содержание общего белка, альбумина, азота мочевины, активность ферментов креатининкиназы, аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ) на биохимическом анализаторе *Biochem Analette* с использованием тест-систем производства «HUMAN» (Germany).

Определение содержания гормонов в плазме крови проводили методом ИФА диагностики с использованием наборов: «Кортизол-ИФА», «ТТГ-С-ИФА» и «Т4 об-КС-ИФА» для определения гормонов в сыворотке (плазме) крови собак фирмы «Хема» (Germany) на иммуноферментном анализаторе *Alisei Q.S.* (SEAC, Italy).

Состав микрофлоры кишечника определяли у каждой собаки индивидуально стандартным методом высева серийных разведений образцов на плотные и жидкие селективные питательные среды. Микробиологические исследования проводились в соответствии с методическими рекомендациями «Выделение и идентификация бактерий желудочно-кишечного тракта животных» № 13-5-02/1043. Исследование микрофлоры кишечника собак в группах проводилось на 2 сутки после прибытия собак в школу и через 14 дней.

Оценка адаптационного потенциала по лейкоцитарной формуле проводилась в соответствии с методикой Л.Х. Гаркави и соавт. (1990, 1998, 2002). По процентному содержанию лимфоцитов определяли тип адаптационной реакции (тренировка, активация, стресс), по процентному содержанию эозинофилов, базофилов, палочкоядерных нейтрофилов, моноцитов, судили о степени напряженности адаптационных процессов.

На каждом этапе исследования подсчитывали коэффициент адаптационной реакции  $K = A_c/C$ , где  $A_c$  – сумма антистрессовых реакций: тренировка, спокойная активация, повышенная активация,  $C$  – стресс-реакция.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ *Statsoft Statistica 6.0.* (StatSoftInc, USA). Достоверность различий средних величин независимых выборок оценивали с помощью параметрического t-критерия Стьюдента. Различия считались достоверными при достижении значимости  $P \leq 0,05$

### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 3.1. Определение адаптационного потенциала собак по лейкоцитарной формуле крови

Изучение адаптационных реакций собак показало, что для каждой стадии адаптации характерен определенный диапазон содержания лимфоцитов (табл. 1).

Таблица 1. Диапазон изменения количества лимфоцитов для разных адаптационных реакций у собак, %

Типы адаптационных реакций	Диапазон количества лимфоцитов, характерных для данного типа реакции, %	Норма %
Стресс (С)	5,0-12,0	12,0-30,0
Тренировка (Т)	13,0-20,0	
Спокойная активация (РСА)	21,0-29,0	
Повышенная активация (РПА)	30,0-40,0	

Для реакции стресса характерно снижение количества лимфоцитов, что отражает снижение резистентности организма собак. Стойкие адаптивные реакции тренировки и спокойной активации отличаются уравновешенностью регуляторных систем, включая иммунную систему.

При реакции повышенной активации уровень лимфоцитов достигает верхней границы нормы, сегментоядерных нейтрофилов – нижней границы нормы. На уровне организма реакция характеризуется максимальной мобилизацией адаптационных резервов.

Изучение динамики (2;14;30 суток) состава форменных элементов крови свидетельствует о том, что на 2 сутки во всех трех группах уровень лимфоцитов находился в нижней границе нормы, не более 15% от общего количества клеток белой крови, что соответствует стадии тренировки.

Развитие стрессорных реакций отмечается к 14 суткам у животных 1 группы, на что указывает снижение лимфоцитов до нижней границы референтного интервала (табл. 2.). Уровень лимфоцитов у животных 2 и 3 группы поднялся до средних значений нормы и соответствовал стадии тренировки.

В контрольной группе количество нейтрофилов (сегментоядерных и палочкоядерных) остается практически без изменений. У животных из 2 и 3 группы отмечалось постепенное снижение нейтрофилов обеих групп (сегментоядерных и палочкоядерных) к 30 суткам эксперимента на фоне повышения лимфоцитов. Содержание остальных форменных элементов крови оставалось без изменения в пределах нормы во всех группах.

Таблица 2. Морфологический состав лейкоцитов у собак при изменении питания и условий содержания, %

лейкоциты, (%)	1 Контроль			2 Пробиотический продукт			3 <i>Energy</i>			норма
	2 сутки	14 сутки	30 сутки	2 сутки	14 сутки	30 сутки	2 сутки	14 сутки	30 сутки	
<b>Базофилы</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0-1
<b>Нейтрофилы:</b>	74±0,29	75±0,26	70±0,33*	76±0,22	70±0,23*	58±0,64*	78±0,22	70±0,26*	60±0,72*	60-80
сегментоядерные	70±0,34	71±0,47	66±0,44*	72±0,27	67±0,48*	56±0,38*	74±0,26	68±0,31*	57±0,49*	50-72
палочкоядерные	4±0,17	4±0,15	4±0,22	4±0,18	3±0,17	2±0,08	4±0,18	2±0,07	3±0,1	1-6
<b>Эозинофилы</b>	2±0,09	5±0,13*	4±0,15	2±0,09	5±0,12*	2±0,08	2±0,09	5±0,15*	3±0,12	2-6
<b>Лимфоциты</b>	17±0,18	12±0,28	20±0,3	14±0,14	19±0,65*	35±0,25*	13±0,2	20±0,57*	32±0,26*	12-40
<b>Моноциты</b>	7±0,16	8±0,2	6±0,21	8±0,11	6±0,09	5±0,15	7±0,1	5±0,06	5±0,16	1-15
Лейкоциты, всего:	100%			100%			100%			

Примечание: \* достоверные изменения по сравнению со 2 сутками,  $p < 0,05$

Таким образом, установленные изменения показали, что применение нутрицевтических добавок способствовало более быстрому формированию адапционных процессов у собак 2 и 3 группы, что подтвердилось при подсчете коэффициента адапционной реакции (рис. 1).

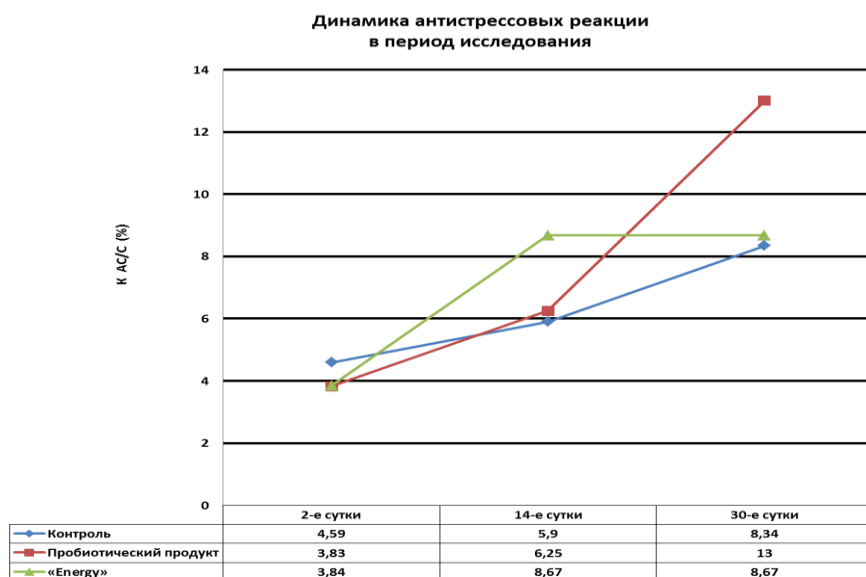


Рисунок 1. Динамика антистрессовых реакций у собак в период адаптации к условиям питомника и новому рациону

При этом, в контрольной и во 2 группах отмечалось постепенное повышение адаптационного потенциала, который достиг максимального значения к 30 суткам. Однако во 2 группе коэффициент адаптации был выше, чем у контрольных животных на 61%. В 3 группе коэффициент адаптации достиг максимального значения на 14 сутки и оставался без изменения до конца эксперимента.

Таким образом, результаты проведенного исследования показали, что использование пробиотического продукта оказало выраженное влияние на формирование адаптационных процессов у собак при стрессе.

### **3.2. Особенности глюкокортикоидной и тиреоидной регуляции при адаптации собак к условиям РШ СРС**

Ответная реакция организма на действие стресса носит индивидуальный характер, что во многом определяется потенциалом взаимодействия регуляторных систем, и в первую очередь, системы гуморальной регуляции.

Так как глюкокортикоидное звено гуморальной регуляции является обязательным участником ответа организма на стресс, то все животные, отобранные для участия в эксперименте, были разбиты на 3 подгруппы по уровню содержания в крови кортизола на начало исследования. В первую подгруппу вошли собаки (n-27) с низким уровнем кортизола –  $37,6 \pm 0,12$  нмоль/л, во вторую (n-28) - со средними значениями видовой нормы –  $62,2 \pm 0,14$  нмоль/л, третью (n-31) - с превышением нормы –  $185,2 \pm 0,53$  нмоль/л.

### 3.2.1. Изменение содержания гормонов в крови собак с низким уровнем кортизола при введении кормовой добавки «Energy» и пробиотического продукта на основе *B. subtilis*

Результаты исследования показали, что у животных контрольной группы уровень кортизола оставался практически без изменения в течение всего эксперимента с незначительным повышением (7%) на 14-е сутки (табл. 3).

Таблица 3. Изменение содержания гормонов в крови собак 1 подгруппы, получавших нутрицевтические добавки, (n=27),  $M \pm m$

Гормоны	ГРУППЫ									Норма
	1 Контроль (n=9)			2 Пробиотический продукт (n=10)			3 Energy (n=8)			
	2 сутки	14 сутки	30 сутки	2 сутки	14 сутки	30 сутки	2 сутки	14 сутки	30 сутки	
Кортизол (нМоль/л)	37,6 ±0,12	40,3 ±0,17	37,4 ±0,11	37,2 ±0,08	46,59 ±0,09*	32,12 ±0,11	37,5 ±0,11	52,07 ±0,09*	32,43 ±0,02	25-175
ТТГ (мЕд/л)	0,88 ±0,01	0,47 ±0,01*	0,46 ±0,01*	0,85 ±0,14	0,26 ±0,01**	0,43 ±0,01*	0,83 ±0,01	0,40 ±0,01*	0,42 ±0,01*	0,02- 0,45
Т4 общ. (нМоль/л)	16 ±0,19	25 ±0,26*	32 ±0,43*	19 ±0,2	33 ±0,13**	24 ±0,14**	16,6 ±0,17	35 ±0,16*	30 ±0,14*	12-52

Примечание: \* - достоверные изменения относительно вторых суток, при  $p < 0,05$   
\*\* - достоверные изменения относительно контроля, при  $p < 0,05$

В крови собак 2 и 3 групп содержание гормона повышалось к 14 суткам на 25,2% и 38,8% соответственно.

На 30 сутки содержание кортизола в крови всех исследуемых животных оказалось на первоначальном уровне. Характер изменения содержания основного стресс гормона в крови этой подгруппы соответствует адекватному ответу организма на действие стресса (И.И. Дедов и соавт., 2002; Л.Ю. Карпенко, В.Г. Скопичев и соавт., 2008).

Таким образом, формирование адаптационных реакций организма этой подгруппы подтверждается результатами изучения тиреоидного звена регуляции. Содержание ТТГ в крови собак всех групп было максимальным на вторые сутки, превышая верхнюю границу видовой нормы почти в 2 раза с последующим снижением до нормы.

Активация центрального звена обеспечила повышение секреции щитовидной железой тироксина, уровень которого стал выше в крови всех трех групп: у животных 1 группы – на 56%; 2 – на 73% и в 3 – на 110%.

В контрольной группе содержание Т4 продолжает повышаться до 30 суток. Уровень гормона стал выше, чем в начале эксперимента в 2 раза.

В крови животных 2 и 3 группы к 30 суткам уровень гормона снижается: соответственно на 27%, и на 14,3%, но исходных значений не достиг.

Можно предположить, что у животных с низким уровнем кортизола введение нутрицевтических добавок способствовало более быстрому формированию приспособительных реакций и снижению напряжения, вызванного стрессом. Уже к 14 суткам гормональная регуляция была

направлена на активацию метаболических процессов, что и обеспечивает формирование приспособительных реакций.

### 3.2.2. Изменение содержания гормонов в крови собак со средним уровнем кортизола при введении кормовой добавки «Energy» и пробиотического продукта на основе *B. subtilis*

Особенностью гормонального статуса собак этой подгруппы явилось содержание всех изучаемых гормонов, соответствующее средним значениям видовой нормы (табл. 4).

Изучение глюкокортикоидного звена регуляции показало, что в контрольной группе, секреция кортизола снижается на 22,8% к 14 суткам, оставаясь без изменения до конца наблюдений. Во 2 и 3 группах содержание кортизола в крови изменилось к 30 суткам: его уровень стал ниже во 2 группе на 30%, а в 3 - на 16,8%.

Тиреоидная регуляция имела свои особенности в каждой из групп. Так, у контрольной группы уровень ТТГ повысился на 80% к 14 суткам эксперимента, однако к концу наблюдений его содержание приблизилось к начальному значению.

Таблица 4. Изменение содержания гормонов в крови собак 2 подгруппы, получавших нутрицевтические добавки, (n=28), M±m

Гормоны	ГРУППЫ									Норма
	1 Контроль (n=9)			2 Пробиотический продукт (n=9)			3 Energy (n=10)			
	2 сутки	14 сутки	30 сутки	2 сутки	14 сутки	30 сутки	2 сутки	14 сутки	30 сутки	
Кортизол (нМоль/л)	62,2 ±0,14	48,0 ±0,18*	50,40 ±0,09	62,8 ±0,08	61,99 ±0,14**	43,29 ±0,1*	61,6 ±0,09	65,26 ±0,09**	54,25 ±0,08*	25-17
ТТГ (мЕд/л)	0,10 ±0,01	0,18 ±0,014*	0,07 ±0,011*	0,19 ±0,016	0,20 ±0,012	0,14 ±0,01*	0,15 ±0,012	0,29 ±0,01*	0,44 ±0,01*	0,02- 0,45
Т4 общ. (нМоль/л)	38 ±0,23	30 ±0,28*	46 ±0,18*	26 ±0,26	30 ±0,6	26,3 ±0,3	31 ±0,23	25,0 ±0,18	23,7 ±0,14*	12-52

Примечание: \* - достоверные изменения относительно вторых суток, при p<0,05  
\*\* - достоверные изменения относительно контроля, при p<0,05

При этом повышение активности центрального звена регуляции сопровождалось снижением секреции тироксина на 21% через 14 суток. К 30 суткам пребывания собак в РШ СРС содержание Т4 повысилось на 21% по сравнению со 2 сутками.

У собак, получавших пробиотический продукт, содержание изучаемых гормонов практически не изменялось в течение всего эксперимента.

Более значительные изменения тиреоидного звена отмечались только у третьей группы, получавшей кормовую добавку «Energy». Содержание ТТГ в этой группе увеличивалось в течение всего срока исследования: на 14 сутки содержание гормона стало больше почти в 2 раза, к 30 суткам в 2,9 раза, чем в

начале эксперимента. Секрция Т4, напротив, уменьшилась через 14 суток на 19,3%, а к 30 суткам – на 24%, относительно первого срока исследования.

При этом установленные изменения содержания изучаемых гормонов у собак всех групп не выходили за границы референтных значений. Это позволяет предполагать, что сохранение функционального баланса глюкокортикоидного и тиреоидного звеньев обеспечивает формирование высокого адаптационного потенциала. Применение пробиотического продукта способствовало поддержанию активности гуморальной регуляции на одном уровне в течение первого месяца адаптации животных к условиям РШ СРС.

Вероятно, изменения тиреоидной регуляции в 3 группе связаны не только с адаптацией к условиям РШ СРС, но и дополнительным поступлением субстратов, содержащихся в кормовой добавке «Energy», влияющих на метаболизм.

### 3.2.3. Изменение содержания гормонов в крови собак с высоким уровнем кортизола, получавших добавку «Energy» и пробиотический продукт на основе *B. subtilis*

На начальном этапе исследования высокая секрция кортизола сопровождалась низкой активностью гипофиза и повышенной активностью щитовидной железы, что свидетельствует о напряжении системы эндокринной регуляции (А.В. Санин, 2006; И.И. Дедов и соавт., 2002; R Baos, J Blas., G.R. Bortolotti et al., 2006; В. Kohler, С Stengel, R. Neiger, 2012). При этом изменения содержания гормонов в крови всех трех групп носили однонаправленный характер, но степень выраженности этих изменений была различной (табл. 5).

Таблица 5. Изменение содержания гормонов в крови собак 3 подгруппы, получавшей нутрицевтические добавки, (n=31), М±m

Гормоны	ГРУППЫ									Норма
	1 Контроль (n=10)			2 Пробиотический продукт (n=10)			3 Energy (n=11)			
	2 сутки	14 сутки	30 сутки	2 сутки	14 сутки	30 сутки	2 сутки	14 сутки	30 сутки	
Кортизол (нМоль/л)	185,2 ±0,53	86,9 ± 0,2*	23,06 ±0,13*	184,6 ± 0,6	75,6 ±0,24*	89,7 ± 0,18**	185,5 ± 0,65	140,3 ± 0,17**	122,7 ± 0,15**	25-175
ТТГ (мЕд/л)	0,09 ±0,014	0,18 ±0,01*	0,31 ±0,01*	0,05 ±0,012	0,10 ±0,01**	0,15 ±0,01**	0,03 ±0,011	0,10 ±0,01* **	0,19 ±0, 01* **	0,02 -0,45
Т4 общ. (нМоль/ л)	51,5 ±0,26	44,3 ±0,18	41,0 ±0,2*	49,2 ±0,13	45,5 ±0,13	44,0 ±0,36	51,0 ±0,32	47,0 ±0,14	45,3 ±014	12-52
Примечание: * - достоверные изменения относительно вторых суток, при p<0,05 ** - достоверные изменения относительно контроля, при p<0,05										

Так, у контрольных животных отмечалось резкое снижение секреции кортизола. Если в начале эксперимента содержание гормона было выше нормы, то на 14 сутки уровень этого гормона снизился на 53%, а к концу исследования – на 87,5%, опустившись ниже референтных значений. На фоне угнетения

глюкокортикоидной регуляции повышается активность центрального звена тиреоидной системы. Секреция ТТГ на 14 и 30 сутки исследования стала выше в 2 и 3,4 раза соответственно. Однако, активность периферического звена снижалась. Активность щитовидной железы на 14 сутки стала ниже на 14%, а к концу исследования на 20%.

Содержание кортизола в крови собак, получавших пробиотический продукт, постепенно снижалось до средних значений референтного интервала. В этой же группе (также, как и в контрольной) отмечалось повышение секреции гипофизарного гормона, однако, абсолютное содержание ТТГ в крови животных к 30 суткам эксперимента было в 2 раза ниже, чем у контрольной группы. Повышение активности центрального звена, не привело к соответствующему изменению со стороны щитовидной железы, на 14 сутки уровень тироксина снизился на 9% и оставался без изменения до конца наблюдения.

Содержание кортизола в крови собак 3 группы, получавшей кормовую добавку «*Energy*» снижалось в меньшей степени, чем во 2 и контрольной группах. На 14 сутки снижение составило 24%, а на 30 сутки - 44%. Поскольку уровень этого гормона был выше, чем в других группах, то это указывает на сохранение высокой активности глюकोкортикоидного звена регуляции.

Направленность изменений тиреоидной регуляции совпадала с изменениями во 2 группе: секреция ТТГ постепенно повышалась в течение эксперимента, активность щитовидной железы оставалась без изменений.

Таким образом, полученные результаты указывают на высокий риск срыва адаптации в контрольной группе животных, за счет истощения глюकोкортикоидного звена и снижения активности периферического звена тиреоидной регуляции. Введение нутрицевтических добавок снижает риск срыва адаптации, при этом наиболее эффективным явилось использование кормовой добавки «*Energy*».

### **3.3. Влияние пробиотического продукта на основе *B. subtilis* и кормовой добавки «*Energy*» на микрофлору кишечника собак**

Исследование микрофлоры толстого кишечника было выбрано в качестве одного из маркеров стресса. Фекалии для исследования брались на 2 и 14 сутки. При первичном исследовании фекалий животных всех групп (2 сутки после заезда в питомник) в 46,6% случаев были выявлены дисбиотические нарушения в облигатном звене микрофлоры. У всех животных с дисбиотическими нарушениями, количество кишечной палочки с нормальной ферментативной активностью варьировало, превысив в некоторых случаях норму в 100 и 1000 раз. Гемолитическую активность *E. coli* регистрировали в 7% случаев, *S. epidermidis* в 3% случаев. Гемолитические штаммы *E. coli* высевались в количестве  $10^4$ - $10^7$  КОЕ/г, *S. epidermidis* –  $10^2$ - $10^4$  КОЕ/г.

Факультативная группа микроорганизмов толстого кишечника была представлена: *Proteus spp.*, *Citrobacter freundii*, *Enterococcus spp.*,



*Corynebacterium spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida spp.*, *Actinomycetales spp.* (количество данных микроорганизмов не превышало  $10^2$ - $10^4$  КОЕ/г), однако на фоне пониженного содержания представителей облигатной микрофлоры кишечника, таких как бифидо- и лактобактерии, повышается риск возникновения и развития дисбактериоза кишечника.

В 53,3% случаев лактобактерии высевались в количестве  $10^4$ - $10^5$  КОЕ/г. По литературным данным нормой у здоровых собак принято считать количество лактобактерий в пределах  $10^6$ - $10^9$  КОЕ/г. Бифидобактерии в 40% случаев до применения пробиотического продукта и «Energy» присутствовали в количестве  $10^6$ - $10^8$  КОЕ/г соответственно. Нормой у здоровых собак принято считать количество бифидобактерий в пределах  $10^8$ - $10^{12}$  КОЕ/г (В.В. Субботин, Н.В. Данилевская, 2002; Н.В. Данилевская, 2008).

На 14 сутки во 2 группе животных было отмечено достоверное увеличение количества лактобактерий от  $10^5$  до  $10^7$  КОЕ/г соответственно, у животных с дисбиотическими нарушениями (в группе, получавшей пробиотический продукт) их доля возросла с  $10^4$  КОЕ/г до  $10^6$ - $10^7$  КОЕ/г соответственно. В 1 и 3 группе показатели практически не изменились ( $10^4$ - $10^5$  КОЕ/г). Частота обнаружения лактобактерий в пределах физиологической нормы возросла в 2 раза в группе, получавшей пробиотический продукт, в то время как в третьей группе она увеличилась всего в 1,4 раза.

Во 2 и 3 группах, также была отмечена тенденция в сторону увеличения количества бифидобактерий в фекалиях, где их количество возросло от  $10^9$  до  $10^{11}$  КОЕ/г соответственно. У животных 2 группы с дисбиотическим сдвигом количество бифидобактерий возросло до  $10^9$ - $10^{12}$  КОЕ/г соответственно. Частота обнаружения бифидобактерий возросла во 2 и 3 группах в среднем в 1,3 раза, в то время как в 1 группе изменений не отмечалось. На фоне достоверного увеличения количества представителей облигатной микрофлоры во 2 группе отмечено снижение количества представителей факультативной микрофлоры, таких как *Enterococcus spp.*, *S. saprophyticus*, *Clostridium spp.* В фекалиях этих животных отсутствовали гемолитические *E.coli*, *S. epidermidis* и *S. aureus*. Пробиотические бактерии р. *Bacillus* во 2 группе через 14 дней эксперимента высевались в количестве  $10^2$ - $10^3$  КОЕ/г.

Таким образом, применение пробиотического продукта на основе *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895, способствует нормализации микробиоценоза кишечника, подавляет рост таких микроорганизмов как, *Ps. alcaligenes*, гемолитических *E. coli* и *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. epidermidis*, грибов рода *Candida*. В 1 и 3 группе существенных изменений со стороны факультативной микрофлоры не выявлено.

Применение пробиотического продукта способствовало улучшению клинических симптомов, что было отмечено и по внешним признакам: хорошее состояние шерсти, здоровый аппетит, сформированность каловых масс и т.д. Пищевая добавка «Energy», также влияет, в определенной мере, на

количественный состав облигатной кишечной микрофлоры, однако менее выражено, по сравнению с пробиотическим продуктом.

### 3.4. Показатели биохимического анализа крови собак

Результаты исследования, полученные на 2 сутки пребывания собак в РШ СРС показали, что у всех животных изучаемые показатели крови не выходили за пределы референтного интервала (табл. 6).

Таблица 6. Изменения показателей белкового обмена у служебных собак в первый месяц адаптации к условиям пребывания в школе служебного собаководства, (M±m)

Группы животных	2 сутки	14 сутки	30 сутки	норма
<b>Общий белок, г/л</b>				
1 (Контроль)	64,13±0,71	74,68 ± 2,81	66,24 ± 0,48	50-72
2 (Пробиотический продукт)		73,86 ± 0,31**	66,94 ± 1,14*	
3 (Energy)		80,42 ± 1,16	71,46 ± 0,37	
<b>Альбумин г/л</b>				
1 (Контроль)	30,14±0,46	32,2 ± 0,5	34,5 ± 0,52	31-45
2 (Пробиотический продукт)		30,3 ± 0,31**	32,71 ± 0,60* ***	
3 (Energy)		32,87 ± 0,8*	34,23 ± 0,43	
<b>Азот мочевины ммоль/л</b>				
1 (Контроль)	6,12±0,08	4,9 ± 0,26	6,25 ± 0,08	3,5-9,2
2 (Пробиотический продукт)		4,40 ± 0,24	5,67 ± 0,09*	
3 (Energy)		4,86 ± 0,5*	5,55 ± 0,09	
<b>Креатининкиназа Ед/л</b>				
1 (Контроль)	261,32±4,6	156,74 ± 0,9	262,5 ± 3,17	8-216
2 (Пробиотический продукт)		212,54 ± 1,9**	266,9 ± 5,24	
3 (Energy)		166,63 ± 1,25**	254,75 ± 0,7***	
<b>АЛТ Ед/л</b>				
1 (Контроль)	48,4±0,59	27,08 ± 1,8	57,52 ± 0,74	6-70
2 (Пробиотический продукт)		48,65 ± 0,82**	48,78 ± 0,54***	
3 (Energy)		35,27 ± 0,8**	43,36 ± 1,32*	
<b>АСТ Ед/л</b>				
1 (Контроль)	38,1±0,79	30,14 ± 0,7	43,9 ± 0,65	10-43
2 (Пробиотический продукт)		27,0 ± 0,4**	38,44 ± 1,26	
3 (Energy)		20,17 ± 0,3**	40,29 ± 0,57* ***	
<b>коэффициент де Ритгиса ( АСТ /АЛТ)</b>				
1 (Контроль)	0,79±1,3	1,1±0,3	0,76±0,87	АСТ/АЛТ < 1 –уровень анаболизма АСТ/АЛТ>1 –уровень катаболизма
2 (Пробиотический продукт)		0,55±0,5	0,78±2,3	
3 (Energy)		0,57±0,4	0,93±0,4	
Примечание: * - уровень значимости критерия достоверности P < 0,05 относительно 2-х суток; ** - уровень значимости критерия достоверности P < 0,05 относительно контроля на 14-е сутки; *** - уровень значимости критерия достоверности P < 0,05 относительно контроля на 30-е сутки				

Общий белок в крови всех собак соответствовал средним значениям нормы, что свидетельствует о сохранении белкового гомеостаза, который поддерживается равновесием анаболизма и катаболизма. Подтверждением этому служит средний уровень азота мочевины в крови собак всех исследуемых групп.

Вероятно, сохранение белкового обмена обеспечивается интенсификацией энергозатратных процессов, на что указывает высокая активность креатининкиназы, превысившая верхнюю границу референтного интервала на 20% и снижение уровня глюкозы до нижней границы нормы, что связано с активным поглощением ее молекул клетками тканей для восполнения энергозатрат организма (С.В. Нотова, А.Х. Дускаева, 2012; К.Л. Acheson, Y. Schutz et al., 1988).

На 14 день исследования во всех трех группах была отмечена тенденция к повышению общего белка: в группе контроля этот показатель стал выше на 15,2%, у собак, получавших пробиотический продукт, на 16,5%, но наиболее выраженное повышение было у животных 3 группы – 25,4%.

На 30 сутки содержание общего белка снизилось до исходных значений в контроле и во 2 группе, тогда как в 3 группе содержание общего белка оставалось выше начального значения на 11,4%. Снижение анаболизма белка сопровождалось и снижением активности креатининкиназы на 14 сутки: в контрольной группе на 40%, во 2 – на 19%, и в 3 – на 36%. Содержание глюкозы повысилось в крови собак контрольной группы на 65%, и не изменялось у животных, получавших нутрицевтические добавки. Данные изменения указывают на формирование адаптационных процессов с использованием других энергетических субстратов для клеточного метаболизма. На 14 сутки снизилась активность АЛТ по сравнению со 2 сутками: в контрольной группе на 44% и у собак, получавших кормовую добавку «Energy», на 27%. У животных, получавших пробиотический продукт, активность этого фермента оставалась без изменения. Активность АСТ стала ниже во всех группах: в контрольной группе на 21%, во 2 - на 29% и в 3 - на 47%.

Несмотря на установленные изменения, все изучаемые показатели белкового обмена находились в пределах видовой нормы у всех экспериментальных животных. Расчет коэффициента де Ритиса показал, что в белковом обмене контрольной группы преобладали процессы катаболизма, а во 2 и 3 группах – процессы анаболизма (табл. 6).

К 30 суткам эксперимента все изучаемые показатели трех групп соответствовали видовой норме и, судя по величине коэффициента де Ритиса, процессы анаболизма преобладали над катаболизмом, что указывает на формирование процессов адаптации.

Вместе с тем, введение нутрицевтических добавок снижало напряжение адаптационных процессов и способствовало более быстрому приспособлению собак к условиям содержания в РШ СРС и смене рациона.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования показали, что пробиотический продукт на основе *B. subtilis* и кормовую добавку «*Energy*» можно использовать в качестве адаптогенов при действии стрессогенных факторов в служебной кинологии. Результаты показали, что пробиотическая добавка оказывала положительное влияние, как на процессы метаболизма, так и микрофлору кишечника собак. Эффективность использования пробиотического продукта отмечалась у собак независимо от начального состояния адаптационного потенциала. В основе полученного эффекта лежат биологические свойства пробиотических бактерий рода *Bacillus*, а именно, более выраженный, чем у бифидо- и лактобактерий, антагонизм по отношению к условно-патогенным микроорганизмам и выраженные ферментативные свойства, способствующие лучшему перевариванию корма (И.Г. Осипова и соавт., 2003; В.Д. Похиленко, В.В. Перельгин, 2007; V. Chistyakov, V. Melnikov et al., 2015). Полученные результаты указывают на то, что *B. subtilis* можно включать в состав пробиотических ветеринарных препаратов для повышения их эффективности и расширения спектра применения.

### ВЫВОДЫ:

1. При изменении условий содержания и рациона собак, состав лейкоцитов в крови изменялся в сторону повышения общего числа сегментоядерных нейтрофилов до верхних границ физиологической нормы, при снижении количества лимфоцитов до нижней границы физиологической нормы. При введении пробиотического продукта коэффициент Ас\С увеличился в 3,5 раза за счет повышения числа лимфоцитов в крови этих собак.
2. Функциональное взаимодействие глюкокортикоидного и тиреоидного звена гуморальной регуляции определяло характер адаптации собак и эффективность нутрицевтического воздействия.  
У собак с низким и средним уровнем содержания глюкокортикоидов адаптация протекала за счет повышения активности как глюкокортикоидного, так и тиреоидного звеньев регуляции. Введение пробиотического продукта и добавки «*Energy*» не влияло на межгормональные связи.  
У собак контрольной группы с высоким уровнем кортизола, составляющим в среднем  $185,1 \pm 0,53$  нМоль/л, происходит снижение его секреции ниже нормы до  $23,06 \pm 0,13$  нМоль/л к 30 суткам и повышение секреции тиреотропина до верхней границы референтных значений. Введение пробиотического продукта и «*Energy*» способствовало сохранению уровня кортизола в пределах физиологической нормы в течение 30 суток.
3. При адаптации собак к условиям питомника и рациону на фоне низкой активности углеводного обмена катаболизм белков преобладал над анаболизмом (повысился коэффициент де Ритиса). Введение пробиотического продукта на основе *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 способствовало

сохранению белкового и углеводного обмена в пределах физиологической нормы, анаболические процессы преобладали над катаболическими по показателям коэф. де Ритиса в течение 30 суток.

4. Введение пробиотического продукта на основе *B. subtilis* поддерживало микробиоценоз кишечника собак, подавляло рост факультативных микроорганизмов: *Ps. alcaligenes*, гемолитических *E. coli* и *S. epidermidis*, *S. saprophiticus*, *S. epidermidis*, грибов рода *Candida*, что способствовало снижению напряжения адаптационных процессов.
5. При использовании кормовой добавки «Energy» состав факультативной микрофлоры кишечника не изменяется и положительные эффекты добавки при низком адаптационном потенциале животных носят кратковременный характер, основанные на содержании высокоэнергетических субстратов и антиоксиданта *L*-карнитина.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ:**

1. На основании полученных результатов можно рекомендовать пробиотический продукт на основе штамма *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 в период стресса и адаптации, как показавший положительный эффект, направленный в сторону нормализации микрофлоры кишечника, тем самым снизив риск срыва адаптации у собак с высокой секрецией кортизола.
2. Пробиотический продукт рекомендуется применять в качестве превентивного средства в периоде адаптации и стресса, а пищевую добавку «Energy» кратковременно и только в период сильных физических нагрузок с целью поддержания активности собак и рабочих качеств.
3. Пробиотический продукт и пищевую добавку «Energy» рекомендуется также применять для животных (с высокой степенью напряжения системы адаптации) с изначально высокими показателями кортизола, т.к. у этих животных после приема данных адаптогенов в течение исследования происходит наиболее плавное восстановление гомеостаза организма, что отчетливо видно по показателям уровня гормонов в крови.
4. Пробиотический продукт, созданный на основе штамма *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895, рекомендуется применять при действии на собак различных стрессовых факторов (физическое перенапряжение, чрезмерные нагрузки при дрессировке, смена обстановки, смена хозяина, резкие изменения в кормлении, ветеринарные мероприятия, транспортировка и др.), в комплексной терапии при желудочно-кишечных заболеваниях, в том числе дисбактериозе кишечника различного генеза.

### **Перспективы дальнейшей разработки темы:**

Изучение влияния *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 на организм млекопитающих при длительном применении, на конверсию кормов.

Изучение возможности использования *Bacillus subtilis*, как превентивного адаптогена в служебной кинологии.

Исследования в данном направлении могут быть полезными для совершенствования эффективности основных терапевтических мероприятий, направленных на повышение резистентности организма служебных собак.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:**

### *Публикации в научных журналах, рецензируемых ВАК:*

1. Севрюков, А.В. Спорообразующие пробиотические бактерии в ветеринарии и медицине / А.В. Севрюков // Валеология. – 2013. – № 2. – С. 49-55.
2. Севрюков, А.В. Эффективность применения синбиотического препарата на основе штамма *Bacillus subtilis* В-1895 в аквакультуре и ветеринарии / А.В. Севрюков, М.А. Морозова, Ю.И. Левченко, Т.С. Колмакова, В.А. Чистяков // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2013. – № 4. – С. 49-56.
3. Севрюков, А.В. Содержание гормонов в крови служебных собак при алиментарном стрессе / А.В. Севрюков // Ветеринария Кубани. – 2014. – № 6. – С. 20-22.

### *Материалы, опубликованные в других научных журналах и конференциях:*

4. Севрюков, А.В. Низкозатратная технология получения пробиотических препаратов / А.В. Севрюков, В.А. Чистяков, М.А. Сазыкина, М.А. Коленко // Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины: Материалы II междунар. науч.-практ. конф. – (Ростов-на-Дону, 8-10 октября 2008 г.). – Ростов-на-Дону, 2008. – С. 165-166.
5. Севрюков, А.В. Применение пробиотического препарата на основе штамма *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 в ветеринарной практике / А.В. Севрюков, Е.В. Колмакова, М.А. Сазыкина, В.А. Чистяков // Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины: Материалы III междунар. науч.-практ. конф. – (Ростов-на-Дону, 1-4 октября 2009 г.). – Ростов-на-Дону, 2009. – С. 190.
6. Севрюков, А.В. Применение пробиотического препарата на основе бактерии *Bacillus subtilis* при алиментарном стрессе у собак / А.В. Севрюков, Т.С. Колмакова, Ю.И. Левченко // Высокие технологии, исследования, образование в физиологии, медицине и фармакологии: сб. науч. раб. с материалами трудов участников III междунар. науч.-практ. конф. по физиологии и медицине. – (Санкт-Петербург, 26-28 апреля 2012 г.). – Санкт-Петербург, 2012. – Т. 2. – С. 49-51.

7. Севрюков, А.В. Пробиотические препараты как средства адаптации организма животного к стрессу / А.В. Севрюков // Профессия кинолог // Журнал ФГКОУ ДПО РШ СРС МВД России. – 2012 г. – № 4. – С. 12–15.
8. Севрюков, А.В. Оценка адаптационного потенциала служебных собак в условиях алиментарного стресса / А.В. Севрюков, Ю.И. Левченко, А.А. Яковенко // Проблемные вопросы служебной кинологии на современном этапе // Материалы 3-й науч.-практ. конф. ФГКОУ ДПО РШ СРС МВД России, Ростов-на-Дону. – 2014. – С. 3-13.
9. Севрюков, А.В. Физиолого-биохимические показатели крови собак при алиментарном стрессе / А.В. Севрюков, Т.С. Колмакова, Ю.И. Левченко, В.А. Чистяков // Успехи современного естествознания. – 2014.– № 11.– С. 42-48.
10. Севрюков, А.В. Применение пробиотических препаратов и высокоэнергетических пищевых добавок «ENERGY» при алиментарном стрессе у собак / А.В. Севрюков, Т.С. Колмакова, С.А. Емельянцева, А.И. Панина // Лабораторные животные в медицинских и нутрицевтических исследованиях: сб. материалов региональной межвузовской науч.-практ. конф. – (Ростов-на-Дону, 27 февраля 2015 г.). – Ростов-на-Дону, 2015. – С. 54-58.
11. Севрюков, А.В. Нутрицевтический метод как средство адаптации собак к алиментарному стрессу / А.В. Севрюков, Т.С. Колмакова, А.А. Яковенко, А.К. Логвинов // Обмен веществ при адаптации и повреждении: сб. материалов XIV межвузовской биохимической науч.-практ. конф. с междунар. участием. – (Ростов-на-Дону, 15-16 мая 2015 г.). – Ростов-на-Дону, 2015. – С. 110–113.

Подписано в печать 28.04.2016.  
Формат 60×84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Бумага офсетная. Усл. печ. л. 1,0. Уч.-изд. л. 1,0.  
Тираж 100 экз. Заказ № 5140.

Отпечатано в отделе полиграфической, корпоративной и сувенирной продукции  
Издательско-полиграфического комплекса КИБИ МЕДИА ЦЕНТРА ЮФУ  
344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 200/1, тел. (863) 247-80-51.