

На правах рукописи

ДОБРЫНЯ Юлия Михайловна

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА
МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОРГАНИЗМА
КРЫС И ПРЕБИОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ СУБСТАНЦИИ НА ОСНОВЕ
*MEDUSOMYCES GISEVII***

06.02.01 – Диагностика болезней и терапия животных,
патология, онкология и морфология животных

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Ставрополь – 2019

Работа выполнена
в ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, профессор
Тимченко Людмила Дмитриевна

Официальные оппоненты: **Андреева Альфия Васильевна**, доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет», заведующий кафедрой инфекционных болезней, зооигиены и ветсанэкспертизы

Головко Елена Николаевна, доктор биологических наук, ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», ведущий научный сотрудник отдела токсикологии и качества кормов

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Алтайский государственный аграрный университет»

Защита диссертации состоится 05 июля 2019 г. в 10.00 часов на заседании диссертационного совета Д220.062.02 при ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» по адресу: 355017, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 12.

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

Автореферат размещен на официальных сайтах ВАК Министерства науки и высшего образования РФ <https://vak.minobrnauki.gov.ru> «___» _____ 2019 г. и ФГБОУ ВО Ставропольский ГАУ <http://www.stgau.ru> «___» _____ 2019 г.

Автореферат разослан «___» _____ 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Дьяченко Юлия Васильевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Дисбиотические нарушения качественного и количественного состава микрофлоры организма и ее функций, вызванные различными причинами, по-прежнему остаются одной из ведущих и наиболее трудно решаемых проблем современной ветеринарной медицины. В настоящее время мировым сообществом признана важная роль кишечной микрофлоры в обеспечении постоянства внутренней среды организма. Нарушение баланса микробной экосистемы кишечника животных влечет за собой снижение антагонистической и метаболической активности микроорганизмов, что отражается на целом ряде морфофункциональных особенностей различных органов и систем, проявляющихся в нарушении переваривания и всасывания пищи, синтеза витаминов, ферментов, аминокислот, а также в снижении общей резистентности и развитии воспалительных процессов. В результате этого возникают вторичные осложнения, среди которых на первый план выступают нарушения иммунитета и метаболизма (Р. Т. Маннапова с соавт., 2001; В. Н. Бабин с соавт., 2002; В. Б. Гриневич с соавт., 2003; С. В. Бельмер с соавт., 2006; Ю. А. Копанев, 2009; И. М. Файзуллин, Р. Т. Маннапова, 2011; Ж. В. Бучахчан с соавт., 2011; Н. В. Данилевская, 2008; Н. В. Данилевская, В. В. Субботин, 2012; Т. В. Бурцева, 2013).

Механизмы развития дисбактериоза и его последствий очень сложны и многогранны, поэтому необходимость изыскания средств, которые могут охватывать как можно большее число звеньев данного патогенеза, для ветеринарии является по-прежнему актуальной.

Современный взгляд на коррекцию патологических процессов, связанных с нарушением микрофлоры, предполагает использование комплексного подхода к оздоровлению кишечной экологии. В последние годы среди многообразия средств борьбы с дисбактериозом приоритет отдается пребиотическим препаратам нового поколения (Н. И. Урсова, 2005; В. М. Бондаренко, 2005; Ю. А. Копанев, 2007; В. В. Великанов с соавт., 2011; О. В. Бухарин, 2013; Т. А. Бокова, 2016; Т. Я. Вахитов с соавт., 2013, 2017; А. И. Аминова с соавт., 2017). В абсолютном большинстве представленные препараты сконструированы искусственно, содержат структурные компоненты микроорганизмов и различные комбинации их метаболитов, а также пищевые волокна, полисахариды, органические кислоты, сорбенты. Благодаря такому составу они не только осуществляют регулирование симбионтных отношений организма и его микрофлоры за счет компенсации метаболитов, создают благоприятные условия для развития собственной микрофлоры, но еще и обладают широким спектром биологической активности, противовоспалительными, иммуномодулирующими и другими свойствами, практически не оказывают побочных действий (Б. А. Шендеров, 1998; Н. М. Грачева, В. М. Бондаренко, 2004; И. Ю. Чичерин с соавт., 2012; Ж. В. Бучахчан с соавт., 2011;

И. В. Дармов с соавт., 2011, 2014; В. Е. Улитко, 2014; М. Д. Ардатская, 2015; О. Г. Голушко с соавт., 2015; А. А. Плоскирева, 2016; Е. И. Краснова с соавт., 2017).

В связи с трудоемким технологическим производством, обуславливающим довольно высокую себестоимость таких препаратов, широкое распространение они получили пока лишь в гуманной медицине, в то время как в ветеринарной практике их использование ограничено. Именно поэтому для создания подобных препаратов принципиальное значение имеет подбор экологически чистого, безвредного и недорогого сырья, которое заведомо содержит вещества, обладающие как пребиотическим, так и широким патогенетическим действием в соответствии с развитием возможных осложнений дисбиотического процесса. В этом отношении особое внимание привлекает природный микробный симбионт *Medusomyces gisevii* (чайный гриб), а именно его зооглея, чей богатый, поликомпонентный состав вполне может обеспечить вышеуказанные требования.

В связи с тем, что создание нового препарата на основе сложной микробной субстанции с целью последующего внедрения в ветеринарию, безусловно, требует глубокого всестороннего изучения его влияния на организм, обозначенная тема исследования представляется актуальной.

Степень разработанности темы. Сведения об изучении свойств *Medusomyces gisevii* изложены в работах Л. Т. Даниелян (2005), М. Н. Веревкиной (2010), Р. А. Зайнуллина с соавт. (2010), И. Д. Кароматова (2014), В. В. Рогожина, Ю. В. Рогожина (2017). В зарубежной литературе культуре *Medusomyces gisevii* посвящены работы G. S. Murugesan et al. (2009), S. Bhattacharya et al. (2011), A. Aloulou et al. (2012), D. Banerjee et al. (2012), H. Battikh et al. (2012) R. Jayabalan et al. (2007, 2008, 2014). Предположения о потенциале симбионта как о пробиотике высказаны в работе N. O. Kozyrovska et al. (2012).

Большинство сообщений посвящены свойствам культуральной жидкости симбионта, встречаются лишь единичные сообщения о практическом использовании зооглеи. Анализ литературных сведений показал, что до настоящего момента пребиотических препаратов на основе зооглеи *Medusomyces gisevii* разработано не было, вследствие чего потенциал его действия на микробиоценоз кишечника, нарушения которого сопровождаются широким симптомокомплексом в организме животных, до сих пор не раскрыт в полной мере.

Цель исследования: изучить пребиотическое действие биологически активной субстанции «БАС-ЧГ», созданной на основе зооглеи *Medusomyces gisevii* (чайный гриб) и оценить ее влияние на морфофункциональные показатели организма белых крыс.

Задачи исследования:

1. Предложить теоретическое и экспериментальное обоснование целесообразности применения *Medusomyces gisevii* (чайный гриб) для раз-

работки новой биологически активной субстанции «БАС-ЧГ» с пребиотическими и биостимулирующими свойствами.

2. Изучить пребиотическое действие и выявить оптимальную эффективную дозу полученной субстанции «БАС-ЧГ» на модели антибиотик-ассоциированного дисбактериоза у белых крыс.

3. Определить влияние субстанции «БАС-ЧГ» на гематологические, биохимические и иммунологические показатели организма у лабораторных животных.

4. Выявить динамику гистологического строения печени и кишечника лабораторных животных под влиянием разработанной субстанции «БАС-ЧГ».

Научная новизна работы. Впервые теоретически и экспериментально обоснована целесообразность использования зооглеи микробного симбионта *Medusomyces gisevii* в качестве перспективного сырья для создания ветеринарного препарата с комплексным пребиотическим и биостимулирующим действием.

Разработан эффективный препарат для ветеринарной медицины из зооглеи *Medusomyces gisevii* с комплексным механизмом пребиотического действия и влияния на морфофункциональные показатели организма при дисбактериозе за счет качественного сочетания в нем клетчатки, ферментов, органических кислот, аминокислот, макро- и микроэлементов, инaktivированных микроорганизмов.

Впервые установлена оптимальная пребиотическая доза препарата «БАС-ЧГ», которая составила 400 мг/кг живой массы.

Доказано системное положительное воздействие разработанной субстанции на организм животных, что заключается в коррекции гематологических и биохимических показателей крови, а также в воздействии на иммунную систему организма.

На основе данных о гистологическом строении печени и кишечника экспериментальных животных под влиянием препарата из *Medusomyces gisevii* подтверждена его эффективность.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные результаты углубляют и расширяют сведения о препаратах, используемых для коррекции дисбиотических нарушений микрофлоры и их последствий у животных, а также их влиянии на морфофункциональные показатели организма животных.

Разработанная на основе *Medusomyces gisevii* субстанция дополняет перечень ветеринарных препаратов метабитиков и может применяться в ветеринарной медицине как эффективное средство выбора для терапии животных с нарушениями микрофлоры желудочно-кишечного тракта и развивающихся на этом фоне патологических процессов, а также для их профилактики.

Результаты исследования могут быть рекомендованы в качестве методических указаний при использовании микробных симбионтов для раз-

работки эффективных ветеринарных пребиотических препаратов нового поколения, оказывающих системное действие на организм (в частности, иммуностропное и метаболизмкорректирующее) и населяющую его микрофлору, а также при использовании вторичного сырья на предприятиях, производящих продукты на основе *Medusomyces gisevii*.

Сведения о морфофункциональных особенностях организма животных при применении препарата могут быть использованы в перспективе для разработки новых лечебных схем при различных системных патологиях, ассоциированных с нарушением иммунитета и метаболических процессов, развивающихся как на фоне дисбактериоза, так и независимо от его наличия.

Результаты исследований используются в учебном процессе ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет» при проведении занятий по дисциплинам «Микробиология», «Общая биотехнология»; в учебном процессе ФГБОУ ВО «Донской государственной технической университет» при проведении занятий по дисциплинам «Цитология и гистология» и «Кормление животных с основами кормопроизводства»; ФГБОУ ВО «Донской государственной аграрный университет» при проведении занятий по дисциплинам «Внутренние незаразные болезни» и «Диетология»; ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет» при проведении занятий по дисциплинам «Иммунология» и «Микробиология», «Внутренние незаразные болезни» и «Ветеринарная микробиология и микология».

Результаты научных исследований используются в процессе научной и производственной деятельности и подкреплены актами о внедрении следующих организаций: межотраслевая научно-исследовательская лаборатория экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии и иммунобиотехнологии Института живых систем ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет», лаборатория экспериментальной биологии и биотехнологии Научно-образовательного центра ГОУ ВО «Московский государственный областной университет», ООО «Крестьянское (фермерское) хозяйство «НИКОЛИНА НИВА», ИП Зинченко И. В. «Ветеринарный центр «На Пирогова», ООО «Русквас».

Результаты исследований по действию разработанной субстанции на организм экспериментальных животных использованы при выполнении базовой части государственного задания № 2014/216 по теме «Разработка технологий комплексных ветеринарных биопрепаратов на основе экологически чистого регионального сырья животного, растительного и микробного происхождения» в 2014–2016 годах и положены в основу патента № 2630457 РФ «Способ получения биологически активной субстанции с пребиотическим эффектом на основе *Medusomyces gisevii*».

Методология и методы исследования. Результаты исследований получены с использованием бактериологических, биотехнологических, гематологических, морфометрических, гистологических, статистических методов исследования.

Положения, выносимые на защиту:

1. Свойства зооглеи *Medusomyces gisevii* (чайный гриб) в совокупности с предложенными приемами переработки обуславливают широкий перечень характеристик, обеспечивающий ее полипатогенетический эффект при дисбактериозе и его последствиях у животных.

2. Биологически активная субстанция на основе зооглеи *Medusomyces gisevii* (чайный гриб) обладает пребиотическим эффектом по отношению к кишечной микрофлоре животных.

3. Динамика изученных морфофункциональных показателей организма при использовании разработанной биологически активной субстанции на основе зооглеи *Medusomyces gisevii* свидетельствует о её противовоспалительном, регенераторном, метаболizmкорректирующем, иммунотропном эффекте.

Степень достоверности. Исследования выполнены в лабораторных условиях на откалиброванном сертифицированном оборудовании с использованием стандартизированных реактивов и общепринятых методик. Полученные результаты обработаны с помощью программы Primer of Biostatistics (Version 4.03).

Апробация результатов. Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на ежегодной научно-практической конференции «Университетская наука – региону» (Ставрополь, 2014–2018 гг.); Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора О. П. Стуловой «Актуальные вопросы морфологии и биотехнологии в животноводстве» (Кинель, РИЦ СГСХА, 2015 г.); на VI Международной научно-практической конференции «Современные достижения биотехнологии. Новаиии пищевой и перерабатывающей промышленности» (Ставрополь, 2016 г.); на Международной научно-практической интернет-конференции «Инновационные подходы в ветеринарной и зоотехнической науке и практике» (Ставрополь, 2016 г.); на 19-й Международной научно-методической конференции по патологической анатомии животных «Актуальные вопросы патологии, морфологии и терапии животных» (Ставрополь, 2017 г.).

Личный вклад соискателя. Постановка цели и задач, сбор и анализ литературы, планирование, организация и проведение исследований, а также статистическая обработка результатов выполнялись лично автором. Доля участия соискателя при выполнении работы составляет 85 %.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 16 научных работ, в том числе 8 работ в периодических изданиях из перечня ведущих рецензируемых научных журналов, утвержденных ВАК Министерства

науки и высшего образования Российской Федерации и рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени, одна работа в издании, включенном в библиографическую и реферативную базу данных «Scopus» (Медицинский вестник Северного Кавказа), одна работа в издании, включенном в библиографическую и реферативную базу данных «Web of science» (Indian Journal of Animal Sciences), получен патент на изобретение.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 149 страницах, иллюстрирована 33 рисунками, в том числе 30 фотографиями, 9 таблицами. Работа состоит из введения, глав обзора литературы, собственных исследований, а также заключения, выводов, практических предложений, списка сокращений и условных обозначений и приложений. Список использованной литературы содержит 356 источников, в том числе 102 – зарубежных авторов.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзоре литературы рассматриваются проблемы основных системных нарушений организма животных, связанные с дисбалансом кишечной микрофлоры, а также основные способы коррекции микробиоценоза и его последствий, используемые в ветеринарной практике, их преимущества и недостатки.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Диссертационная работа выполнялась в период с 2014 по 2019 год на кафедре прикладной биотехнологии, на базе лаборатории экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии и иммунобиотехнологии Института живых систем, на базе научно-исследовательской лаборатории «Нанобиотехнология и биофизика» Института живых систем ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет», на базе ОУ Белорусского государственного технологического университета (Минск, Беларусь), в условиях ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт».

Объектом исследования являлись белые крысы-самцы линии Вистар общей численностью 240 животных. Материалом для исследования послужили фекалии, кровь и внутренние органы белых крыс, которым при-

меняли новую биологически активную субстанцию «БАС-ЧГ» на основе *Medusomyces gisevii*.

Вся экспериментальная работа осуществлялась в три основных этапа.

Первый этап исследования включал теоретическое и экспериментальное обоснование целесообразности разработки нового препарата на основе природного микробного симбионта *Medusomyces gisevii*, получение его экспериментальных серий и качественную характеристику препарата.

На втором этапе производили подтверждение пребиотической эффективности и отработку оптимальной пребиотической дозы полученного препарата «БАС-ЧГ» на модели антибиотик-ассоциированного дисбактериоза у лабораторных животных.

На третьем этапе осуществляли морфофункциональное обоснование эффективности полученного препарата на лабораторных животных с использованием гематологических, биохимических, иммунологических, гистологических методов исследования биологических субстратов организма.

В работе использовалась микробная ассоциация *Medusomyces gisevii* *alfa* ВКПМ Sa-10 (М. А. Скрипицына, 2001). В работе с симбиотом были использованы методы, изложенные в ОФС 1.7.2.0008.15, у М. Шаршунова с соавт. (1980), Б. А. Ягодина с соавт. (1987), В. Г. Колба с соавт. (1982), А. А. Виноградовой с соавт. (1991).

Эксперименты на животных были проведены в соответствии с правилами защиты позвоночных животных, используемых в научных целях (Директива Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г.). У всех животных до начала эксперимента осуществляли фоновое бактериологическое исследование фекалий общепринятыми методами (М. А. Баймуратова, В. Э. Воронина, К. С. Оспанов с соавт., 2004; В. В. Меньшиков, 2009). Оценка пребиотической эффективности субстанции производили на модели антибиотик-ассоциированного дисбактериоза, воспроизведенного в соответствии с методикой И. В. Дармова с соавт. (2013) в нашей модификации. В процессе оценки пребиотической активности «БАС-ЧГ» уделялось внимание выявлению оптимальной пребиотической дозы субстанции, в связи с чем было сформировано 4 группы животных по 30 крыс в каждой.

Животные группы «Без БАС-ЧГ» на протяжении всего периода эксперимента содержались исключительно на стандартном корме. Животным групп № 1, 2 и 3 препарат «БАС-ЧГ» начинали применять в дополнение к рациону после завершения курса антибиотика в дозах 300 мг/кг, 400 мг/кг и 500 мг/кг соответственно в течение 21 суток. Забор фекалий для бактериологического исследования осуществляли на 7, 14, 21 сутки эксперимента. Оценивали минимальную дозу «БАС-ЧГ», оказавшую наилучший пребиотический эффект по отношению к основным эубиотическим пред-

ставителям кишечного микробиоценоза, которая была затем выбрана для дальнейших морфофункциональных исследований. Для этого были дополнительно сформированы 4 группы животных по 30 крыс в каждой, которым смоделировали антибиотик-ассоциированный дисбактериоз: группа IA и группа IIА использовали для гематологического, биохимического и гистологического исследований; группа IB и группа IIБ – для иммунологического исследования.

Забор крови из хвостовой вены для гематологического, биохимического и иммунологического исследований осуществляли перед и сразу после применения антибиотика, а также на 14-й и 21-й день применения разработанной субстанции. Все перечисленные исследования осуществлялись по общепринятым методикам (В. А. Петрачев, 1981; И. П. Кондрахин, 1985; А. Н. Медведев, 1991; Г. А. Симонян, 1995; Д. Н. Маянский, 1996; А. М. Горчаков, Н. Г. Кручинский, Ф. Т. Горчакова, И. Н. Коростелева, 2003; Шахов А. Г., Ю. Н. Бригадиров, А. И. Ануфриев, 2005; В. Т. Долгих, 2007; В. В. Меньшиков, 2009; С. А. Павлович, 2013). Гистологическое исследование органов-мишеней проводили на 21-й день в соответствии с рекомендациями С. М. Сулейманова с соавт. (2000). Выбор методов и приемов микроскопирования осуществлялся по рекомендациям, изложенным в учебном пособии Л. Д. Тимченко, В. Н. Вакулина (2014). Данные, полученные в ходе экспериментов, обработаны с помощью программы Primer of Biostatistics (Version 4.03).

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В данном разделе изложены результаты научных исследований, опубликованные в научных статьях как самостоятельно, так и в соавторстве, они уточнены, расширены и содержат новые сведения.

3.1. Аналитическое и экспериментальное обоснование разработки и применения биологически активной субстанции из *Medusomyces gisevii*

На основании аналитического обзора определены преимущества зооглеи чайного гриба в качестве сырья для разработки ветеринарного препарата с пребиотическими свойствами (R. Seljelid, J. Bogwald, 1981; Н. С. Егоров, 1986; А. В. Сеница, М. А. Скрипицына, 2015; 2016; Т. В. Рябцева, Е. Л. Седёлкина, 2017). Установлено, что наиболее целесообразно использование зооглеи на 21-е сутки культивирования.

Способ приготовления «БАС-ЧГ» включает измельчение зооглеи механическим способом на фрагменты размером 2–3 см и последующее высушивание. Фрагменты зооглеи помещают в низкотемпературную

холодильную камеру при температуре минус 40 °С на 72 часа, а затем сушат при режиме среднего рабочего давления в камере высушивания 6,5–7,0 Па, температура конденсора минус 9–50,0 °С. Общая длительность цикла сушки составляет 29 часов. Высушенная таким образом субстанция имела процент влажности 10 %. После высушивания ее измельчают на лабораторной мельнице и плотно укупоривают в стеклянной таре и автоклавируют в течение 10 минут при температуре плюс 105 °С, давлении 1,1 атм.

Экспериментально подтверждено, что субстанция «БАС-ЧГ» имеет в своем составе широкий перечень аминокислот, макро- и микроэлементов, а также органические кислоты: уксусную, глюконовую, глюкуроновую, янтарную, энантовую, капроновую, адипиновую. Амилолитическая активность субстанции составила 121,5±4,1 мкг/мин×мл. Содержание сырой клетчатки составляет 62,2±0,8 %.

3.2. Оценка пребиотического действия и определение оптимальной эффективной дозы биологически активной субстанции из *Medusomyces gisevii*

Результаты исследования показали, что вследствие применения гентамицина сульфата наблюдалось угнетение представителей традиционно нормальной микрофлоры кишечника у 100 % животных всех экспериментальных групп в равной степени, что выражалось в снижении количества бифидобактерий в 2,5 раза, лактобактерий – в 2,3 раза, кишечной палочки с нормальными ферментативными свойствами – в 3 раза. Существенно снизился процент выделения и количество энтерококков. У 100 % животных после применения антибиотика отмечено появление кишечной палочки со сниженными ферментативными свойствами, а также повышение количества грибов рода *Candida* в 2,6 раза.

В результате исследования «БАС-ЧГ» было выявлено, что разработанная биологически активная субстанция из чайного гриба оказывает положительное влияние на микрофлору кишечника животных, что выражается в восстановлении количества представителей традиционно нормального эубиоза, таких как *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Escherichia coli* с нормальными ферментативными свойствами, и снижении количества представителей условно-патогенной микрофлоры (*Escherichia coli* со сниженной ферментативной активностью, *Staphylococcus aureus*, грибов рода *Candida*) к 21-м суткам испытания. Отмечаются выраженные лактостимулирующие свойства субстанции, которые проявляются уже на 7-е сутки применения, а на 21-е сутки исследования количество лактобактерий в двух экспериментальных группах на 0,99 lg КОЕ/г и 1,15 lg КОЕ/г соответственно превышало показатели в данных группах до начала экс-

перимента. В качестве наиболее оптимальной эффективной пребиотической дозы субстанции была выбрана доза 400 мг/кг, в которой проводили дальнейшие исследования влияния «БАС-ЧГ» на морфофункциональные показатели организма с целью изучения патогенетического эффекта при развившихся сопутствующих патологиях.

3.3. Влияние биологически активной субстанции из *Medusomyces gisevii* на гематологические и биохимические показатели крови лабораторных животных

Влияние разработанной субстанции «БАС-ЧГ» на гематологические и биохимические показатели экспериментальных животных представлены в таблицах 1 и 2. Динамика изменения исследуемых показателей после применения антибиотика свидетельствует о признаках нарушения иммунной резистентности, что отражалось в снижении общего числа лейкоцитов и отдельных их форм, а также развитии воспалительной реакции, сопровождающейся повышением уровня нейтрофилов и эозинофилов, что может свидетельствовать о ее аллергическом характере. Снижение уровня эритроцитов, по нашему мнению, свидетельствует о нарушении эритропоэза, возможно вследствие снижения усвоения железа организмом.

Результаты применения «БАС-ЧГ» показали, что она оказывает положительное влияние на динамику гематологических показателей животных (уровень эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов, СОЭ, количество лимфоцитов, эозинофилов, сегментоядерных нейтрофилов), начиная уже с 14 дня ее применения, а к 21 суткам исследования у животных группы «IIА» все исследуемые показатели крови на данные сутки вернулись к фоновым значениям, при этом уровень эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов достоверно выше этих показателей в группе «IA». Содержание лейкоцитов оказалось на $0,77 \cdot 10^9/\text{л}$ выше, чем до начала эксперимента. При подсчете лейкоцитарной формулы выявлено, что процент лимфоцитов и моноцитов выше, а процент эозинофилов и сегментоядерных нейтрофилов у животных группы «IIА», принимавших «БАС-ЧГ», был соответственно ниже таковых по сравнению с группой «IA». При этом процент лимфоцитов в группе «IIА» на 5,55 % выше, чем до начала эксперимента.

В результате исследования у животных группы «IA» и группы «IIА» после моделирования дисбактериоза выявлены изменения биохимических показателей крови, что выражалось в уменьшении уровня общего белка на 15,3 и 14,9 %, альбумина – на 23,2 и 21,02 %, глобулинов – на 8 и 9,4 %, кальция – на 24 и 29 %, фосфора – на 19,35 и 18,7 %, магния – на 24,3 и 25,1 %, железа – на 24,2 и 23 % соответственно по сравнению с фоновыми показателями. Также после применения антибиотика в груп-

пах «IA» и «IIA» наблюдалось повышение уровня С-реактивного белка (СРБ) в 2,6 и 2,8 раза, ферментов: АлАТ – на 32,6 и 30,1 %, АсАТ – на 27,4 и 26 %, ЛДГ – на 17,8 и 19 %, ЩФ – на 16,7 и 15,4 % соответственно. При этом уровень АлАТ и АсАТ у животных обеих групп превышал нормативные значения для данного вида животных. Кроме этого, отмечается повышение уровня холестерина на 18,7 и 25 %, а триглицеридов – на 36,9 и 36,6 % в группе «IA» и группе «IIA». Уровень мочевины повысился соответственно на 17,4 и 16 %, билирубина – на 38 и 39,5 % по сравнению с данными до применения антибиотика. В целом описанная динамика показателей свидетельствует о некоторых метаболических изменениях в организме подопытных животных, которые можно связать с применением антибиотика, а также изменением количественного уровня функциональной (пищеварительной и синтетической) активности собственной микрофлоры желудочно-кишечного тракта.

Применение «БАС-ЧГ» животным с экспериментальным антибиотикоассоциированным дисбактериозом оказало эффект на динамику биохимических показателей крови животных уже на 14-е сутки, что выражалось в увеличении количества общего белка на 5,5 % в группе «IIA» по сравнению с результатами группы «IA» и на 8,5 % по сравнению с данными в этой группе на момент окончания применения антибиотика. Количество альбуминов в группе «IIA» возросло на 11,8 % по сравнению с данными после применения антибиотика, количество глобулинов – на 7,3 % по сравнению с данными после применения антибиотика и на 7,3 по сравнению с группой «IA». Уровень глюкозы в группе «IIA» повысился на 26 % по сравнению с моментом окончания применения антибиотика и на 22 % по сравнению с группой «IA». Уровень железа в группе «IIA» повысился на 20 % по сравнению с данными после применения антибиотика и на 21,7 % по сравнению с группой «IA». Кроме того, на 14-е сутки применения «БАС-ЧГ» в группе «IIA» уровень АлАТ АсАТ, мочевины, ЩФ, холестерина, ЛДГ, СРБ снизился по сравнению с моментом окончания применения антибиотика и по сравнению с данными группы «IA». К 21-м суткам все показатели в группе «IIA» восстановились до уровня фоновых значений. Количество общего белка, кальция, фосфора, магния, железа в сыворотке крови было достоверно выше, а уровень СРБ и холестерина был достоверно ниже таковых в группе «IA». Отмечено также, что в группе с «БАС-ЧГ» уровень глобулинов повысился на 3,2 г/л, что может свидетельствовать об усилении иммунорезистентности животных. Динамика уровня глюкозы в данной группе может свидетельствовать об улучшении углеводного обмена из-за активизации пищеварительной функции сахаролитической микрофлоры желудочно-кишечного тракта.

Таблица 1 – Влияние «БАС-ЧГ» на гематологические показатели крыс с экспериментальным антибиотик-ассоциированным дисбактериозом (M±m)

Показатель	Группа «IA»				Группа «IIA»			
	До антибиотика	После антибиотика	14-е сутки, стандартный рацион	21-е сутки, стандартный рацион	До антибиотика	После антибиотика	14-е сутки приема «БАС-ЧГ»	21-е сутки приема «БАС-ЧГ»
Эритроциты, $10^{12}/л$	8,64±0,15	5,68±0,42*	6,21±0,15	7,21±0,21*	8,23±0,14	5,21±0,11*	7,14±0,18▲	8,65±0,41▲
Гемоглобин, г/л	156,06±2,23	121,27±3,42*	128,22±1,1	142,5±2,2*	154,33±2,35	123,42±2,83*	137,35±2,25▲	159,2±2,12▲
Гематокрит, %	40,20±1,17	46,55±1,26*	45,11±0,12	44,2±1,22*	41,08±1,61	46,81±1,72*	41,2±1,1▲	40,22±1,11▲
МСН, пг	15,62±1,12	12,2±1,87	12,8±1,1	13,2±1,18	15,31±1,22	11,86±1,92	13,12±1,1	16,78±2,45
СОЭ, мм/ч	1,1±0,12	2,06±0,18*	1,84±0,41	1,74±0,45	1,1±0,16	2,01±0,17*	1,2±0,17	1,2±0,21
Тромбоциты, $10^9/л$	525±13,12	536±12,15	533±11,85	528±12,85	528±12,18	537±13,14	532±12,25	525±13,26
Лейкоциты, $10^9/л$	7,26±0,22	5,12±0,22*	5,5±0,11	6,11±0,12*	7,44±0,23	5,34±0,29*	6,75±0,45▲	8,21±0,27*▲
Лейкограмма, %								
Лимфоциты	67,53±1,15	55,12±1,85*	62,5±1,5	63,55±1,45*	68,33±1,60	56,65±1,96*	67,25±1,35▲	72,8±1,45*▲
Базофилы	0,73±0,34	1,5±0,2	1,6±0,3	0,92±0,87	0,68±0,31	1,5±0,2	1,4±0,5	0,72±0,45
Эозинофилы	0,8±0,5	4,91±0,6*	4,56±0,5	4,31±0,3*	1,20±0,1	4,62±0,3*	2,4±0,25▲	1,5±0,25▲
Нейтрофилы палочкоядерные	2,7±0,3	4,5±0,3*	4,0±0,6	3,7±0,3*	2,5±0,2	4,2±0,3*	3,51±0,3	2,8±0,4
Нейтрофилы сегментоядерные	22,27±1,80	31,2±1,25*	32,2±1,25	28,22±1,1*	23,07±2,17	32,42±1,56*	27,12±1,51▲	22,25±2,21▲
Моноциты	2,5±0,2	1,2±0,3*	1,25±0,25	1,75±0,3	2,4±0,2	1,2±0,2*	1,75±0,4	2,6±0,2▲

Примечание: группа «IA» – станд. корм; группа «IIA» – станд. корм + 400 мг/кг «БАС-ЧГ»; *(P<0,05) – в сравнении с данными до применения антибиотика; подчеркивание (P<0,05) – в сравнении с данными по окончании применения антибиотика; ▲ (P<0,05) – в сравнении с группой «IA».

Таблица 2 – Влияние «БАС-ЧГ» на биохимические показатели крови крыс с экспериментальным антибиотик-ассоциированным дисбактериозом (M±m)

Показатель	Группа «А»				Группа «ПА»			
	До антибиотика	После антибиотика	14-е сутки, стандартный рацион	21-е сутки, стандартный рацион	До антибиотика	После антибиотика	14-е сутки приема «БАС-ЧГ»	21-е сутки приема «БАС-ЧГ»
Общий белок, г/л	75,7±1,22	64,1±1,15*	65,2±0,85	69,8±1,12*	74,5±1,12	63,4±1,11*	68,8±1,1▲	75,6±0,91▲
Альбумины, г/л	36,1±1,13	27,7±1,14*	29,2±1,1	33,2±0,8*	35,2±1,18	27,8±1,12*	31,1±1,12	36,1±1,35
Глобулины, г/л	39,6±1,31	36,4±0,9*	35,6±0,9	34,6±0,8*	39,1±1,13	35,6±0,8*	38,2±0,8▲	42,5±1,11*▲
АЛТ, ед/л	0,91±0,11	0,74±0,09	0,81±0,05	0,95±0,08	0,89±0,12	0,78±0,11	0,81±0,07	0,84±0,08
СРБ, мг/л	0,58±0,11	1,56±0,13*	1,37±0,21	1,14±0,21*	0,56±0,13	1,61±0,21*	0,62±0,21▲	0,48±0,16▲
Мочевина, ммоль/л	8,6±0,52	10,1±0,22*	9,7±0,87	8,9±1,12	8,7±0,41	10,1±0,18*	9,5±0,21	8,2±1,1
АЛТ, ед/л	61,2±1,1	81,2±1,1*	76,2±1,2	71,1±1,2*	63,1±1,2	82,1±1,2*	69,2±1,1▲	62,8±1,4▲
АсАТ, ед/л	67,4±1,9	85,9±1,11*	80,2±1,1	75,5±1,2*	68,6±2,1	86,5±1,11*	71,5±1,7▲	67,6±1,8▲
ЛДГ, ед/л	357,7±14	421,7±12*	411,2±9	381,8±11	362,9±12	432,2±11*	380,2±9▲	371,1±9
ЩФ, ед/л	330,2±10	375,4±7*	358,2±6	345,2±7	328,4±14	379,2±6*	355,2±7	336,4±5
Билирубин общ, мкмоль/л	4,4±0,61	6,1±0,21*	5,7±0,21	5,2±0,28	4,8±0,42	6,7±0,32*	5,1±0,29	4,6±0,29
Холестерин общ, ммоль/л	1,6±0,07	1,9±0,13*	1,9±0,12	2,0±0,13*	1,6±0,11	2,0±0,13*	1,6±0,14	1,5±0,08▲
Триглицериды, ммоль/л	1,11±0,07	1,52±0,18*	1,49±0,17	1,51±0,14	1,12±0,07	1,53±0,16*	1,25±0,15	1,17±0,13
Глюкоза, ммоль/л	5,92±0,6	5,11±0,3	5,15±0,3	5,32±0,3	5,6±0,4	5,0±0,2	6,3±0,3▲	6,51±0,3▲
Ca ²⁺ , ммоль/л	2,5±0,11	1,9±0,13*	2,0±0,12	2,1±0,13*	2,4±0,13	1,7±0,16*	2,2±0,12	2,5±0,13▲
P ³⁺ , ммоль/л	3,1±0,12	2,5±0,13*	2,6±0,13	2,7±0,14*	3,2±0,14	2,6±0,16*	2,8±0,18	3,3±0,17▲
Mg ²⁺ , ммоль/л	2,38±0,12	1,8±0,15*	1,9±0,12	2,0±0,11*	2,39±0,03	1,76±0,18*	2,21±0,15	2,38±0,14▲
Fe ³⁺ , мкмоль/л	41,2±3,12	31,2±2,63*	32,2±1,6	33,6±2,11*	42,1±2,81	32,4±2,86*	39,2±1,81▲	43,8±2,14▲

Примечание: группа «А» – станд. корм; группа «ПА» – станд. корм + 400 мг/кг «БАС-ЧГ»; *(P<0,05) – в сравнении с данными до применения антибиотика; подчеркивание (P<0,05) – в сравнении с данными по окончании применения антибиотика; ▲ (P<0,05) – в сравнении с группой «А».

3.4. Влияние биологически активной субстанции из *Medusomyces gisevii* на иммунологические показатели крови лабораторных животных

Влияние разработанной субстанции «БАС-ЧГ» на иммунные показатели экспериментальных животных представлено в таблице 3. Вследствие применения антибиотика у животных группы «ІБ» и группы «ІІБ» выявлены изменения некоторых иммунологических параметров крови, что выражалось в снижении уровня БАСК, ЛАСК, КАСК, фагоцитарного индекса, фагоцитарного числа, индуцированного НСТ-теста, уровня IgA.

Уже на 14-е сутки применения «БАС-ЧГ» в группе «ІІБ» произошло увеличение БАСК, ЛАСК, КАСК, количества IgA, IgM соответственно на 9,7, 13,5, 21,5, 18,1, 4,9 % по сравнению с данными, полученными в этой группе после применения антибиотика. Уровень БАСК, ЛАСК, количества IgA, IgM в группе «ІІБ» оказался достоверно выше таковых по сравнению с данными группы «ІБ» на аналогичные сутки исследования. На 21 сутки все исследуемые показатели у животных в группе «ІІБ» достигли фоновых значений, полученных до начала действия антибиотика. Уровень IgG на 0,25 г/л превысил показатели в данной группе до начала применения антибиотика.

3.5. Гистологическая картина кишечника и печени лабораторных животных под влиянием биологически активной субстанции из *Medusomyces gisevii*

Перечисленные результаты были подтверждены гистологическим исследованием органов-мишеней, в качестве которых были определены кишечник (а именно, подвздошная, слепая и ободочная кишка) и печень. У животных, не принимавших «БАС-ЧГ», к 21-м суткам обнаружены выраженные дистрофические изменения основных структурных компонентов слизистой оболочки кишечника, выступающие у части животных в сочетании с экссудативным и пролиферативным компонентом, свидетельствующим о развитии катарального воспаления (не исключено, что аллергического характера). Практически у 100 % животных перечисленные патологические процессы сопровождались морфологическими признаками иммунной недостаточности кишечной стенки и низкой регенераторной активностью клеточ эпителия. В печени отмечены в разной степени выраженные дистрофические изменения, связанные с нарушением как липидного, так и белкового метаболизма, характерные для усиленной токсической нагрузки на орган.

Гистологическое исследование животных под влиянием «БАС-ЧГ» показало отсутствие выраженных признаков дистрофических или воспалительных процессов в тонком и толстом кишечнике. Выявленная картина свидетельствует о нормализации регенераторной активности эпителия, уровня секреции и неспецифической резистентности.

Таблица 3 – Влияние «БАС-ЧГ» на иммунологические показатели крови крыс с экспериментальным антибиотик-ассоциированным дисбактериозом (M±m)

Показатель	Группа «Б»				Группа «ПБ»			
	До антибиотика	После антибиотика	14 сутки, стандартный рацион	21 сутки, стандартный рацион	До антибиотика	После антибиотика	14-е сутки приема «БАС-ЧГ»	21-е сутки приема «БАС-ЧГ»
БАСК, %	55,24±2,21	47,45±2,22*	47,5±2,22	50,12±1,18*	54,98±2,45	48,42±1,21*	53,15±1,2▲	56,31±3,1▲
ЛАСК, %	47,25±1,76	39,65±1,15*	41,1±1,15	42,22±1,15*	47,92±1,82	41,15±2,2*	46,55±1,2▲	48,8±2,22▲
КАСК, у. е.	51,76±3,34	43,55±2,25*	44,55±2,25	46,45±3,1	52,22±2,87	41,42±3,1*	50,21±2,12	54,25±2,2▲
ФИ, %	56,30±2,6	46,25±1,8*	47,11±1,8	48,22±2,7*	56,41±2,6	45,35±1,2*	51,1±2,3	61,52±2,3▲
ФЧ, ед	3,5±0,3	2,1±0,4*	2,4±0,4	2,6±0,5	3,8±0,2	2,3±0,4*	3,2±0,3	3,7±0,3
ПЗФ, %	32,2±0,6	23,5±0,5*	26,7±0,3	30,2±0,3	33,4±0,5	26,5±0,5*	28,2±0,4	33,6±0,4
НСТ-тест сл, %	23,3±2,2	25,3±2,8	26,3±2,2	26,2±2,5	24,1±2,6	23,2±2,5	25,2±2,2	27,8±2,8
НСТ-тест инд, %	46,4±2,6	40,1±1,6*	41,1±1,1	43,2±2,3	47,8±2,80	40,4±3,22*	45,6±2,2	48,4±2,4
IgA, г/л	0,57±0,026	0,49±0,027*	0,47±0,022	0,51±0,031	0,55±0,022	0,44±0,028*	0,52±0,02▲	0,58±0,014▲
IgM, г/л	1,18±0,019	1,21±0,022	1,20±0,028	1,13±0,014*	1,19±0,028	1,21±0,023	1,27±0,019▲	1,26±0,034▲
IgG, г/л	1,83±0,028	1,85±0,035	1,80±0,032	1,75±0,022*	1,85±0,032	1,84±0,038	1,88±0,028	2,1±0,035*▲

Примечание: группа «Б» – станд. корм; группа «ПБ» – станд. корм + 400 мг/кг «БАС-ЧГ»; *(P<0,05); * (P<0,05) – в сравнении с данными до применения антибиотика; подчеркивание (P<0,05) – в сравнении с данными по окончании применения антибиотика; ▲ (P<0,05) – в сравнении с группой «Б».

В качестве подтверждения иммуностимулирующего действия субстанции можно отметить гиперплазию клеточных элементов и лимфоидных фолликул в собственной пластине кишечника. Исследование печени показало, что в гистологической картине данного органа не отмечается выраженных дистрофических изменений, связанных с нарушением как липидного, так и белкового метаболизма. Напротив, отмечены признаки усиления белково-синтетической функции печени и интенсификации репаративных процессов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментально подтверждено, что в условиях антибиотик-ассоциированного дисбактериоза разработанная субстанция на основе зооглеи *Medusomyces gisevii* обладает выраженным пребиотическим эффектом по отношению к представителям кишечной микрофлоры. Ее применение оказывает положительное действие на процессы белкового, углеводного, жирового обмена. Гематологические показатели, отражающие лейкопоз и эритропоз, нормализуются к 21-м суткам применения, что свидетельствует о положительной динамике воспалительной реакции и кроветворения. Выявлено положительное влияние препарата на иммунный статус организма, при этом можно выделить особую динамику уровня иммуноглобулинов, показателей неспецифической резистентности, С-реактивного белка, подтверждающих иммуномодулирующий и противовоспалительный эффект применяемой субстанции. Гистологически подтверждено, что исследуемая субстанция способствует стимуляции местного иммунитета, снижению уровня алергизации и воспалительной реакции, интенсивности регенераторного процесса в кишечнике, уменьшению выраженности признаков дистрофических процессов в печени и активизации регенерации и белковосинтетической функции данного органа. Таким образом, уже на экспериментальном этапе исследования препарата «БАС-ЧГ», созданного на основе зооглеи *Medusomyces gisevii*, был подтвержден высокий потенциал и возможность применения субстанции на практике. «БАС-ЧГ» испытана на домашних сельскохозяйственных животных и птицах, в результате чего получила положительные отзывы ветеринарных специалистов о своей эффективности в качестве препарата, оказывающего позитивное влияние на микрофлору кишечника и морфофункциональные показатели организма, что позволяет рекомендовать ее для лечения и профилактики у животных при дисбактериозе и его последствиях.

Итоги выполненного исследования

1. Разработанная оригинальная биологически активная субстанция «БАС-ЧГ» обладает высоким потенциалом пребиотического действия,

обуславливающим возможность ее применения при дисбактериозах и их последствиях у животных.

2. Биологически активная субстанция «БАС-ЧГ» способствует восстановлению естественного баланса основных представителей кишечного эубиоза с наиболее выраженным лактостимулирующим эффектом и обеспечивает уменьшение количества условно-патогенных представителей микробиоценоза кишечника (*Escherichia coli* со сниженной ферментативной активностью, *Staphylococcus aureus*, грибов рода *Candida*). Оптимальный пребиотический эффект субстанции выявлен в дозе 400 мг/кг живой массы.

3. При применении «БАС-ЧГ» экспериментальным животным отмечена положительная динамика таких гематологических показателей, как абсолютное число эритроцитов и лейкоцитов, содержание гемоглобина, уровень гематокрита, лейкоцитарная формула (количество лимфоцитов, сегментоядерных нейтрофилов, эозинофилов, моноцитов), отражающих уровень кроветворения, степень воспалительной реакции и аллергического эффекта.

4. Изменения биохимических показателей (количества общего белка, альбуминов, глобулинов, общего билирубина, аланинаминотрансферазы, аспаргатаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы, мочевины, глюкозы, холестерина, триглицеридов, ионов кальция, фосфора, магния, железа) под влиянием «БАС-ЧГ» свидетельствуют об оптимизации белкового, жирового, углеводного, минерального обмена. Положительная динамика уровня С-реактивного белка и вышперечисленных ферментов свидетельствует о противовоспалительном потенциале исследованного препарата.

5. Применение разработанной субстанции «БАС-ЧГ» оказывает стимулирующее влияние на показатели неспецифической резистентности и иммунологической реактивности организма, что выражается в положительной динамике бактерицидной, лизоцимной и комплементарной активности сыворотки крови, восстановлении уровня фагоцитарной активности лейкоцитов, иммуноглобулинов IgG, IgA, IgM.

6. Применение «БАС-ЧГ» способствует предотвращению или ослаблению признаков дистрофических и воспалительных изменений в кишечнике и печени, а также обеспечивает активизацию местного иммунитета и регенераторной активности кишечника.

Практические предложения

1. Результаты исследований влияния разработанной субстанции «БАС-ЧГ» на микрофлору кишечника, гематологические, биохимические, иммунологические и гистологические показатели организма животных являются основанием для рекомендации ее к использованию в ветеринарной практике с лечебной и профилактической целью при дисбактериозе и его последствиях.

2. Зооглея *Medusomyces gisevii* (чайный гриб) может быть использована в процессе переработки вторичного сырья на предприятиях, работающих с культурой чайного гриба, с целью изготовления пребиотического препарата для животных с полипатогенетическими свойствами.

3. Материалы диссертационной работы могут быть использованы в научных целях при составлении учебных и справочных пособий, организации учебного процесса по дисциплинам: «Клиническая диагностика», «Внутренние незаразные болезни», «Патологическая анатомия», «Кормление животных», «Микробиология» и «Биотехнология».

Перспективы дальнейшей разработки темы

Проведенные исследования создают предпосылки для дальнейших испытаний биологически активной субстанции «БАС-ЧГ» на различных видах домашних и сельскохозяйственных животных с целью разработки схем лечения, профилактики и последующего внедрения субстанции в качестве средства выбора для коррекции дисбактериоза и сопутствующих ему метаболических нарушений.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

*Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК
Министерства науки и высшего образования РФ*

1. **Добрыня, Ю. М.** Динамика амилотической активности культуры жидкости *Medusomyces gisevii* (чайного гриба) в процессе культивирования / Ю. М. Добрыня, С. С. Аванесян, Н. И. Бондарева и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3. – Режим доступа: www.science-education.u/123-18777 (дата обращения 29.05.2018).

2. **Добрыня, Ю. М.** Влияние озонирования на содержание этилового спирта в культуральной жидкости *Medusomyces gisevii* (чайный гриб) при разных температурных режимах культивирования / Ю. М. Добрыня, С. С. Аванесян, Н. И. Бондарева и др. // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 7. – С. 454–457.

3. Митина, С. С. Влияние биологически активной композиции на основе чайного гриба (*Medusomyces gisevii*) на показатели липидного спектра крови белых крыс / С. С. Митина, С. И. Писков, Л. Д. Тимченко, Н. И. Бондарева, И. В. Ржепаковский, **Ю. М. Добрыня** и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 3. – Режим доступа: www.science-education.ru/ru/article/view?id=24460 (дата обращения 29.05.2018).

4. Бондарева, Н. И. Микробиоценоз толстого кишечника крыс при пероральном применении зооглеи *Medusomyces gisevii* (чайный гриб) / Н. И. Бондарева, Л. Д. Тимченко, Е. В. Алиева, **Ю. М. Добрыня** и др. // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2017. – Т. 12. – № 1. – С. 87–90. Журнал входит в БД Scopus.

5. **Добрыня, Ю. М.** Влияние биологически активной субстанции из *Medusomyces gisevii* (чайный гриб) на иммунитет белых крыс в условиях антибиотико-ассоциированного дисбактериоза / Ю. М. Добрыня, Л. Д. Тимченко, И. В. Ржепаковский и др. // Ветеринарная патология. – 2017. – № 3(61). – С. 22–30.

6. **Добрыня, Ю. М.** Биохимические показатели крови лабораторных животных в условиях модельного дисбактериоза при применении им биологически активной субстанции из *Medusomyces gisevii* / Ю. М. Добрыня // Ветеринарная патология. – 2017. – № 4. – С. 26–22.

7. **Добрыня, Ю. М.** Морфологическая характеристика печени под влиянием субстанции из *Medusomyces gisevii* (чайный гриб) в условиях дисбактериоза кишечника / Ю. М. Добрыня // Ветеринарная патология. – 2018. – № 4. – С. 34–39.

8. **Добрыня, Ю. М.** Влияние биологически активной субстанции из *Medusomyces gisevii* (чайный гриб) на показатели фагоцитарной активности нейтрофилов крови белых крыс / Ю. М. Добрыня, Л. Д. Тимченко, Н. И. Бондарева, С. И. Писков // Аграрный вестник Урала. – 2018. – № 01(168). – С. 8–11.

*Публикации в научных изданиях, входящих
в международные реферативные базы данных
и системы цитирования*

9. Bondareva, N. I. Influence of biologically active substances from Kombucha (*Medusomyces gisevii*) on rat gut microbiota with experimental antibiotic-associated dysbiosis / N. I. Bondareva, L. D. Timchenko, **Y. M. Dobrynya** et al. // The Indian Journal of Animal Sciences. – 2017 (May). – Volume 89. – Issue 5. – P. 624–629.

Патент на изобретение

10. Способ получения биологически активной субстанции с пребиотическим эффектом на основе *Medusomyces gisevii* : пат. 2630457 Российская Федерация: МПК51 А 23 К 10/30, А 23 L 33/10 / Л. Д. Тимченко, Н. И. Бондарева, С. С. Аванесян, В. Н. Вакулин, И. В. Ржепаковский, **Ю. М. Добрыня** и др. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Кавказский федеральный университет». – № 2016128299 ; заявл. 12.07.2016 ; опубл. 08.09.2017, Бюл. № 25.

Публикации в других изданиях

11. **Добрыня, Ю. М.** Определение антимикробной активности культуральной жидкости и «тела» чайного гриба (*Medusomyces gisevii*), культивированного в лабораторных условиях / Ю. М. Добрыня, Н. И. Бондарева, Л. С. Катунина // Биоразнообразии, биоресурсы, био-

технологии и здоровье населения Северо-Кавказского региона : сб. материалов II ежегодной науч.-практ. конф. – Ставрополь, 2014. – С. 290.

12. Тимченко, Л. Д. Влияние озона на прирост биомассы *Medusomyces gisevii* (чайного гриба) / Л. Д. Тимченко, Е. И. Симчева, **Ю. М. Добрыня** и др. // Актуальные вопросы морфологии и биотехнологии в животноводстве : сб. науч. тр. Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения проф. О. П. Стуловой. – Кинель : РИЦ СГСХА, 2015. – С. 75–79.

13. **Добрыня, Ю. М.** Влияние биологически активной субстанции из *Medusomyces gisevii* (чайный гриб) на показатели белой крови крыс / Ю. М. Добрыня, Н. И. Бондарева, С. И. Писков // Биоразнообразие, биоресурсы, вопросы химии, биотехнологии и здоровье населения Северо-Кавказского региона : сб. материалов IV ежегодной науч.-практ. конф. «Университетская наука – региону». – Ставрополь, 2016. – С. 99–102.

14. **Добрыня, Ю. М.** Влияние биологически активной субстанции из *Medusomyces gisevii* (чайный гриб) на показатели красной крови крыс / Ю. М. Добрыня, Н. И. Бондарева, Л. Д. Тимченко, И. В. Ржепаковский // Инновационные подходы в ветеринарной и зоотехнической науке и практике : сб. материалов Междунар. науч.-практ. интернет-конференции. – Ставрополь, 2016. – С. 81–85.

15. **Добрыня, Ю. М.** Влияние биологически активной субстанции из *Medusomyces gisevii* (чайный гриб) на тромбоциты крыс / Ю. М. Добрыня // Современные достижения биотехнологии. Новаии пищевой и перерабатывающей промышленности : сб. материалов VI Междунар. науч.-практ. конф. – Ставрополь, 2016. – С. 159–161.

16. **Добрыня, Ю. М.** Изменение показателей фагоцитарной активности нейтрофилов крови белых крыс при применении активной субстанции из *Medusomyces gisevii* (чайный гриб) / Ю. М. Добрыня, Л. Д. Тимченко, Н. И. Бондарева, С. И. Писков // Актуальные вопросы патологии, морфологии и терапии животных : материалы 19-й Междунар. науч.-метод. конф. по патологической анатомии животных. – Ставрополь, 2017. – С. 275–278.

Подписано в печать 25.04.2019. Формат 60x84 ¹/₁₆. Бумага офсетная.
Печать офсетная. Гарнитура «Times». Усл. печ. л. 1,0. Тираж 110 экз.
Заказ № 157.

Отпечатано в типографии издательско-полиграфического комплекса
СтГАУ «АГРУС», г. Ставрополь, ул. Пушкина, 15