

**БЛЮМЕНКРАНЦ ДМИТРИЙ АЛЕКСЕЕВИЧ**

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ  
ПРИ БОЛЕЗНЯХ ОРГАНОВ ПИЩЕВАРЕНИЯ ЯГНЯТ,  
ВЫЗЫВАЕМЫХ ПАТОГЕННЫМИ ЭНТЕРОБАКТЕРИЯМИ**

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

**4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных**

**ДИССЕРТАЦИЯ**

**на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук**

**Научный руководитель:  
доктор ветеринарных наук,  
профессор  
Гламаздин И.Г.**

**МОСКВА 2025**

## Содержание

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	3
<b>Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	9
1.1. Этиологическая структура болезней органов пищеварения ягнят, вызываемых патогенными энтеробактериями.....	9
1.2. Формирование биоплёнок энтеробактерий, как фактор патогенности.....	17
1.3. Дифференциальная диагностика болезней органов пищеварения, вызываемых патогенными энтеробактериями.....	23
1.4. Организация мероприятий по борьбе и профилактике болезней органов пищеварения .....	29
1.5. Заключение по обзору литературы .....	34
<b>Глава 2. ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ</b> .....	38
2.1. Материалы и методы.....	38
2.1.1. Объект и материалы исследований.....	38
2.1.2. Клинические и морфологические методы исследований.....	44
2.1.3. Бактериологические методы исследований.....	47
2.1.4. Методы изучения патогенных свойств микроорганизмов.....	53
2.1.5. Методы статистической обработки результатов исследований.....	58
2.2. Результаты исследований.....	59
2.2.1. Клинические признаки и особенности течения болезней органов пищеварения ягнят .....	59
2.2.2. Динамика гематологических, иммунологических и биохимических показателей при болезнях органов пищеварения ягнят .....	64
2.2.3. Результаты исследований морфологических изменений при болезнях органов пищеварения ягнят.....	68
2.2.4. Видовой состав и патогенные свойства энтеробактерий при снижении колонизационной резистентности кишечника ягнят.....	78
2.2.4.1. Результаты идентификации микроорганизмов.....	78
2.2.4.2. Динамика патологических процессов при диссеминации биопленкообразующих энтеробактерий.....	95
2.2.5. Результаты исследований чувствительности энтеробактерий к антибактериальным препаратам.....	101
2.2.6. Обсуждение результатов исследований.....	111
2.3. <b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	123
2.3.1. Итоги исследований.....	123
2.3.2. Рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы.....	124
2.3.3. Практические предложения.....	125
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	126

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** В структуре неонатальной патологии животных болезни органов пищеварения составляют 11,7–61,74 % (Уша Б.В., 2015; Салаутин В.В., 2018; Байматов В.Н., 2019; Колосов А.А., Донченко Н.А., 2020; Шахов А. Г., 2019; Шабунин С.В., 2021; Сулейманов С.М. 2020; Ковалёв С.П., 1999; Ковалёв С.П., Киселенко П.С., 2019). Этиологические факторы, патогенетические механизмы развития болезней являются ведущими звеньями развития болезней. При низкой эффективности антибактериальных средств, сопровождающейся селекцией антибиотикоустойчивых штаммов, летальность ягнят достигает 34,7–73,5 %; патологические роды, послеродовые осложнения, яловость овцематок – 50,0–67,0 % (Гнездилова Л.А., 2002, 2021; Ездакова И.Ю., Усачев И.И., 2021; Аблов А.М., 2015). Установлена тенденция возрастания доли факторных инфекционных болезней, характеризующихся многообразием клинических проявлений, сложностью дифференциальной диагностики, формированием групп животных, не поддающихся традиционному лечению (Джупина С.И., 2016; Макаров В.В., 2021; Шкиль Н.Н. и соавт., 2019; Сидорчук А.А. и соавт., 2021). При персистенции микроорганизмов в организме бактерионосителей контаминация пищевого сырья БГКП достигает 8,3–69,7 %, в том числе *E.coli* O157:H7 – 8,5–12,4 % (Татарникова Н.А., Чугунова Е.О., 2018; Костенко Ю.Г., 2019; Прунтова О.В., 2020). Изучение общепатологических процессов у животных и патогенетических механизмов при наличии энтаропатогенной микрофлоры приобретает важное научно-практическое значение. Совершенствование методов диагностики основной болезни и профилактика его осложнений являются необходимыми компонентами для успешного лечения и благополучного исхода патологии. Длительность и ретроспективность диагностики опосредована множественностью факторов вирулентности; серологическая идентификация – вариабельностью антигенов; молекулярно-генетическая диагностика – селекцией и трансмиссией генетических элементов (Светоч Э.А., 2017; Пирожков М.К., 2016; Ленченко Е.М., 2017; Пименов Н.В., 2019; Джавадов Э.Д., Новикова О.Б., 2016).

**Степень разработанности темы.** Снижение колонизационной резистентности кишечника, недостаточность илеоцекального сфинктера способствуют избыточному росту микроорганизмов, продуцирующих  $\beta$ -лактамазы расширенного спектра, гемолизины, бактериоцины, полисахариды – маркеры формирования биопленок (Ленченко Е.М., 2016; Плешакова В.И. и соавт., 2020; Карташова О.Л., 2020; Sushma V. et al., 2018; Ball T. et al., 2020). Для разработки эффективных диагностических и противоэпизоотических мероприятий приоритетным направлением является апробация и подбор эффективных способов идентификации изолятов энтеробактерий, циркулирующих в овцеводческих хозяйствах при массовых болезнях органов пищеварения ягнят.

**Цель исследований** – изучить клинические признаки, особенности течения болезни, морфологические изменения в зависимости от количественного и видового состава патогенных энтеробактерий у ягнят.

**Задачи исследований:**

- изучить клинические признаки и особенности течения болезни при энтеробактериальных инфекциях;
- дать характеристику гематологическим, биохимическим показателям при болезнях органов пищеварения ягнят с разной этиологией;
- исследовать количественный и видовой состав энтеробактерий микробиоценозов кишечника ягнят;
- определить колонизационную резистентность кишечника и диссеминацию бактерий в ткани и органы при развитии синдрома желудочно-кишечных болезней;
- изучить факторы вирулентности и фенотипические признаки, связанные с плазмидами вирулентности энтеробактерий;
- определить чувствительность энтеробактерий к антибактериальным препаратам.

**Научная новизна.** При болезнях органов пищеварения ягнят приуроченность к сезонам года наблюдалась в зимне-весенний период, острое течение болезни отмечали преимущественно у животных периода новорожденности до 7 суток, подострое и хроническое течение – 7-90 суток.

Клиническая картина характеризовалась нарушением функции желудочно-кишечного тракта, желтушностью слизистых оболочек, усилением жажды, воспалением, конъюнктивитами. Поражения нервной системы сопровождались судорогами, атаксией, парезами конечностей. Нарушение сердечной деятельности проявлялось учащением сердечного толчка и тонов пульса, последовательности сердечных сокращений. При развитии синдрома желудочно-кишечных болезней установлено снижение бактерицидной активности сыворотки крови, фагоцитарной активности клеток, идентифицированы изоляты *E. coli* O78:K88, O86:F41, O33:F41, O78:K99, O2:K99, O9:A20, O86:A20, O26:A20, O111:A20, O2:A20, O20:K99, O26:F41, O119:A20 – 69,3 %; *K. pneumoniae* K1, K2 – 24,5 %; *K. oxytoca* – 18,5 %; *P. vulgaris* – 7,9 %; *E. cloacae* – 3,3 %. Установлены прямые коррелятивные зависимости ( $r=0,96$ ) между изменениями показателей 1,0 г содержимого кишечника ягнят: увеличение концентрации уксусной, пропионовой, масляной кислот, активности энтерокиназы; отмечено снижение pH среды, концентрации химотрипсина, ионов кальция, магния, натрия, хлора, калия, активности щелочной фосфатазы, эластазы и достоверного увеличения ( $p \leq 0,05$ ) индекса колонизации энтеробактерий –  $0,892 \pm 2,37$  %. Выявлено увеличение показателей гематокрита, общего билирубина, холестерина, фосфора сыворотки крови ягнят при идентификации патогенных энтеробактерий, продуцирующих адгезивные антигены, бактериоцины, гемолизины,  $\beta$ -лактамазы и экзополисахариды – маркеры биоплёнок.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Разработана система дифференциальной диагностики болезней органов пищеварения и определены биохимические показатели содержимого кишечника ягнят с учетом индекса колонизации слизистой оболочки кишечника. Научно обоснована и экспериментально подтверждена эффективность идентификации рибосомальных белков бактерий семейства *Enterobacteriaceae*,  $\geq 5,0 \times 10^6$  КОЕ/мл. Апробирован алгоритм определения профилей резистентности к антибиотикам изолятов энтеробактерий: *E. coli* – 78,0 %, *K. pneumoniae* – 73,3 % устойчивы к ампициллину, канамицину, ципрофлоксацину, норфлоксацину; *P. vulgaris* – 55,8 %, *E. cloacae* –

60,1 % проявляли резистентность к меропенему, канамицину, цефтазидиму, гентамицину, норфлоксацину.

**Методология и методы исследования.** Методологические подходы решения задач диссертационного исследования основаны на анализе литературных данных отечественных и зарубежных авторов, посвященных обоснованию актуальности, цели и задач исследований. Для проведения лабораторных и экспериментальных исследований использовали клинические, патологоанатомические, микробиологические, серологические, молекулярно-биологические, микроскопические, морфометрические и денситометрические методы. Обработка экспериментальных данных проведена с использованием методов статистического анализа.

**Степень достоверности.** Степень достоверности результатов работы подтверждена использованием современных методов, оборудования и приборов, прошедших поверку средств измерений, согласно ФЗ № 102-ФЗ «Об обеспечении единства измерений», методологически правильной постановкой опытов, статистически значимым количеством проведенных исследований в лабораторных и экспериментальных условиях, соответствующих цели и задачам работы. Достоверность выводов основывается на значительном объеме полученных экспериментальных данных. Результаты экспериментальных исследований статистически обработаны с определением средних значений. Достоверность различий сравниваемых показателей оценена по t-критерию Стьюдента.

**Апробация материалов диссертации.** Основные результаты диссертационной работы доложены и одобрены на Международной научно-практической конференции, посвящённой 100-летию Орловской биофабрики: «Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов для АПК» (Москва, 2018); Международной научно-практической конференции, посвящённой 50-летию института. Под редакцией А.Я. Самуйленко «Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов для АПК» (Щёлково, 2019). Международной научно – практической конференции, посвящённой 100-летию Армавирской биофабрики: «Научные основы

производства и обеспечения качества биологических препаратов» (Армавир, 2021); II Международной научно-практической конференции «Социально значимые инфекции сельскохозяйственных животных: меры профилактики и борьбы» (Москва-Ереван, 2023).

**Публикация результатов исследований.** По материалам диссертационной работы опубликовано 8 научных работ, в т. ч. 2 в журналах, рекомендованных *Scopus*, 6 – в журналах рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

**Личный вклад автора.** При выполнении научного исследования личный вклад диссертанта составил более 90,0 %. Автору принадлежат организация и непосредственное осуществление клинических, гематологических, биохимических, иммунологических, морфологических исследований; изучение количественного и видового состава, фенотипических признаков, связанных с плазмидами вирулентности и чувствительности к антибактериальным препаратам энтеробактерий; анализ результатов исследований и обработка полученных данных.

**Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа оформлена в соответствии с ГОСТ Р 7.0.11–2011 и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, библиографии, приложений; изложена на 156 страницах компьютерного текста. Диссертационная работа иллюстрирована 25 таблицами, 31 рисунком. Библиографический список включает 219 источников, из них 80 иностранных автора.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

- результаты исследований клинических признаков, гематологических, биохимических, иммунологических показателей, активности энтерокиназы, эластазы, щелочной фосфатазы, концентрации ионов кальция, магния, натрия, хлора, калия, химотрипсина, уксусной, пропионовой, масляной кислот, рН среды;
- результаты исследований динамики морфологических изменений при диссеминации патогенных энтеробактерий в ткани и органы ягнят;

– результаты исследований количественного и видового состава, фенотипических признаков, связанных с плазмидами вирулентности и чувствительности к антибактериальным препаратам энтеробактерий, вызывающих массовые желудочно-кишечные болезни ягнят, циркулирующих в помещениях животноводческих хозяйств и выделенных из пищевого сырья.

## Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Этиологическая структура болезней органов пищеварения ягнят, вызываемых патогенными энтеробактериями

Результаты многолетних исследований эпизоотического процесса при патологиях различного генеза свидетельствуют о возрастании доли факторных инфекционных болезней, этиологическая структура которых представлена убиквитарными микроорганизмами, формирующими моновидовые и поливидовые биопленки в полостных органах дыхательной, пищеварительной, выделительной и репродуктивной системы животных, а также объектах внешней среды объектов животноводства, пищевых и биотехнологических производств (Ленченко Е.М. и соавт., 2013; Ленченко Е.М., Сачивкина Н.П., 2020).

Установлена тенденция возрастания индекса эпизоотичности (1,0), коэффициента очаговости (18,97), летальности (100,0 %), недостаточная эффективность диагностических и противоэпизоотических мероприятий обуславливает наличие сопряженных очагов и угрозы формирования энзоотичной зоны (Ленченко Е.М. и соавт., 2017).

В структуре неонатальной патологии существенное место занимают болезни, клинически проявляющиеся диареей, дегидратацией, токсемией, в частности, смертность ягнят достигает 60,0 – 90,0 % от общего падежа овец (Латышев С.Н., 2009; D. Vandekerchove et al., 2010; Шевченко А.А. и соавт., 2016; Ленченко Е.М. и соавт., 2017; Манжурина О.А. и соавт., 2018; Kumar S. et al., 2018).

Нозологический профиль инфекционных болезней овец и коз представлен сальмонеллезом, эшерихиозом, энтеротоксемией, брадзотом, некробактериозом, листериозом, показатели летальности овец достигают 18,7 – 73,5 % (Густокашин К.А., 2001; Sushma V. et al., 2020; Kjelstrup, С.К. et al., 2021).

При мониторинге инфекционных болезней животных на территории РФ за период 1982-2006 г. выделено 1768 штаммов патогенных бактерий, из которых от овец – 208 (11,7 %). Из общего числа выделенных патогенных бактерий были

выявлены возбудители эшерихиоза – 23 (11,0 %), листериоза – 110 (52,0 %), инфекционной энтеротоксемии – 77 (37,0 %) (Третьяков А.М., 2011). Из общего числа изолятов, выделенных при патологии молодняка сельскохозяйственных животных, грамотрицательные бактерии представляли собой подавляющее большинство, частота встречаемости которых достигала 94,6 %, патогенные энтеробактерии составляли 65,5 % (Abdulahi S.R. et al., 2020). Микроорганизмы: *E.coli* (65,4 %); *Proteus spp.* (18,1 %); *Klebsiella spp.* (12,2 %); *Salmonella spp.* (4,3 %), формирующие биоплёнки являлись этиологическим фактором пневмонии, пневмоэнтерита, гастрита, энтерита, гепатита погибших ягнят (Sushma V. et al., 2018).

Доминирующая часть эпизоотических энтеробактерий, выделенных от молодняка сельскохозяйственных животных (64 из 86 изолятов), идентифицировали как *Escherichia coli*, из которых 42 не серотипировались по O-антигену, 35,0 % являлись патогенными и 65,0 % — непатогенными. Токсигенность выявлена у 53,9 % изолятов: умеренно токсигенными и слаботоксигенными свойствами характеризовались 15,4 и 38,5 % изолятов, соответственно; нетоксигенными – 46,1% (Ленченко Е.М. и соавт., 2014).

Эшерихиозом заболевают в основном новорожденные животные, поросята и ягнята в послеотъемный период, предрасполагающими факторами является агамма- или гипогаммаглобулинемия, обусловленные неполноценностью молозива от неподготовленных беременных маток (Пирожков М.К. и соавт., 2016).

Установлено около 180 серологических групп *E.coli* по O-антигену, 108 – K-антиген, 59 – H-антиген; гомология нуклеотидных последовательностей бактерий? 79,0 – 92,0 % обуславливает сложности серологической идентификация и молекулярно-генетическую диагностику эшерихиоза (Самуйленко А.Я. и соавт., 2009; Пирожков М.К. и соавт., 2016).

Серотипирование *E. coli* по O-антигену затруднено из-за узкого спектра и невысокой чувствительности существующих наборов O-коли сывороток, в частности по O-серогруппе не удалось типировать 19,0 % изолятов *E. coli*, выделенных от ягнят (Ленченко Е.М., 2020).

В составе микробиоценозов кишечника ягнят установлено доминирование токсигенных биоплёнкообразующих энтеробактерий, в том числе: *E. coli* (66,7 %): O78 (14,2 %), O20 (42,9 %), O101 (42,9 %); *Enterobacter cloacae* (11,1 %); *Raoultella planticola* (11,1 %) (рис. 1).

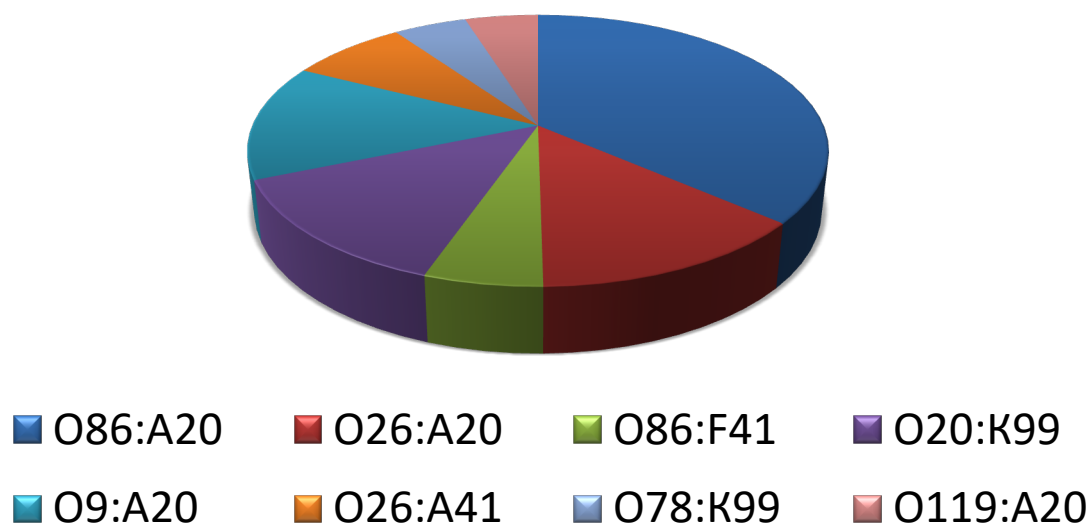


Рис. 1. Этиологическая структура эшерихиоза ягнят

Продукция термостабильного и термолабильного токсина обнаружена у изолятов *E. coli*, соматический антиген: O4; O6; O8, O9; O11; O15; O20; O25; O26, O27; O63; O78; O80; O85; O101; O115; O117, O119, O128; O139; O141; O148; O149; O153; O159; O167; O173, цитотоксины – O26; O55; O111; O113; O117 и O157 (Ленченко Е.М. и соавт., 2013).

Глобальная проблема возникновения указанных патологий обусловлена снижением иммунного статуса животных при содержании на ограниченном содержании, нарушением норм кормления и бесконтрольном применении химиотерапевтических и дезинфицирующих препаратов (Шабунин С.В., 2015; Е.М. Ленченко, 2013, 2017; Макаров В.В. и соавт., 2019; Сидорчук А.А. и соавт., 2021).

В первые дни жизни кишечник животных наиболее активно колонизируют эшерихии, энтерококки и некоторые другие аэробные бактерии. С 4-5 суток жизни их количество начинает снижаться, что связано с увеличением численности лактобактерий, затем бифидобактерий. Становление кишечной микрофлоры у

животных завершается к 15-20-дневному возрасту. Кишечный нормобиоз характеризуется доминирующей численностью бифидобактерий ( $7,3 + 0,88 - 9,1 + 0,82$  lg/г), вторую либо третью по численности группу составляют лактобактерии или эшерихии ( $6,8 + 0,51 - 8,2 + 0,63$  lg/г и  $7,3 + 0,63 - 8,7 + 0,58$  lg/г, соответственно), четвертую – энтерококки ( $6,4 + 0,43 - 7,1 \pm 0,63$  lg/г), пятую – спорообразующие аэробные бактерии ( $3,0 + 0,75 - 5,6 + 0,74$  lg/г (Субботин В.В., 1999).

Удельный вес биотопов кишечника ягнят составлял: 25,8 % микроорганизмы *Bifidobacterium spp.*, 20,9 % – *Lactobacillus spp.*, *Escherichia spp.* (*E.coli*) – 18,9 %, *Enterococcus spp.* – 14,5 %, представители *Bacillus spp.* – 13,7 %, *Candida spp.* – 6,2 %. Снижение концентрации бифидобактерий, лактобактерий, кишечной палочки и энтерококков, приводило к увеличению содержания кандид, что отчетливо проявлялось в биотопах новорожденных ягнят молозивного и молочного периодов питания (Усачев И.И., 2014).

У ягнят суточного возраста концентрация микроорганизмов рода *Bifidobacterium* в химусе слепой, ободочной и прямой кишках составляла:  $5,0 \pm 0,1$  lg КОЕ/г.мат.;  $6,2 \pm 0,2$  lg КОЕ/г.мат.;  $5,4 \pm 0,2$  lg КОЕ/г.мат., соответственно для каждой кишки. Второе место занимали микроорганизмы *E.coli* –  $9,4 \pm 0,6$  lg КОЕ/г.мат. Содержание микроорганизмов рода *Lactobacillus* так же увеличивалось с возрастом ягнят, наиболее высокие количественные показатели в слепой, ободочной и прямой кишках установлены у животных 15 – суточного возраста  $7,4 \pm 0,2$  lg КОЕ/г.мат.,  $8,0 \pm 0,1$  lg КОЕ/г.мат.,  $8,2 \pm 0,2$  lg КОЕ/г.мат., соответственно. (Каничева И.В., 2012).

В слизистой оболочке и содержимом ободочной кишки преобладающие величины принадлежат родам *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Esherishia* (*E. coli*), суммарное содержание которых находилось в пределах 73,9 % – 88,8 %. Бактерии рода *Enterococcus*, аэробные спорообразующие бациллы и грибы рода *Candida* составляли долю, равную 12,2 % – 26,1 % (И.В. Каничева и соавт., 2016). Колонизационная резистентность слизистой оболочки органов дыхательной, пищеварительной, половой системы обеспечивает регулирование хронических

форм течения пневмонии, гастрита, энтерита, гепатита, обеспечивая защиту от формирования биоплёнок патогенов, включая *Yersinia enterocolitica*, *Shigella spp.*, *Salmonella spp.*, *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.* (Ленченко Е.М., 1996; Ленченко Е.М., 2014; Sicard J–F. et. al., 2017; Sushma V. et al., 2018).

Снижение колонизационной резистентности кишечника животных раннего постнатального периода приводило к нарушениям популяционного состава эволюционно – сложившихся микробиоценозов, установлено доминирование условно-патогенных микроорганизмов (Усачев И.И., 2014).

Удельный вес биотопов кишечника новорожденных ягнят, больных гастроэнтеритом составил: *Escherichia coli* –  $12,6 \times 10^8$ , *Klebsiella pneumoniae* –  $5,9 \times 10^6$ , *Citrobacter freundii* –  $3,7 \times 10^6$ , *Enterobacter cloacae* –  $1,8 \times 10^4$ , *Morganella morganii* –  $3,7 \times 10^5$ , *Proteus vulgaris* –  $1,0 \times 10^2$ , *Staphylococcus epidermidis* –  $2,9 \times 10^5$  (Курятова Е.В., 2018).

Изменения микробиоценозов кишечника характеризовалось увеличением числа бактерий, обладающих низкой лактазной активностью или проявляющих гемолитические свойства (14,7–32,3 %), уменьшалось популяционное число бактерий *E.coli*, сбрасывающих лактозу (9,7–11,5 %) и *Bifidobacterium spp.* ( $10^{-5}$ ) (Ленченко Е.М., Ванина Н.Н., 2014, Mannarova R.T. et al., 2018).

Патологические процессы органов пищеварения сопровождаются повышением уровня условно–патогенных микроорганизмов, главным образом токсигенных штаммов энтеробактерий, инициирующих воспалительные процессы, смену температурного режима, изменение рН рубцового содержимого, нарушение газообмена, моторики преджелудков и развитие гнилостных процессов в рубце (Сыса С.А., 2017).

Баугиниевая заслонка, разделяющая биотопы подвздошной и слепой кишок, обеспечивает однонаправленный пассаж кишечного содержимого, недостаточность баугиниевой заслонки приводит к колонизации тонкой кишки атипичными микроорганизмами с развитием гнилостных и бродильных процессов, хронической аутоинтоксикации организма (Клеменов А.В., 2008).

Патогенез синдрома избыточного бактериального роста характеризуется бактериальной транслокацией, ускоренной деконъюгацией желчных кислот, прямым цито – токсическим влиянием на энтероциты, активизацией гуморальных механизмов альтернативного воспаления в оболочках кишечника, нейрогуморальной дисрегуляцией (Мартынов В.Л., 2015).

Возбудители инфекционных болезней бактериальной этиологии являются доминирующими на начальных стадиях развития патологического процесса за счет отсутствия адгезинов, вызывающих активацию иммунных реакций (Alugongo G.M. et al., 2017).

Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками полостных органов, отвечает за обеспечение иммунитета, иммунные реакции координируются и иницируют стимуляцию лимфоцитов, секрецию цитокинов и активацию иммунных клеток (Wallace L.G. et al., 2017). При развитии инфекционного процесса в органах иммунной системы ягнят отмечали массовый распад лимфоцитов по типу кариорексиса и кариопикноза, макрофагальную реакцию, отек рыхлой соединительной ткани с инфильтрацией лейкоцитами (René Y. K. et al., 2019).

Иммунологическая реакция организма зависит от врожденных или приобретенных иммунодефицитов, негативные последствия широкого и бесконтрольного применения антибиотиков выразились в нарастании множественной лекарственной резистентности возбудителей, а также дополнительной нагрузке на иммунную систему (Skibieli A.L. et al., 2020).

Снижение колонизационной резистентности слизистых оболочек органов дыхания и пищеварения животных, формирование биоплёнок патогенных микроорганизмов приводят к снижению эффективности химиотерапевтических препаратов, формируются полирезистентные формы микроорганизмов (Ленченко Е. М. и соавт., 2017). Из числа полирезистентных штаммов микроорганизмов, наиболее актуальными и опасными признаны условно-патогенные микроорганизмы «ESKAPE» – *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.* (Rise L.B., 2008).

На территории 204 стран мира в 2019 г. было зарегистрировано 1,27 млн смертей, напрямую связанных с устойчивостью бактерий к антибактериальным препаратам, этиологическим фактором являлись шесть ведущих полирезистентных патогенов – *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa* (Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. 2022. Режим доступа: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(21\)02724-0/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(21)02724-0/fulltext))

Множественная продукция  $\beta$ -лактамаз наблюдалась у 21,52 % изолятов, установлено одновременное продуцирование 2 и/или 3  $\beta$ -лактамаз, устойчивость к  $\beta$ -лактамам антибиотикам достигала 21,94 % – имипенем, 5,49 % – полимиксин (Tankhiwale S., Nagar H., 2016). Гены расширенного спектра  $\beta$ -лактамаз были выявлены у 93,4 % изолятов, у 100,0 % штаммов обнаруживали два генетических фактора вирулентности (Fangjun C. et al., 2018). Изоляты *E.coli*, выделенные при болезнях органов пищеварения ягнят, были устойчивы к тетрациклину (87,9 %); *Salmonella spp.* к полимиксину В (50,3 %), тетрациклину (55,7 %), амоксиклаву (79,6 %), ампициллину (79,8 %); *Klebsiella spp.* к амоксиклаву (52,2 %); *Proteus spp.* к полимиксину В (49,9 %), тетрациклину (51,0 %) и амоксиклаву (68,1 %).

Развитие множественной антибиотикорезистентности обусловлено наличием генов, кодирующих ферменты, придающих бактериям устойчивость к антибактериальным препаратам, в частности, в хромосомной молекуле ДНК и R-плазмидах, выявлены гены, кодирующие факторы вирулентности и антибиотикорезистентности, заимствованные от патогенов других биологических видов (Забровская А.В. и соавт., 2019). Идентифицированы плазмиды вирулентности, кодирующие устойчивость к антибактериальным препаратам: тетрациклину (*tetA* – 53,0 %), сульфонамидами (*sul2* – 21,5 %; *sul3* – 11,7 %), стрептомицину (*strA* – 19,6 %; *strB* – 19,6 %), аминогликозидам (*aph(6)-Id* – 15,6 %; *aph(3'')-Ib* – 11,7 %; *aadA1* – 11,7 %; *aadA2* – 2,0 %),  $\beta$ -лактамам (*blaTEM-1B* – 9,8 %), четвертичному аммоний (*qacL* – 5,8 %), хинолонам (*qnrS1* – 5,8 %) и триметоприму (*dfrA14* – 4,0 %) (Kjelstrup C.K. et al., 2020).

Из 36 культур микроорганизмов *S. Typhimurium*, *S. Berta* и *S. Virchow*, выделенных при диарее ягнят, выявлено 10 плазмид вирулентности: *sopD* и *ssaR* – 97,2 % изолятов; *sopB* – 63,9 %; *sopA* – 58,3 %, *spvC* – 55,6 % (Wei B. et al., 2020). Механизмы приобретенной устойчивости появляются в результате горизонтального переноса генов, включают специфические эффлюксные насосы, снижение проницаемости клеточной стенки, инактивация антибиотика, модификация или защита мишени (Прунтова О.В. и соавт., 2022; Светоч А.В. и соавт., 2017)

При многократных пассажах антибиотикорезистентных штаммов возбудителей инфекционных болезней через восприимчивый организм млекопитающих и птиц персистенция микроорганизмов сопровождается контаминацией пищевого сырья. Установлена отрицательная корреляционная зависимость,  $r = -0,86$  между эпидемиологическими показателями заболеваемости острой формой кишечной инфекции и числом исследований сельскохозяйственной продукции (Дружаева Н.А., 2014). В частности, 30,7 % проб мяса были контаминированы бактериями рода *Salmonella*, в том числе *S. typhimurium* – 11,3 %, *S. enteritidis* – 9,4 % (Ленченко Е.М. и соавт., 2017). Из 720 проб мяса 57,64 % контаминированы антибиотикорезистентными штаммами *Salmonella spp.*, наиболее часто идентифицируемыми сероварами из проб мяса мелкого рогатого скота и свиней являлись *S. Anatum* и *S. Saintpaul*; птиц – *S. Anatum*, *S. Kentucky* (Ball T. et al., 2020).

Возбудителями инфекционных болезней животных являются 27 нозологических единиц, из числа которых патогенные бактерии составляют 60–70,0 %, микроскопические грибы – 4,0–6,0 % (Ленченко Е.М., Сачивкина Н.П., 2020). Это определяет вертикальную передачу до 55,0 % возбудителей болезней, общих для человека и животных через продукцию сельского хозяйства. Преобладающий способ передачи – алиментарный, 56,3 %; источник – домашние и дикие животные, 33,3–64,6 %; факторы передачи – объекты внешней среды, 2,1 % (Густокашин К.А., 2001).

## 1.2. Формирование биоплёнок энтеробактерий, как фактор патогенности

В структуре инфекционной патологии значительную долю составляют хронически протекающие заболевания, вызываемые бактериями, составной частью жизненного цикла, которых является формирование биопленок (Cadavid E., 2018, Borges K.A. et al., 2018). В свете современных данных биопленка – многоклеточное сообщество, состоящее из клеток, адгезированных к поверхности и объединенных внеклеточным полисахаридным матриксом, характерным является изменение параметров роста и экспрессии специфических генов по сравнению с планктонными бактериями (Ленченко Е.М., 1996; Lenchenko E.M. et al., 2019). Микроорганизмы составляют около 10,0–15,0 % массы биоплёнок, остальная часть – межклеточный матрикс из воды, экзополисахаридов, протеинов, липидов, нуклеиновых и тейхоевых кислот (Lenchenko E.M. et al., 2019; Surgers L. et al., 2019).

Для исследования биопленок используются динамические и статические методы культивирования микроорганизмов *in vitro* и *in vivo*, позволяющих определять компоненты экстрацеллюлярного матрикса, структуру, уровень экспрессии генов при формировании биопленок микроорганизмов (Ленченко Е.М., 1996, 2000). Разработаны способы подготовки препаратов для оптической и сканирующей электронной микроскопии, позволяющие оценить степень образования и морфологический состав биопленок, без нарушения естественной архитектоники популяций микроорганизмов. При фазово-контрастной микроскопии выявлены процессы, в зависимости от состава среды и содержания кислорода в среде культивирования, установлена агрегация подвижных клеток, вместе с тем, клетки мутантов, лишённые полярных жгутиков, не обладали способностью к подобной быстрой агрегации (Филипьева Ю. А. и соавт., 2018; Crouch C.F. et al., 2020). При конфокальной микроскопии трехмерные изображения биопленок, позволяют выявить структуру биоплёнки, динамику и скорость процесса осаждения клеток, также позволяют определить коэффициент шероховатости поверхности биоплёнки (J. Xiaofan, H.R. Ingmar, 2020).

Формирование биопленки происходит линейно, включая ряд различных этапов: адгезия (сорбция); фиксация; созревание; рост; дисперсия (Ленченко Е.М., Антонова А.Н., 2017; Acemel R.D. et al., 2018; Brandon V.C. et al., 2018; Lenchenko E.M. et al., 2019). Высокий адгезивный потенциал является одним из ключевых факторов при формировании архитектоники биоплёнки (Ленченко Е. М. и соавт., 2014, 2017, 2019; Сачивкина Н.П. и соавт., 2019; Sachivkina N., 2018; Lenchenko E.M. et al., 2019).

При образовании биоплёнок штаммами *Salmonella enterica* выявлялась положительная корреляция между общим биологическим объемом биопленки и биологическим объемом живых клеток, белков и  $\beta$ -полисахаридов, которые могут служить маркерами образования биопленки. Положительная корреляция (от 0,630 до 0,941;  $P < 0,01$ ) была обнаружена между биобъемом, охватом поверхности, максимальной толщиной и средней толщиной биопленок (Camino G.M. et al., 2020). Переход к этапу необратимого прикрепления может вести за собой множество предшествующих стадий прикрепления и открепления клетки от поверхности субстрата (Armbruster C.R., Parsek M.R., 2018). В процессе формирования биопленки клетки микроорганизмов образуют микроколонии. Гиперфиламентный фенотип *C.albicans* характеризуется высокими показателями адгезии (более 10,0 раз) и значительным снижением скорости дисперсии (McCall A.D. et al., 2019). Адсорбция и адгезия, фиксация базальных слоев дрожжевых форм с ранним развитием гиф и матрикса способствовали увеличению биомассы дрожжей, гиф, псевдогиф, внеклеточного матрикса и водных каналов, способствующих движению питательных веществ и диссеминации клеток, причем филаментация непосредственно связана с увеличением сжимающей силы биопленок *Candida spp.* (Сачивкина Н.П., Ленченко Е.М., Марахова А.И., 2019).

Формирование гетерогенной структуры биопленок *C. albicans* представляет собой многоэтапный процесс, формирование трехмерной структуры биопленки выявлялось через 38–72 ч в виде плотной сети, состоящей из дрожжевых клеток, гифальных и псевдогифальных форм, окружённых межклеточным полимерным матриксом (Chandra, J. et al., 2001).

Морфофункциональную стабильность биоплёнок *C.albicans* обеспечивали дрожжевые и гифальные формы, процесс образования проростковых обеспечивает развитие межклеточного матрикса (Sachivkina N., Lenchenko E., et al., 2018; Сачивкина Н.П., Ленченко Е.М., 2019).

Гифы *Candida spp.* обеспечивали гипоксическую среду, как для дрожжевых форм грибов, так и бактерий *E. coli* (Сачивкина Н.П., Ленченко Е.М., Марахова А.И., 2019). Между синтезом межклеточного матрикса и наличием планктонных клеток установлена прямая корреляционная зависимость морфологических и денситометрических показателей *Candida spp.* при эндогенной инфекции свиней, латентной форме и остром кандидозе собак (Сачивкина Н.П., Ленченко Е.М., Лисейцев А.В., 2018; Сачивкина Н.П., Ленченко Е.М., Хайтович А. Б., 2018).

Факторы вирулентности *Candida spp.* реализуются за счет адгезии, инвазии, секреции гидролаз, диморфизма – трансформация с дрожжевой формы в гифальную, способствуют диссеминации – дрожжевые формы и инвазии – гифы (Хайтович А.Б., Гаффарова А.С., 2016). Экзоцеллярный матрикс, диморфный рост, наличие гиф *Candida spp.* способствовали увеличению биомассы биоплёнок *S. perfringens*, *B. fragilis* при совместном культивировании грибов и бактерий, тогда как при отсутствии грибов жизнеспособность бактерий снижалась (Fox E.P. et al., 2014).

Установлены прямые коррелятивные зависимости между дисперсией биопленок и пролиферацией микроорганизмов в эпителиальный и соединительнотканый слой дермы (Ленченко Е.М. и соавт., 2014). Дисперсия клеток в кластере происходит пассивно в результате напряжения сдвига, а не в результате рассеивания, вызванного сигналом регулятора транскрипции, контролирующего дисперсию (Kaneko Y. et al., 2013). Снижение интенсивности метаболизма обеспечивается экзополисахаридами биопленок, при реализации активности факторов вирулентности, кодируемыми хромосомными, плазмидными генами и интегрированными в хромосому бактериофагами (Ленченко Е.М. и соавт., 2014; Андрюков Б.Г., 2018; Lenchenko E.M. et al, 2019).

Из 47 изолятов *Candida spp.* наиболее часто встречающийся праймер полиморфизма – «*OPA 9*», коэффициент сходства достигал 95,0 %, выявлено 6 кластеров, в том числе изоляты *C.albicans* – возбудители вагинита (Ruiz, A.C. et al., 2009).

Длительность и ретроспективность исследований сопряжены с изменчивостью фенотипических признаков, вариабельностью поверхностных антигенов, селекцией и трансмиссией генетических элементов (Ленченко Е.М., 1996; Скородумов Д.И. и соавт., 2012; Varecca S.C. et. al., 2016; Kondakova, I. A. et. al., 2016). Мутация в генах, участвующих в процессе дисперсии, вызывает гиперагрегацию биопленок, снижению процессов метаболизма и переходу популяции в «некультивируемое состояние» (Ленченко Е.М., Антонова А.Н., 2017; Floyd K.A. et al., 2019; Lenchenko E.M. et al., 2019). При некультивируемом состоянии популяций микроорганизмов дифференцировали: кокковидные формы, мембранные пузырьки (везикулы), клетки с дефектной клеточной стенкой, сферопласты, протопласты, L-формы, иголючатые и гигантские структуры, клетки-ревертанты (Ленченко Е.М., 1996; Ленченко Е.М., 2000).

Для детекции жизнеспособных микроорганизмов в составе гетерогенной популяции микроорганизмов *in vitro* и *in vivo* установлена эффективность инструментальных способов, в том числе флуоресцентная, проточная цитометрия, конфокальная сканирующая лазерная микроскопия (Ленченко Е.М. и соавт., 2014; Cai Y. et al., 2018; Chandra J. et. al., 2001; Lenchenko E.M. et al., 2019; Cadavid E. et al., 2019).

Разработан и осуществлен новый подход в изучении экологии и биологии энтеробактерий – использование комплекса электронно-микроскопических и морфометрических методов в сочетании с бактериологическими и гистологическими исследованиями – для выявления факторов патогенности (адгезивности, инвазивности, цитотоксичности), внутрипопуляционной изменчивости энтеробактерий *in vivo* и *in vitro*, пределов адаптации бактерий к изменяющимся условиям среды обитания (Ленченко Е.М., 1996; Ленченко Е.М., 2000; Ленченко, Е.М. и соавт., 2014).

Показатели абсолютных величин оптической плотности биоплёнки различные: слабые продуценты биопленок,  $D \leq 0,197$  – *Y. enterocolitica* R-форма; умеренные продуценты биопленок,  $D=0,311-0,380$  – *S. enteritidis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *Y.pseudotuberculosis*; сильные продуценты биопленок – *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Mycobacterium B5*,  $D=0,699-1,510$  (Ленченко Е.М., Антонова А.Н, 2017).

Реализация патогенных свойств микроорганизмов, обеспечивается адгезивными свойствами, высокий адгезивный потенциал является одним из ключевых факторов при формировании архитектоники биоплёнки, характеризующейся увеличением оптической плотности, обуславливая множественную лекарственную устойчивость. (Ленченко Е. М. и соавт., 2014, 2017, 2019; Сачивкина Н.П. и соавт., 2019; Sachivkina N., 2018; Lenchenko E.M. et al., 2019). Положительная корреляционная зависимость наблюдается между продуцированием биопленок и профилем устойчивости к антибактериальным препаратам (Surgers L. et. al., 2019).

Установлено, что 57,1 % штаммов *K. pneumoniae* являлись сильными продуцентами биопленок (Surgers L. et.al., 2019). Выявлена прямая корреляция между способностью *K.pneumoniae*. образовывать биопленку и профилем устойчивости к антибактериальным препаратам: резистентные штаммы были отнесены к сильным продуцентам биоплёнок – 91,07 % (Vuotto C. et.al., 2017). Все изоляты *K.pneumoniae* были классифицированы как бактерии с множественной лекарственной устойчивостью, устойчивость к колистину, доксициклину, ципрофлоксацину и энрофлоксацину находилась в пределах от 18,2 до 90,9 % (Науати М. et al., 2019). Гипервирулентный изолят *K.pneumoniae* (hvKP), продуцирующий слизь, являлся сильным продуцентом биоплёнок ( $OD=576 \pm 0,12$ ), экзополисахариды препятствовали диффузии химиотерапевтических препаратов, являлись фактором иммуносупрессии (Kong Q. et al., 2012). Бактерии *S. enteritidis*, изолированные из проб свиных отходов свиноккомплексов, проявляли устойчивость к сульфаметоксазолу: в сырых отходах было обнаружено 46,0 % устойчивых изолятов, в пробах сточных вод – 85,0 % (Casanova L.M. et al., 2020).

Из 720 проб мяса 57,64 % контаминированы антибиотикорезистентными штаммами *Salmonella spp.*, наиболее часто идентифицируемыми сероварами из проб мяса крупного рогатого скота и свиней являлись *S. Anatum* и *S. Saintpaul*; птиц – *S. Anatum*, *S. Kentucky* (Santos P.D.M. et al., 2020). Выделенные из мяса 87 штаммов *S. infantis*, являлись сильными продуцентами биопленок, средний показатель оптической плотности –  $0,42 \pm 0,17$  (Pate M. et al., 2019).

Микроорганизмы способны колонизировать поверхность оборудования на линии переработки мясоперерабатывающих предприятий (*Salmonella spp* – 88,46 %) и сохранять жизнеспособность благодаря образованию биоплёнок (Nidaullah H. et al., 2017). На поверхности оборудования пищевых производств полирезистентные штаммы *Salmonella spp.*, *Listeria spp.*, *Staphylococcus spp.* и *Enterococcus spp.*, выделенные из пищевого сырья, формировали биоплёнки, положительная корреляционная зависимость ( $r=0,94$ ) установлена между биологическим объемом ( $182704,31 - 238200,56$  мкм<sup>3</sup>) и поверхностным натяжением субстрата (24,58–99,95 %) (Rodríguez-Melcón C. et al., 2018).

При изучении устойчивости к антибактериальным препаратам 51 изолята сальмонелл, выделенных из 379 проб окружающей среды на мясоперерабатывающих предприятиях, серовар *Salmonella enterica* 32/51 (62,7 %) был устойчив к одному антибактериальному препарату, 10/51 (19,6 %) изолятов демонстрировали множественную лекарственную устойчивость.

С помощью ПЦР идентифицировано пять плазмид вирулентности, включая IncFIIIS 17/51 (33,3 %), IncI1 $\alpha$  12/51 (23,5 %), IncP 8/51 (15,7 %), IncX1 8/51 (15,7 %) и IncX2 1/51 (2,0 %) (Ball T. Et al., 2020). Гены расширенного спектра бета-лактамаз были выявлены у 93,4 % изолятов выделенных из мазков носовой полости животных, у 100,0 % штаммов обнаруживали два генетических фактора вирулентности (Fangjun C. et al., 2018). Созревание биоплёнки сопровождается кратным увеличением резистентности к антисептикам входящих в состав бактерий, антибактериальное воздействие на одновидовую биоплёнку, *S.aureus*, было слабее, чем на одновидовую биоплёнку *P.aeruginosa* ( $p=0,003$ ) или двухвидовую биоплёнку ( $p=0,040$ ) (Li Q. et al., 2020).

### 1.3. Дифференциальная диагностика болезней органов пищеварения, вызываемых патогенными энтеробактериями

Из общего числа болезней органов пищеварения, вызываемых патогенными энтеробактериями, основными нозологическими единицами являются сальмонеллез и эшерихиоз. Диагностику проводят в соответствии с методическими указаниями «Лабораторная диагностика сальмонеллезов человека и животных, обнаружения сальмонелл в кормах, продуктах питания и объектах внешней среды» (М., 1990) и «Методическими указаниями по бактериологической диагностике колибактериоза (эшерихиоза) животных» (М., 2000). Этиологическим фактором указанных патологий также могут являться микроорганизмы *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, *Morganella spp.*, *Providencia spp.*, *Yersinia spp.* При подозрении на наличие указанных возбудителей, исследования проводят в соответствии с «Методическими указаниями по бактериологической диагностике смешанной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемой патогенными энтеробактериями» (М., 1999). Диагноз устанавливают на основании эпизоотологических, клинических, патологоанатомических и бактериологических данных. Окончательный диагноз устанавливают на основании результатов бактериологических исследований (Макаров В.В. и соавт., 2021).

*Клинические признаки.* Сальмонеллез характеризуется острым, подострым и хроническим течением, у взрослых животных наблюдается латентная форма. Острое течение характерно на начальных этапах энзоотического процесса у молодняка, наблюдается отказ от корма, синюшность кожи и слизистых оболочек, общее повышение температуры, профузная диарея (Жаров А.В., 1999). Подострое течение характеризуется отсутствием аппетита, постоянной жаждой, анорексией, спорадическими изменениями температуры тела, пневмонией, диареей чередующейся с закупоркой кишечника. Для ягнят старшего возраста характерна хроническая форма течения болезни. Отмечают отставание в развитии, прогрессирующую анорексию, кожа и слизистые оболочки серого цвета, анемичны, тургор снижен, признаки диареи непостоянны (Салимов В.А., 2013).

При анемии новорожденных животных установлена повышенная концентрация метгемоглобина в 6,10–6,72 раз, эритропения –  $4,44 \pm 0,15$  Т/л, олигохромемия –  $90,0 \pm 5,4$  г/л, снижение гематокритной величины –  $0,247 \pm 0,011$  л/л; одновременно с изменениями эритропоеза наблюдался выраженный иммунодефицит, проявляющийся снижением общего количества Т-лимфоцитов на 21,1 % и В-лимфоцитов на 20,95 %, снижение уровня иммуноглобулинов: Ig G – 22,5 %, Ig M – 17,3 %, Ig A – 20,2 % (Ковалев С.П., 1999).

Латентная форма течения болезни овцематок характеризуется снижением показателей плодовитости, абортами (Seimiya Y., 1992). Нарушения физиологического статуса суягных овцематок приводило к дистрофическим изменениям новорожденных ягнят, проявляющихся нарушением деятельности центральной нервной системы – тремор мышц, судороги, отсутствием координации, растяжением головы и конечностей; гематологические показатели характеризовались наличием эритропении –  $6,8 \pm 0,47 \cdot 10^{12}$ /л, олигохромемии –  $8,6 \pm 0,18$  г%, гипопротеемии –  $58,3 \pm 0,56$  г/л, гипокальциемии –  $0,91 \pm 0,04$  ммоль/л и гипокупремии –  $6,03 \pm 0,22$  ммоль/л (Раднатаров В.Д. и соавт., 2019).

Эшерихиоз ягнят периода раннего постнатального онтогенеза до 10 суток протекает в виде сверхострого течения, продолжительностью от нескольких часов до двух суток, острое течение – 3–4 сут; подострое – 7–10 сут (Кудряшов А.А., 1990). Высокоупитанные особи заболевают первыми, клинические признаки проявляются в виде нарушений деятельности нервной системы, отёк головы и брюшины (Шацкий А.Д., Кравцевич В.П., 2016).

При смешанной кишечной инфекции наблюдается профузный понос, фекалии жидкие, зловонные серо-белые или коричнево-серые с наличием пузырьков газа или слизи со зловонным запахом. У больных животных наблюдается потеря аппетита, нарастающая слабость, адинамия, синюшность ушей, живота, паха, нарушение сердечной деятельности, учащенное и поверхностное дыхание, интоксикация. Поражение центральной нервной системы характеризуется депрессией, сменяющейся возбуждением, животное встает и ложится, отмечают судороги, парезы и параличи конечностей, (Иванов А.И., 1995).

Хроническое течение характеризуется эксикозом, анорексией, отеком головы, шеи, подгрудка, конъюнктивитом, истечениями из носовой полости, легочными явлениями и артритом (Кудряшов А.А., 1990).

*Патологоанатомические изменения.* Острое течение сальмонеллеза характеризуется изменениями органов сердечно-сосудистой, кроветворной и пищеварительной системы. Наблюдается острая венозная гиперемия кожи, катарально-гнойная, реже крупозная пневмония, серозно-фибринозный плеврит, перикардит. Диапедезные кровоизлияния слизистой оболочки плевры, эпикарда, пищеварительного тракта. Зернистая дистрофия паренхиматозных органов, очаги наркотизации печени. Серозное или геморрагическое воспаление брыжеечных, бронхиальных, средостенных и портальных лимфоузлов. Селезенка увеличена синевато-красного цвета, упругая, края притуплены, на разрезе зернистая. Катар слизистой оболочки органов пищеварительной системы, катарально-геморрагическое воспаление тощей, подвздошной, слепой и ободочной кишки (Салимов В.А., 2001).

Подострое течение болезни характеризуется истощением и обезвоживанием, наличием перикардита, признаками бронхопневмонии, серозно-фибринозным плевритом. Отмечают катар слизистой оболочки желудка и кишечника. Пейеровы бляшки и солитарные фолликулы в состоянии гиперплазии. Наблюдается гиперпластический лимфаденит, спленит, в почках и печени отмечают дистрофические процессы, некротические очаги и гранулемы (Жаров А.В., 1999).

Хроническое течение инфекционного процесса характеризуется катарально-гнойной и крупозной пневмонией легких, фибринозным плевритом, перикардитом. Лимфатические узлы воспалены, на разрезе сочные, однородные, иногда с очагами казеозного некроза. Селезенка в состоянии гиперплазии, тимус атрофирован (Каврук Л.С., 1994).

Поражение толстого отдела кишечника характеризуется очаговым или диффузным дифтеритическим тифлитом и колитом, брыжейка отечная. Отмечают гранулемы слизистой оболочки тощей, подвздошной, слепой кишки и илеоцекального клапана (Жаров А.В., 1981).

Течение эшерихиоза для гипотрофичных ягнят 2-3-х дневного возраста характеризуется проявлениями дегидратации, серозного-казеозного лимфаденита мезентеральных лимфатических узлов, острого катарального гастроэнтерита, дистрофическими явлениями печени (Салимов В.А., 2013).

Течение эшерихиоза ягнят без нарушений обмена веществ характеризуется сухостью и истончением подкожной жировой клетчатки, поперечнополосатая мускулатура атрофирована, кровеносные сосуды инъецированы миокард правого предсердия и желудочков гипертрофирован. Брыжеечные лимфоузлы гипертрофированы, при разрезе стекает пенная жидкость. В желудке и кишечнике отмечают катарально-геморрагическое воспаление, слизистую дистрофию и гиперемии оболочек тонкого кишечника. Печень гипертрофирована, желтовато-серая или буро-красная, почки – дряблые, бледно-серые с наличием кровоизлияний в корковом и мозговом слое (Seimiya Y., 1992).

Смешанная кишечная инфекция характеризуется наличием на эпи- и эндокарде в области клапанов точечных и пятнистых кровоизлияний. Поражения органов пищеварения характеризуются катаральным или катарально-геморрагическим гастроэнтеритом с наличием точечных, пятнистых и полосчатых кровоизлияний на слизистой оболочке тонкого и толстого отделов кишечника; мезентериальные лимфатические узлы увеличены, на разрезе сочные, красного или вишневого цвета. Кровеносные сосуды брызжейки инъецированы. В брюшной полости содержится серозный экссудат светло-желтого цвета, иногда с примесью крови. Печень перерождена, глинистого цвета, пульпа органа на разрезе дряблой консистенции. Селезенка с утолщенными краями или увеличена, с точечными кровоизлияниями под капсулой (Каврук Л. С., 1994).

*Дифференциальная диагностика.* Сальмонеллез и эшерихиоз следует дифференцировать от клостридиозов, спирохетоза, вибриоза, трансмиссивного гастроэнтерита, амебиаза и балантидиоза (Макаров В.В. и соавт., 2021).

Этиологическим фактором сальмонеллеза являются *S. choleraesuis*, *S. typhisuis*, *S. typhimurium*, *S. dublin*; эшерихиоз – *E. coli*; клостридиозы – *Clostridium perfringens* тип А, В и С; спирохетоз – *Serpulina (Treponema) hyodisenteria*; вибриоз

– *Vibrio suis*; трансмиссивного гастроэнтерит – *Transmissible gastroenteritis* (сем. *Coronaviridae*); амебиаз – *Entamoeba debleski*; балантидиоз – *Balantidium suis* (Сидорчук А.А. и соавт., 2021). К сальмонеллезу восприимчивыми являются ягнята в возрасте 2–3 недели и 4–6 месяцев; эшерихиозу – до 2–3 месяцев; клостридиозам – 8–12 суток и старше, анаэробной энтеротоксемии – от 2 до 7 суток; анаэробной дизентерии – новорожденные ягнята; спирохетозу и вибриозу – 2–3 месяца, после отъема, при переходе на другой корм; трансмиссивному гастроэнтериту – первые сутки и недели жизни; амебиазу и балантидиозу – 2–3 месяца, после отъема, при переходе на другой корм (Конопаткин А.А. и соавт., 1984).

Клинические признаки при злокачественном отеке проявляются в виде крепитации и опухолью плеч или конечностей, увеличением температуры тела, морфофункциональными изменениями органов сердечно-сосудистой системы, вульвитом, вагинитом, метритом и абортom. Патологоанатомические изменения при злокачественном отеке характеризуются гиперемией кожи в области пораженных участков, правая половина сердца гипертрофирована. Легкие, подкожная жировая клетчатка и мышечная ткань отечны с пузырьками газа, скелетная мускулатура размягчена. Селезенка гипертрофирована, лимфатические узлы воспалены, выявляют дистрофические явления печени и почек (Салимов В.А., 2013).

Анаэробная энтеротоксемия характеризуется нарушением деятельности нервной системы, отеками кожи и подкожной клетчатки, головы, шеи, стенки живота, кровеносные сосуды головного мозга инъецированы. Селезенка слегка увеличена, лимфатические узлы воспалены. Нарушение функции желудочно-кишечного тракта проявляется поносом, при этом *feces* с примесью крови и газа, катарально-геморрагическим, некротическим или язвенным гастроэнтеритом. Дегенеративные изменения отмечают в печени, гиперплазия почек, катарально-геморрагический эндометрит (Каврук Л. С., 1994).

При анаэробной дизентерии выявляют серозно-катаральный гастрит; в содержимом желудка свернувшееся молозиво; острый катарально-геморрагический или геморрагическо-язвенный гастроэнтерит; в тонком

кишечнике – ослизнение, изъязвление, язвы с бахромчатыми краями, фибринозный перитонит, гепатоз печени, почки увеличены в размере (Конопаткин А.А. и соавт., 1984). Острое течение трансмиссивного гастроэнтерита проявляется спорадическими приступами рвоты и поноса, *feces* содержат большое количество слизи, температура тела повышена незначительно. Слизистая оболочка тонкого кишечника гиперемирована, серо-красного цвета, ослизненная, ворсинки энтероцитов десквамированы в просвет органа (Seimiya Y., 1992).

Амебиаз и балантидиоз на территории РФ встречаются реже, для указанных патологий характерными признаками являются нарушение деятельности центральной нервной системы, отсутствие аппетита, дегидратация, увеличение общей температуры тела с последующей нормализацией. Диарея проявляется при острой форме заболевания, *feces* содержат включения крови. Отмечают гиперплазию пейеровых бляшек, подчелюстных, брыжеечных, околожелудочных, околопочечных и подчелюстных лимфатических узлов. Слизистая оболочка слепой и ободочной кишки складчатые и ослизненные (Каврук Л. С., 1994).

*Бактериологическая диагностика.* Основным методом лабораторной диагностики желудочно-кишечных болезней является бактериологическое исследование. Для определения родовой принадлежности идентифицированных в ходе бактериологических исследований энтеробактерий изучают биохимические и физиологические свойства. При выделении культур энтеробактерий, относящихся к одному из родов: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Morganella*, *Klebsiella*, *Salmonella* – из селезенки, крови сердца, костного, головного мозга (не менее, чем из двух перечисленных органов и тканей) свежего трупа животного патогенные свойства этих культур в биопrobe на белых мышах не определяют, серологическую типизацию не проводят; культуры относят к возбудителю болезни (Макаров В.В. и соавт., 2021). Бактериологический диагноз на смешанную кишечную инфекцию молодняка сельскохозяйственных животных устанавливают на основании выделения из патологического материала культур, принадлежащих к двум и более родам энтеробактерий: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Morganella*, *Klebsiella*, *Salmonella* (Сидорчук А.А. и соавт., 2021).

#### 1.4. Организация мероприятий по борьбе и профилактике болезней органов пищеварения

Терапия и профилактика болезней органов пищеварения направлена на восстановление микробиоценоза желудочно-кишечного тракта, в частности грамположительной микрофлоры, и снижение популяционного числа грамотрицательных микроорганизмов, что достигается назначением слабительных средств широкого спектра действия с целью удаления из желудочно-кишечного тракта токсических продуктов метаболизма грамотрицательной микрофлоры; назначение антибактериальных препаратов широкого спектра действия; назначение препаратов, содержащих преимущественно грамположительную микрофлору – пробиотики и синбиотики – комбинация пробиотиков и пребиотиков (Яшин А.В. и соавт., 2019).

Учитывая снижение эффективности антибактериальных препаратов, сопровождающееся селекцией антибиотикоустойчивых штаммов, перспективными признаны вакцины, содержащие различные антигенные компоненты, и антиадгезивные антитоксические сыворотки, специфические антитела которых нейтрализуют антигены, и являются универсальными для животных разных видов и любых регионов: вакцина против эшерихиоза животных – Коли-Вак К88, К99, 987Р, F41, ТЛ- и ТС-анатоксины; вакцина против эшерихиоза животных – Вероколивак К88, К99, 987Р, F41, ТЛ-, ТС-, VT1 и VT2 анатоксины (Пирожков М.К. и соавт., 2016). Установлена эффективность вакцины против сальмонеллёза животных на основе белков наружной мембраны *Salmonella enterica* и белков флагеллина; инактивированная трехвалентная вакцина против сальмонеллёза животных, содержащая серовары *S.Enteritidis* (O:9, серогруппа D) и *S.Typhimurium* (O:4, серогруппа B), серовар *S.Infantis* (O:7, серогруппа C1) и гидроксид алюминия (Acevedo-Villanueva K.Y. et. al., 2020). Вакцина «Клостбовак-8» способствует образованию высокого титра колостральных антител: к  $\alpha$ -токсину *C. perfringens* не менее 2,10 МЕ/мл,  $\beta$ -токсину – 7,80 МЕ/мл,  $\epsilon$ -токсину — 3,20 МЕ/мл, к ток-сину *C. tetani* — 1,50 МЕ/мл, у молодняка неонатального возраста (Капустин А.В., 2013).

Разработаны сыворотка антитоксическая поливалентная против сальмонеллёза, изготовленная на основе иммуноглобулинов и антитоксинов, полученных из крови животных, гипериммунизированных штаммами сальмонелл; сыворотка антиадгезивная антитоксическая против эшерихиоза сельскохозяйственных животных, изготовленная из крови волов-продуцентов, гипериммунизированных инактивированным антигеном *E. coli* (Crouch C.F. et al., 2020).

Для коррекции нарушений экологического баланса в биотопах кишечника, характеризующегося снижением количества лактобактерий и бифидумбактерий, рекомендуется применение пробиотиков, пребиотиков, симбиотиков, а также иммуномодуляторов растительного происхождения. Эффективным и экологически чистым методом лечения и восстановления уровня водорастворимых витаминов в печени животных, на фоне кандидоза, является использование ферментного препарата литиказа в сочетании с пробиотиком лактобифид и прополисотерапия (Mannarova R.T., Shajhulow R.R., 2018).

Комплексные ферментные препараты способствовали снижению адгезии микроорганизмов, нарушению мицелиального роста, уменьшению оптической плотности до 53,0 % (Ленченко Е. М., Ванина Н. Н., 2005; Сачивкина Н.П. и соавт., 2008; Mannarova R.T., Shajhulow R.R., 2018). Разрушение клеточной стенки и экстракция ДНК *C. albicans* при воздействии рекомбинантной литиказы происходило на 90 мин быстрее по сравнению с механическим применением стеклянных шариков (Dadgar, A., 2006).

Применение литиказы вызывало снижение оптической плотности до 53,0 %, уменьшение адгезии *C.albicans* на эпителиальные клетки и нарушение мицелиального роста (Сачивкина Н.П. и соавт., 2008). При ферментативном воздействии (ДНКазы, 100 мкг/мл) биомасса биопленок *Azospirillum brasilense*, убывала на 29,0–40,0 %; после инкубации с раствором периодата натрия, окисляющего полисахариды, биомасса зрелых биопленок, сформированных на стекле убывала на 40,0 – 75,0 % (Collineau L. et al., 2020).

Ингибирование биопленки *K.pneumoniae* наблюдалось при воздействии папаина на антибиотико–резистентные штаммы (10,6–56,2 %) и увеличивалось (21,4–59,0 %) при концентрации 100 мг/мл, что свидетельствует о потенциальном применении фермента в сочетании с антибактериальными препаратами (Mahmoud S.M. et al., 2018).

Учитывая, что одной из ведущих функций лактобактерий и бифидумбактерий является обеспечение колонизационной резистентности – предотвращение заселения кишечника условно-патогенными и патогенными микроорганизмами, в комплексе лечебных средств рекомендуется бактериотерапия. Для коррекции иммунного статуса животных к числу перспективных относятся средства, в том числе растительного происхождения, снижающие формирование биопленок микроорганизмов – Патент РФ на изобретение № 2655798: «Средство и способ лечения болезней органов пищеварения телят».

Введение в рацион животных пробиотической добавки на основе штамма микроорганизмов *Enterococcus faecium* L-3 оказывало положительное влияние на формирование микробиоценозов кишечника животных раннего постнатального периода, установлено достоверное снижение общего числа микроорганизмов  $9,8 \pm 1,8 - 11,39 \pm 1,61$  lgКОЕ/г, бактерий *E.coli* –  $6,46 \pm 0,77 - 7,97 \pm 1,02$  lgКОЕ/г и *Bacteroides fragilis group*  $9,83 \pm 1,77 - 11,39 \pm 1,61$  lgКОЕ/г. Регулярное скармливание пробиотика животным 14-ти дневного возраста способствовало нормализации биохимических показателей, в то числе увеличение уровня амилазы –  $49,26 \pm 2,9$  МЕ/л, снижение показателей уровня билирубина –  $3,68 \pm 0,33$  мкмоль/л, щелочной фосфатазы –  $203,26 \pm 22,1$  МЕ/л, аланинаминотрансферазы –  $13,32 \pm 0,9$  МЕ/л и аспаргатаминотрансферазы –  $74,96 \pm 4,2$  МЕ/л, что обуславливало большую устойчивость к желудочно-кишечным расстройствам (Лебедев М.Н., Ковалев С.П., 2021).

Ингибирующее влияние препарата из группы – поли-N1-гидразино(имино)-метил-1,6-гександиамина снижает образование биоплёнок грамположительных и грамотрицательных, аэробных и анаэробных бактерий (Вечерковская М.Ф., Артеменко Н.К., 2017).

Воздействие на биоплёнки *Klebsiella pneumoniae* 3-метил-2 (5Н)-фураноном и 2'-гидроксициннаминовой кислотой вызывало снижение способности микроорганизмов к биоплёнкообразованию на 67,38 % и 65,06 %, соответственно (Cadavid E. et al., 2019). Ксилитол (10,0 %) и альгинат натрия (4,16 %) подавляли вирулентность *S.albicans*. за счёт предотвращения образования вирулентных гифальных форм, снижая плотность биопленки на 47,0 – 52,0 % (Грамматикова, Н.Э. и соавт., 2014).

При 42 °С в клеточных стенках микобактерий усиливается синтез миколовых кислот, обеспечивающих устойчивость микобактерий в окружающей среде повышается содержание корд-фактора – специфического гликолипида патогенных микобактерий. Воздействие растворов катионных ПАВ биопленки микобактерий полностью или частично разрушались. (Павлова И.Б. и соавт., 2017).

Созревание биоплёнки сопровождается кратным увеличением резистентности, активность антисептиков в отношении одновидовых биоплёнок *P.aeruginosa* и двухвидовых биоплёнок *P.aeruginosa* и *S.aureus* не различалась между собой ( $p=0,984$ ) (Андреева С.В., 2018).

При исследовании морфологии биоплёнок *S. albicans* при воздействии возрастающих концентраций фарнезола (0, 3, 30 и 300 мкМ) установлено предотвращение морфологического перехода от дрожжевой к гифальной форме в присутствии концентрации 300 мкМ, наблюдали дрожжевые клетки, псевдогифы – 95,0 % полей зрения (Ramage G. et al., 2002). Механизм действия фарнезола обеспечивается регуляцией специфических компонентов передачи сигналов и дальнейшей транскрипции, ингибирует рост гифов *S.albicans*, влияет на взаимодействие мРНК с малой рибосомальной субъединицей, приводя к снижению уровня преиницирующего рибосомного комплекса (Egbe N.E. et al., 2017). Наличие транскрипционного фактора «*TEC1*» обеспечивает защиту биопленки от диффузии лекарственных средств, воздействие фарнезола в концентрации 12,5 % выявляли значительное снижение (56,2 %) биомассы биоплёнок (Carreiro A.P. et al., 2017).

Установлена эффективность препаратов на основе интерферонов при инфекционных болезнях молодняка сельскохозяйственных животных, за счёт повышения содержания крупных (3,0%), средних (3,5%) и мелких (4,0%) циркулирующих иммунных комплексов после применения тилозина на 21,0 % (Шахов А.Г. и соавт., 2020).

Деструкция межклеточного матрикса биопленок достигается сочетанием колистина (9,0 мг/кг) и рифампицина (37,8 мг/кг), снижающих количество микроорганизмов (КОЕ) –  $3,56 \pm 0,12 - 6,92 \pm 0,22$  (Cai Y. et al., 2018). Комбинация групп препаратов  $\beta$ -лактам–аминогликозид проявляют синергическое действие, так, имипенем (4,0–5,0 г/день) – тобрамицин (7,0 мг/кг) обеспечивали снижение количества микроорганизмов в тканях ( $\leq 2,51 \log_{10}$  КОЕ) через 24 ч (Yadav R. et al., 2017).

Альтернативные подходы деконтаминации пищевого сырья и пищевых производств: колицины, экспрессируемые *E.coli*, бактериофаги сальмонелл и псевдомонад ингибирующие рост dormantных форм микроорганизмов. Бактериофаги *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Paratyphi A*, *S. San Diego* и *S. Typhi* проявили широкую литическую активность, устойчивость к нагреванию и pH. Частицы фага адсорбировались в 100,0 % в течение 18–40 мин. Количество жизнеспособных клеток бактерий снижалось в пробах от мяса куриц ( $P < 0,05$ ) при совместном воздействии бактериофагами при 4 ° C в течение 7 дней (Kim J.H. et al., 2020). Штаммы *Lactobacillus spp.* проявляли антагонистическую активность по к 96,0 % изолятам *Salmonella spp.*, выделенным из проб объектов окружающей среды птицеперерабатывающих предприятий (Kowalska J.D. et al., 2020).

Комбинированное воздействие ультрафиолетовых лучей и озонирования оказывало выраженное воздействие на снижение количества бактерий и плесневых грибов (Абдуллаева А.М. и соавт., 2017; Abdullaeva, A.M. et al., 2019). В практике микробиологического контроля перед проведением смывов предлагается использовать ферментные смеси класса карбогидраз (гидролазы, лиазы) для деструкции экзополисахаридного матрикса биопленки, увеличения доступности микроорганизмов, что позволит получить более достоверные результатов

микробиологических исследований критических точек технологии пищевых производств (Тутельян А.В. и соавт., 2020). Современные полимерные композиционные материалы и использование ультразвуковой обработки их расплавов, а также компоненты природного происхождения увеличивают технологические и эксплуатационные показатели пищевого сырья и готовой продукции (Кирш И.А., Фролова Ю.В., 2016; Veznaeva, O., et. al., 2018; Бакуменко О.Е. и соавт., 2019).

### 1.5. Заключение по обзору литературы

На основании анализа литературных данных установлено, что эпизоотическая структура болезней органов пищеварения молодняка сельскохозяйственных животных представлена видами *S. enteritidis*; *E. coli*; *K. pneumoniae*; *P. vulgaris*; *P. aeruginosa*; *S. aureus*. Основными нозологическими единицами являются сальмонеллез и эшерихиоз, а также болезнь может протекать в виде смешанной кишечной инфекции. Сальмонеллез характеризуется острым, подострым, хроническим течением и латентной формой у взрослых животных; эшерихиоз протекает в виде сверхострого, острого и подострого течения; смешанная кишечная инфекция характеризуется острым и хроническим течением болезни.

Клинические признаки болезней органов пищеварения проявляются отказом от корма, синюшностью кожи и слизистых оболочек, общим повышением температуры, профузной диареей, жаждой, анорексией, пневмонией. Отмечают отставание в развитии, пониженный тургор кожи, отёк брюшины, нарушение сердечной деятельности, учащенное и поверхностное дыхание, интоксикацию. Нарушение деятельности центральной нервной системы характеризуется тремором мышц, судорогами, отсутствием координации, растяжением головы и конечностей.

Изменение гематологических, биохимических и иммунологических показателей характеризуются повышенной концентрацией метгемоглобина, эритропенией, олигохромемией, гипопропротеинемией, гипокальциемией,

гипокупремией, снижением гематокритной величины; одновременно с изменениями эритропоеза выраженным иммунодефицитом: снижением общего количества Т- и В-лимфоцитов; снижением уровня иммуноглобулинов.

При снижении колонизационной резистентности кишечника, недостаточности илеоцекального сфинктера новорожденных ягнят наблюдается нарушение состава эволюционно – сложившихся микробиоценозов за счет увеличения числа и спектра патогенных бактерий, формирующих биопленки. Недостаточность баугиниевой заслонки, разделяющей биотопы подвздошной и слепой кишок, приводит к колонизации тонкой кишки атипичными микроорганизмами. Увеличение содержания кишечной палочки, энтерококков и микроскопических грибов рода *Candida* приводит к снижению концентрации бифидобактерий и лактобактерий, что проявлялось в биотопах ягнят молозивного и молочного периодов питания. Продуцирование бактериоцинов условно-патогенными и патогенными штаммами микроорганизмов обуславливает бактериостатическое воздействие на представителей эволюционно сложившейся микрофлоры биотопов, что способствует смещению видового состава микроорганизмов в сторону патогенной микрофлоры, реализации вирулентных свойств, развитию инфекционной патологии, что позволяет рассматривать синтез бактериоцинов как фактор патогенности бактерий.

Патогенез синдрома избыточного бактериального роста характеризуется бактериальной транслокацией, реализация вирулентности микроорганизмов, обеспечивается адгезивными свойствами, являющегося одним из ключевых факторов при формировании архитектоники биоплёнки, характеризующейся увеличением оптической плотности, обуславливая множественную лекарственную устойчивость.

В биоплёнках полирезистентных штаммов выявляли процессы диссоциации, денситометрические показатели концентрического фенотипа превышали показатели оптической плотности фенотипа формы кратера, показатели оптической плотности гладких колоний меньше, по сравнению с другими фенотипами. Диссоциация популяции приводила к увеличению концентрации

клеток R-диссоциантов, обладающих большей скоростью роста, выявляли лизис клеток при культивировании, наблюдалось изменение соотношения фенотипических форм – преобладающим являлся M-диссоциант, количество клеток увеличивалось.

Для детекции жизнеспособных микроорганизмов в составе гетерогенной популяции *in vitro* и *in vivo* установлена эффективность инструментальных способов, в том числе флуоресцентная микроскопия, позволяющая выявить структуры метаболически-активных клеток, за счёт взаимодействия красителя с полисахаридами клеточной стенки. Фазово-контрастная микроскопия позволяет выявить процессы агрегации клеток, оценить показатели прироста биомассы биоплёнок на различных этапах формирования, в зависимости от состава и содержания кислорода в среде культивирования. При конфокальной микроскопии трехмерные изображения биопленок, позволяют выявить структуру биоплёнки, динамику и скорость процесса осаждения клеток. Конфокальные изображения также позволяют определить коэффициент шероховатости поверхности биоплёнки. Разработаны способы подготовки препаратов для оптической и сканирующей электронной микроскопии, позволяющие оценить степень образования и морфологический состав биопленок, без нарушения естественной архитектоники популяций микроорганизмов.

Эволюционно сложившийся механизм адаптации за счет межклеточной коммуникации, сорбции и агрегации гетерогенных биопленок, циклические режимы роста, фенотипическая пластичность, обуславливают персистенцию некультивируемых микроорганизмов в межэпизоотические периоды в организме бактерионосителя.

Комплекс профилактических мероприятий, обеспечивающих благополучие хозяйств по болезням органов пищеварения бактериальной этиологии должен включать в себя мероприятия, направленные на предупреждение заноса возбудителей, регулярных мониторинговых и диагностических исследований на протяжении всей технологической цепи производства, определение эффективности и контролируемое использование химиотерапевтических и

дезинфицирующих препаратов, а так же препаратов специфической и неспецифической профилактики. При микробиологическом контроле критических точек технологии животноводства и пищевых производств, перспективным является исключение рутинных стадий идентификации и подсчета с помощью микробиологических анализаторов «БакТрак 4300» («*SY-LAB Gerate GmbH*», Австрия), «*Trek Diagnostic System Sensititre*» («*Thermo Fisher Scientific*», США), значительно увеличивающих число проводимых анализов, позволяющих экономить время исследований и материальные затраты. Для производства высококачественной и безопасной продукции животноводства задачей ветеринарной службы является совершенствование ветеринарной составляющей, что требует формирования кластера в обеспечении пищевой и биологической безопасности в Российской Федерации.

## Глава 2. ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### 2.1. Материалы и методы

#### 2.1.1. Объект и материалы исследований

Работа выполнена в период с 2018 по 2023 год на кафедре «Ветеринарная медицина», «Институт ветеринарии, ветеринарно-санитарной экспертизы и агробезопасности», ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ», а также в рамках Соглашения о предоставлении из федерального бюджета гранта в форме субсидий, выделяемого для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых в российских образовательных организациях высшего образования, научных учреждениях и государственных научных центрах Российской Федерации от «01» июля 2022 г. № 075-15-2022-1124 в Международной лаборатории создания средств профилактики социально-значимых инфекций продуктивных животных на базе ФГБУ «ВГНКИ».

**Объект исследований.** Клинические исследования проводили на базе ФГУП «Ононское» Ононского района Забайкальского края. Лабораторные исследования в отделении иммунобиологических лекарственных средств, отдел бактериологии ФГБУ «ВГНКИ».

Исследования проводили в соответствии с Международными правилами гуманного обращения с животными: «Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза», от 22.09.2010 г.

Объектом исследований являлись ягнята породы «Агинская» и «Романовская», периода новорожденности – 90 суточного постнатального онтогенеза (n=40), живой массой 5,0 – 15,0 кг (рис. 4).

Для прижизненной диагностики болезней органов пищеварения исследовали *feces* ягнят (n=40), для посмертной диагностики: патматериал (n=35); смывы помещений (n=25). Так же исследованиям подвергали пробы кормов для животных: силос (n=15); сенаж (n=15); сено (n=15).

Патогенные, вирулентные и токсигенные свойства энтеробактерий изучали общепринятыми методами на лабораторных животных – беспородных белых мышах (n=10), 60–180 суточного возраста, живой массой тела 14,0 – 26,0 г.



**Рис. 2. Клинически здоровые ягнята породы Агинская, 4-21- суточного постнатального онтогенеза**

**Штаммы микроорганизмов.** В опытах были использованы референтные штаммы микроорганизмов (табл. 1).

Таблица 1

### Референтные штаммы микроорганизмов

Штаммы микроорганизмов	<i>The Global Bioresource Center ATCC</i>		
	Геном	Источник выделения	Показания к использованию
<i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 25278	CDS – 4661; тРНК – 86; 5s рРНК – 8; 16s рРНК – 7; 23s рРНК – 7	Печень цыпленка, 28-сут.	Разработка вакцины Исследования зоонозных заболеваний
<i>Escherichia coli</i> O6 ATCC 25922	CDS – 4 833; тРНК – 90; 5s рРНК – 8; 16s рРНК – 7; 23s рРНК – 7	<i>Feces</i>	Исследования инфекционных кишечных заболеваний
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 1705	CDS – 5 453; тРНК – 87; 5s рРНК – 9; 16s рРНК – 8; 23s рРНК – 8	Мужчина, 42 года, плеврит	Исследование устойчивости к антибактериальным препаратам
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 43864	CDS – 4 631; тРНК – 84; 5s рРНК – 9; 16s рРНК – 8; 23s рРНК – 8	Пищевая продукция	Контроль качества лекарственных препаратов
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 49132	CDS – 3 554; тРНК – 84; 5s рРНК – 8; 16s рРНК – 7; 23s рРНК – 7	Человек, внутреннее ухо	Исследования инфекционных заболеваний
<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 23715	CDS – 4 040; тРНК – 82; 5s рРНК – 8; 16s рРНК – 7; 23s рРНК – 7;	Кровь человека	Исследования инфекционных кишечных заболеваний
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	CDS – 5 842; тРНК – 75; 5s рРНК – 4; 16s рРНК – 4; 23s рРНК – 4	Кровь человека	Исследования инфекционных заболеваний
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	CDS – 1 875; тРНК – 60; 5s рРНК – 4; 16s рРНК – 4; 23s рРНК – 4	Человек	Биотехнология
<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 393	CDS – 2 914; тРНК – 59; 5s рРНК – 5; 16s рРНК – 5; 23s рРНК – 5	Пищевая продукция	Биотехнология
<i>Bifidobacterium bifidum</i> ATCC 29521	CDS – 1 821; тРНК – 54; 5s рРНК – 0; 16s рРНК – 2; 23s рРНК – 2	<i>Feces</i>	Биотехнология
<i>Micrococcus lysodeikticus</i> ATCC 4698	CDS – 2 251; тРНК – 54; 5s рРНК – 2; 16s рРНК – 2; 23s рРНК – 2	Почва	Контроль качества биопрепаратов
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	CDS – 2 586; тРНК – 59; 5s рРНК – 7; 16s рРНК – 6; 23s рРНК – 6	Кровь человека	Биотехнология Исследования инфекционных кишечных заболеваний
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	28S-5.8S-18S-EF-1- RPB1-RPB2	Мужчина, бронхоми- коз	Исследования устойчивости к антимикотическим препаратам
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 90018	Rab-GTPase-TBC	Кровь человека	Контроль качества биопрепаратов

Штаммы микроорганизмов хранили в полужидком 0,3 % МПА или стабилизирующем растворе (МПБ, содержащий 50,0 % фетальной сыворотки крупного рогатого скота и 10,0 – 15,0 % глицерина или триптиказо-соевый бульон с добавлением 5,0 % дефибринированной крови барана или кролика) и в лиофилизированном состоянии при температуре 2–8 °С.

**Питательные среды и тест системы.** В опытах использовали жидкие и плотные дифференциально-диагностические среды и тест-системы (табл. 2).

Таблица 2

### Дифференциально-диагностические среды

Питательные среды	Состав
«Эндо» («Hi-media», India)	Пептон – 10,00; лактоза – 10,00; дифосфат калия – 3,50; сульфит натрия – 2,50; агар – 10,00
«TBX medium agar» (Oxoid, Англия)	Триптон – 20,00; соли желчных кислот – 1,50; агар – 15,00; Х-глюкуронид – 0,075
«Chromocult Coliform agar» (Merck, Германия)	Пептон – 3,00; хлорид натрия – 5,0; дигидрофосфат натрия – 2,20; гидрофосфат натрия – 2,70; пируват натрия – 1,00; триптофан – 1,00; агар – 10,00; сорбит – 1,00; тергитол-7 – 0,15; хромогенная смесь – 0,40
«Xylose-Lysine Deoxycholate agar» (Merck, Германия)	Дрожжевой экстракт – 3,00; L-лизин – 5,00; лактоза – 7,50; сахароза – 7,50; ксилоза – 3,50; натрия хлорид – 5,00; натрия дезоксихолат – 2,50; натрия тиосульфат – 6,80; железа аммонийного цитрат – 0,80; феноловый красный – 0,08; агар – 15,00
«Агар LB по Miller» («Difco», USA)	Триптон, – 10,00; дрожжевой экстракт – 5,00; хлорид натрия – 10,00; агар – 15,00
«Агар для определения КМАФАнМ» («Difco», USA)	панкреатический гидролизат рыбной муки – 10,00; панкреатический гидролизат казеина – 10,00; дрожжевой экстракт – 0,50; натрий хлористый – 0,03; D-глюкоза – 0,03; агар-агар – 15,00
«Агар Мюллер Хинтона» («HiMedia», India)	Мясной настой – 300,00; казеина кислотный гидролизат – 17,50; крахмал – 1,00; глюкоза – 20,00; метиленовый синий – 0,0005; агар-агар – 17,00
«Фенилаланин агар» («Биотехновация», Россия)	Агар – 10,90; натрий хлористый – 4,30; экстракт автолизированных дрожжей осветленный – 2,90; l-фенилаланин - 1,8; натрий фосфорнокислый двузамещенный – 0,10
«RVS-бульон» («Оболенск», Россия)	Соевый пептон – 10,00; панкреатический гидролизат рыбной муки – 10,00; магний хлористый безводный – 4,50; натрий хлористый – 0,50; калий фосфорнокислый однозамещенный – 0,10; малахитовый зеленый – 0,05; натрий углекислый – 0,03.
Магниева среда («Оболенск», Россия)	Пептон ферментативный – 4,00; магний хлористый – 38,50; экстракт автолизированных дрожжей осветленный – 1,80; хлористый натрий – 7,20; калий фосфорнокислый однозамещенный – 1,50; бриллиантовый зелёный – 0,0045

<b>Питательные среды</b>	<b>Состав</b>
«Селенитовый бульон» (« <i>Hi-media</i> », India)	Агар – 2,00; пептический перевар животной ткани – 2,00; натрия хлорид – 5,00; калия гидрофосфат – 0,30; глюкоза – 10,00; бромтимоловый пурпурный – 0,05
«Среда Мюллера-Кауфмана» («Оболенск», Россия)	Гидролизат казеина – 7,00; папаиновый перевар соевой муки – 2,30; натрия хлорид – 2,30; кальция карбонат – 25,00; натрия тиосульфат – 40,70; препарат желчи очищенной – 4,75
«Среда Минка» («Оболенск», Россия);	Агар – 10,00; гидролизат казеина – 10,00; раствор микроэлементов – 2,00; глюкоза – 4,00; натрия хлорид – 2,5
«Цитратный агар» (« <i>Hi-media</i> », India)	Агар – 15,00; Магния сульфат – 0,20; аммония дигидрофосфат – 1,00; калия гидрофосфат – 1,00; натрия цитрат – 2,00; натрия хлорид – 5,00; бромтимоловый синий – 0,08
«Среда Кесслера–ГРМ» («Оболенск», Россия)	Пептон сухой ферментативный – 3,00; панкреатический гидролизат рыбной муки – 7,00; Д-лактоза – 10,00; желчь очищенная сухая – 3,00; кристаллический фиолетовый – 0,04; натрий углекислый – 0,01
«Среда Тиоглеколевая» («Оболенск», Россия)	Панкреатический гидролизат казеина – 15,0; дрожжевой экстракт – 5,0; натрия хлорид – 2,5; Д-глюкоза – 5,0; натрия тиогликолят – 0,5; натрий углекислый – 0,8; цистеина гидрохлорид – 0,75; агар – 0,75
«Среда Лактозо-пептонная» («Оболенск», Россия)	Пептон ферментативный – 7,00; лактоза – 5,50; натрия хлорид – 4,00; дрожжевой экстракт – 0,50; бромтимоловый синий – 0,04

**Лабораторное оборудование.** При проведении исследований использовали лабораторное оборудование:

- ◆ *Клинические исследования:*
  - Термометр «МС-246-RU» («*Omron Eco Temp Basic*», США);
  - Центрифуга «СМ-6МТ» («*ELMI*», Латвия);
  - Гомогенизатор «*VORTEX ELMI Skyline*» («*Helicon*», Латвия);
  - Автоматический гематологический анализатор «*DF50 Vet*», («*Dymind*», Китай);
  - Автоматический биохимический экспресс-анализатор «*Solution Analyzer*» («*Skyla*», Тайвань);
  - Иммуноферментный анализатор «*Immunochem 2100 Microplate Reader*» («*HTI*», США);
  - Микропланшетный термощейкер «*Immunochem 2200*» («*HTI*», США);

- Устройство для промывки микропланшета «*Immunochem 2600 Microplate Washer*» («*HTI*», США).
- ◆ *Морфологические исследования:*
  - Микротом санный «*MICROM HM-315*» («*Carl Zeiss*», Германия);
  - Криостат-микротом «*MICROM HM-525*» («*Carl Zeiss*», Германия);
  - Гистологический процессор замкнутого цикла «*Tissue-Tek VIP 5 Jr*» («*Sakura*», Япония);
  - Микроскоп «*Axioimager A1*» («*Carl Zeiss*», Германия);
  - Микроскоп «*H604 T*» («*Trinocular Unico*», США);
  - Стереоскопический микроскоп «*МС-1 Стерео*» (БИОМЕД, Россия);
  - Люминесцентный микроскоп «*DMRB*» («*Leica*», Германия);
  - Установка для напыления препаратов «*Q150T Plus*» («*Quorum Technologies Ltd.*», США);
  - Сканирующий электронный микроскоп «*Mira 3 LM*» («*Tescan Ltd.*», Республика Чехия);
  - Сканирующий электронный микроскоп «*Vega LMH*» («*Tescan Ltd.*», Республика Чехия);
- ◆ *Бактериологические исследования:*
  - Термостат с естественной конвекцией «*BD 115*» («*Binder*», Германия);
  - Анаэроостат «*АнаэроВох*» («*Thermo Fisher Scientific*», США);
  - Микробиологический анализатор «*Sensititre AIM*» («*Thermo Fisher Scientific*», США);
  - Микробиологический анализатор «*VITEC 2 COMPACT*» («*bioMerieux*», Франция);
  - Масс-спектрометр «*MALDI-TOF MS BioType*» («*Bruker Daltonik GmbH*», Германия);
  - Масс-спектрометр «*VITEK® MS*» («*Biomerieux*», Франция);
  - Нефелометр «*TU5200*» («*HACH-LANGE*», Германия).

### 2.1.2. Клинические и морфологические методы исследований

Клинические исследования проводили по общепринятой схеме диспансеризации животных (Шарабрии И.Г., 1975; Уразаев Н.А. и соавт., 1990). Исследуемых животных оценивали по конституции и экстерьеру, ягнят взвешивали, определяли длину туловища для вычисления индекса упитанности. Измеряли температуру тела, оценивали шерстный и кожный покров, определяли состояние глаз, слизистых оболочек носового зеркала и ротовой полости, пальпировали ушные раковины, трахею, органы брюшной полости и конечности. Определяли частоту сердечных сокращений, наполнение пульса и тоны сердца. Временной интервал и форму течения болезни определяли, учитывая направление деятельности предприятия, режимы поения и рациона, направление продуктивности, условия содержания, численность павших особей и ветеринарно-санитарное состояние хозяйства. При определении сроков и тяжести течения заболевания учитывали направление деятельности хозяйства, режим кормления, продуктивность, условия содержания, количество павших животных, ветеринарно-санитарное состояние хозяйства.

Динамику изменений показателей крови и сыворотки крови животных определяли на автоматическом гематологическом анализаторе крови «DF50 Vet», («Dymind», Китай) и биохимическом экспресс-анализаторе «Solution Analyzer» («Skyla», Тайвань) в соответствии «Методические указания по применению унифицированных биохимических методов исследования крови, мочи в ветеринарных лабораториях», 1981.

Для определения лизоцимной активности сыворотки крови ягнят использовали культуру микроорганизмов *Micrococcus lysodeikticus* ATCC 4698. При учете фагоцитарной активности клеток крови определяли показатели: фагоцитарное число – отношение количества микроорганизмов, поглощенных каждым лейкоцитом и количества лейкоцитов, поглотивших микроорганизмы; фагоцитарный индекс – отношение количества лейкоцитов, поглотивших микроорганизмы и общего количества лейкоцитов (Yin W. et al., 2019).

Для определения общей окислительно-восстановительной активности лейкоцитов под действием активных форм кислорода учитывали восстановление нитросинего тетразолия, «*Nitro Blue Tetrazolium*» (НСТ, «*NBT*») в синий формазан «*Blue Formazan*». В лунки, объём 400,0 мкл 96-луночного микротитровального планшета («*Nalge-Nunc*», Великобритания) вносили 90,0 мкл крови и 10,0 мкл 2,0 %-ного стерильного раствора натрия цитрата, культивировали при  $25 \pm 1$  °С в течение 120 мин. Для учёта показателей НСТ-спонтанный «*NBT spontaneous*»,  $OD_c$  в лунки планшета вносили 100,0 мкл раствор реактива NBT, 1,0 мг/мл («*Sigma-Aldrich*», США). Показатели НСТ-индуцированный «*NBT induced*»  $OD_s$  учитывали при добавлении 100,0 мкл раствора реактива NBT и 20,0 мкл бактерий *Escherichia coli*, 1 млрд/мл -. Исследуемые образцы культивировали при  $22 \pm 1$  °С в течение 60 мин и определяли оптическую плотность образцов,  $OD_{s1}$  при длине волны 630 нм («*Immunochem-2100 HTI*», США) (Zahran E. et al., 2014).

Для определения бактерицидной активности сыворотки крови в пробирки объемом 10,0 мл вносили 2,5 мл МПБ, 0,1 мкл сыворотки крови, 0,1 мл 2,0 %-ного стерильного раствора натрия цитрата, 0,2 мл бактериальной суспензии, 1 млрд/мл *Escherichia coli*, затем определяли оптическую плотность –  $OD_s$ . Соблюдая принципы аналогов в пробирки вносили 2,5 мл МПБ, 0,5 мл 0,85%-ый раствор NaCl, 0,2 мл бактериальной суспензии 0,2 мл бактериальной суспензии, 1 млрд/мл *Escherichia coli*, затем определяли оптическую плотность –  $OD_c$ . Исследуемые образцы культивировали при  $37 \pm 1$  °С в течение 180 мин и определяли оптическую плотность образцов –  $OD_{c1}$ ,  $OD_{s1}$ . Для определения бактерицидной активности сыворотки крови (%) учитывали соотношение показателей оптической плотности:  $100 - (OD_{c1} - OD_c / OD_{s1} - OD_s)$  (Shen Y. et al., 2018).

Убой и дальнейшее обескровливание животных проводили, соблюдая Международные принципы Хельсинской декларации «О гуманном отношении к животным» и в соответствии «Директива 2010/63/eu Европейского парламента и Совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях». При патологоанатомическом исследовании органы препарировали с последующим извлечением из полости.

Для биохимических исследований внутренних органов и 1,0 г содержимого кишечника ягнят образцы гомогенизировали, затем добавляли 1,5 мл 95,0 %-ного этанола и 0,5 мл 1,0 % щавелевой кислоты, экстрагировали при  $23 \pm 1$  °С, 24 ч, исследование проводили с применением анализатора «Mythic 18» («ORPHEE SA», Швейцария).

Морфометрические исследования проводили, учитывая площадь фронтального сечения органов, см<sup>2</sup>. Абсолютную массу органов, г определяли непосредственно после вскрытия, перед этапом фиксации. На основании полученных результатов определяли относительную массу каждого органа, % от общей массы животного. Длину, см; ширину, см; толщину, мм; диаметр, мм измеряли при помощи штанген-циркуля, курвиметра и линейки, ценой деления 1,0 мм. Площадь (S), см<sup>2</sup> фронтального сечения органов определяли по методике А.М. Носовского, измеряя длину периметра, см и вычислением площади по формуле:  $S = L^2 : (4 \times \Pi)$ , где L – длина периметра,  $\Pi = 3,14$  (Селезнев С.Б., 2000).

Для гистологических исследований отбор проб производили с учетом цели исследования и структуры ткани. Кусочки органов, размером от 1,5 до 2,0 см фиксировали в 10,0–12,0 %-ном растворе формалина. Материал уплотняли в этиловом спирте возрастающей концентрации: 50...70...100°. Срезы образцов толщиной от 5,0 до 7,0 мкм залитых в парафиновые блоки окрашивали гематоксилином и эозином («БиоВитрум», Россия). Обезвоживали срезы в спиртах возрастающей концентрации, просветляли и заключали в среду «*VitroGel*» («БиоВитрум», Россия). Для индикации микроорганизмов гистологические срезы окрашивали по Граму, «*Gram-color-stain set for the Gram staining method*» («Merck», Германия), а также раствором метиленового синего по Лёффлеру («БиоВитрум», Россия) для дифференциации грамотрицательных и грамположительных бактерий (Ленченко Е.М., 1996). Для получения репрезентативной информации исследования проводили методом случайного отбора поля зрения оптического микроскопа Микроскоп «H604 T» («*Trinocular Unico*», США), а также при стереоскопической микроскопии «*Olympus SZX 16*» («*Olympus*», Япония).

### 2.1.3. Бактериологические методы исследований

**Отбор проб.** Для проведения бактериологических исследований отбор проб от производили в соответствии с «Лабораторная диагностика сальмонеллез человека и животных, обнаружения сальмонелл в кормах, продуктах питания и объектах внешней среды», 1990; «Методические указания по бактериологической диагностике колибактериоза (эшерихиоза) животных», 2000; «Методические рекомендации по бактериологической диагностике смешанной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемой патогенными энтеробактериями», 1999. Для отбора проб применяли одноразовые стерильные инструменты и стерильную посуду; маркировку образцов проводили с указанием даты, времени отбора, номера пробы, условий транспортировки и хранения.

Для прижизненной диагностики отбирали кровь, *feces*, смывы слизистых оболочек. Кровь из ярёмной или хвостовой вены отбирали в одноразовые контейнеры, содержащие антикоагулянты: 2,0 % стерильный раствор натрия цитрата или 1,0–3,0 % этилендиамидтетраацетата (ЭДТА). Пробы *feces*, не менее чем от 5 животных с одного хозяйства, не подвергавшихся антибиотикотерапии, отбирали с применением одноразовых стерильных резиновых катетеров в стерильные флаконы непосредственно из прямого отдела толстого кишечника.

Патологический материал от ягнят отбирали не позднее 12-20 часов после падежа животных. Печень с желчным пузырем, сердце, перевязанное лигатурой вблизи разреза сосудов и аорты, селезенку консервировали 30,0 % водным раствором химически чистого глицерина или в стерильном вазелиновом масле, объем консервирующей жидкости превышал объем исследуемого материала в 10-15 раз. Трубчатые кости отбирали в целом виде, плотные соединительные и мышечные ткани отделяли, обертывали марлей, пропитанной 2,5 %-ным раствором креолина. Перед этапом консервирования кишечника, содержимое помещали в одноразовые стерильные пластиковые контейнеры. Орган, перевязанный с двух сторон лигатурой, консервировали в 30,0–40,0 %-ный водный раствор глицерина или непосредственно в среды обогащения: селенитовый бульон; бульон Фразера.

**Индикация и идентификация микроорганизмов.** Индикацию и идентификацию возбудителей болезней в исследуемом материале проводили в соответствии с прилагаемой схемой (рис. 3).

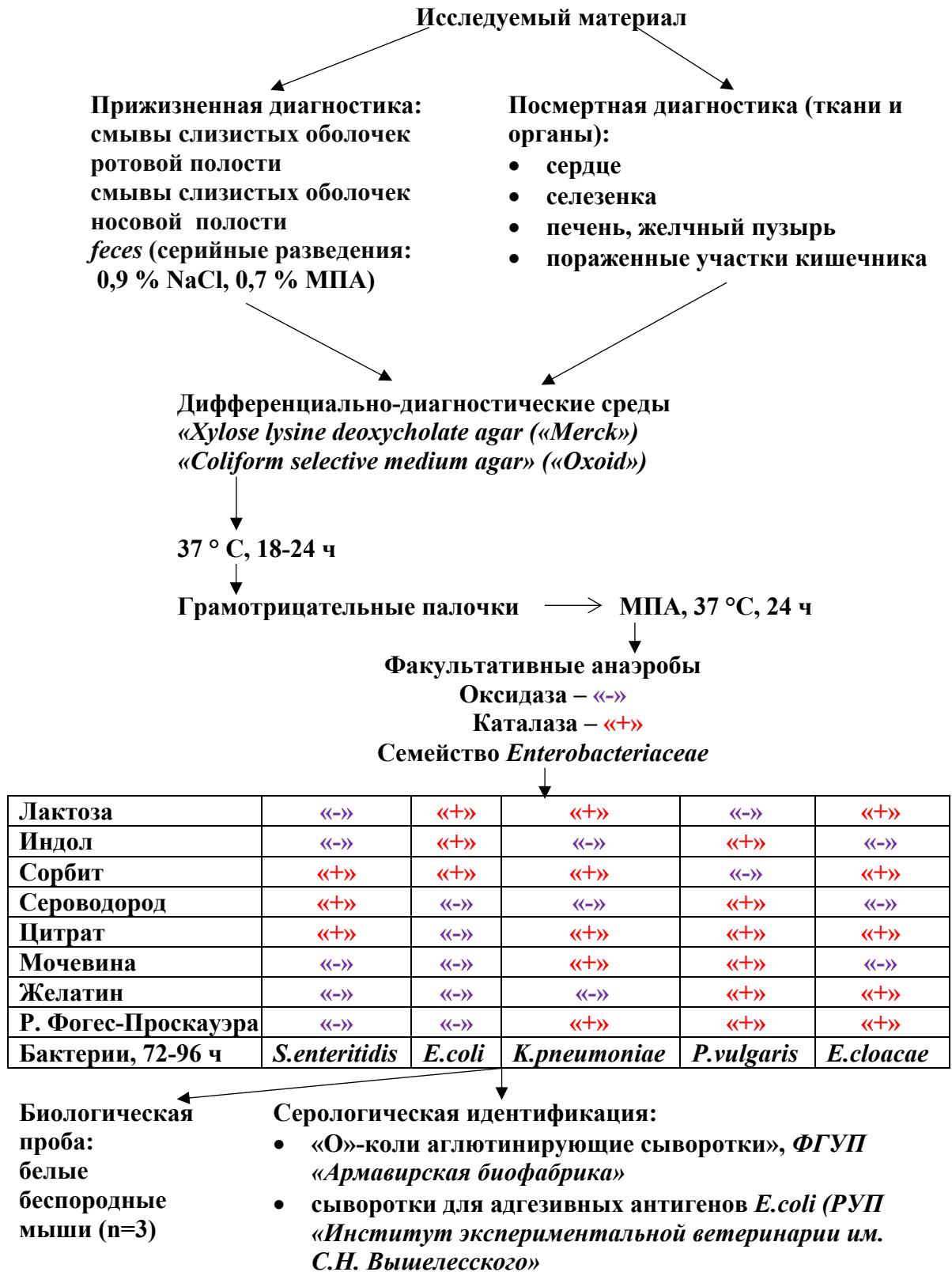


Рис. 3. Схема изучения количественного и видового состава патогенных видов семейства *Enterobacteriaceae*

Отбор проб кормов для бактериологического исследования проводили в соответствии с «Правила бактериологического исследования кормов», 1975 г. При проведении бактериологических исследований к определенному объему (0,1 мл) разведения исследуемых проб в ступке добавляли 10,0 см<sup>3</sup> стерильного 0,85 %-ного раствора *NaCl*, затем тщательно размешивали и выдерживали 10–15 мин при комнатной температуре для осаждения крупных частиц, из основного разведения делали ряд последующих разведений, используя два способа: способ I – серийные разведения в 0,85 % *NaCl*; способ II – серийные разведения в 0,7 % МПА. Учет результатов проводили через 24–48 ч культивирования (Павлова И.Б., Ленченко Е.М., 1999).

Для определения количества бактерий число выросших колоний умножали на степень разведения по формуле:  $x = a^n \times 10$ , где  $x$  – общее микробное число;  $a$  – количество выросших колоний;  $n$  – степень разведения суспензии микроорганизмов.

Идентификацию выделенных культур микроорганизмов проводили, в соответствии с классификационной системой «*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*» (1984–1989) и «Определителем патогенных и условно-патогенных грибов» (Сидоров М.А. и соавт., 1995; Sutton D. et al., 2001). Для определения формы, размера, и расположения относительно друг друга бактериальных клеток, способности к окраске анилиновыми красителями (тинкториальные свойства) готовили мазки из чистых бульонных и агаровых культур микроорганизмов, окрашивали по Граму. Подвижность микроорганизмов определяли посевом уколом бактериологической петлей в столбик полужидкого агара. Через 18–24 ч культивирования при  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  микроорганизмы считали подвижными при диффузном помутнении среды; слабоподвижные – вызывали помутнение изолированных участков среды; неподвижные бактерии росли по направлению укола. Для ускоренной идентификации микроорганизмов применяли тест-системы «API 20E», «ENTEROtest 24», «Immunochromatographic colloidal strip», «API *Listeria*», «API *Campy*», «API *Staph*», состоящие из прозрачной полимерной пластинки с лунками, содержащими дегидратированные субстраты.

Учёт результатов проводили визуально, заполняя бланки с кодами цифрового профиля. Идентификацию проводили с помощью базы данных «*API Data*», путем внесения полученных цифровых профилей.

Наряду с указанными методами использовали микробиологический анализатор «*Sensititre AIM*» («*Thermo Scientific*», США) в соответствии с МУК 4.2.2886-11 «Идентификация микроорганизмов и определение чувствительности их к антибиотикам с применением автоматизированной системы для биохимического анализа». Метод биохимической идентификации, основан на учёте изменения биохимических субстратов под влиянием процессов роста и жизнедеятельности микроорганизмов в исследуемых пробах. Автоматический учёт результатов проводится при сопоставлении с базой данных, включающей информацию о биохимических профилях микроорганизмов. Система позволяет проводить идентификацию и определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам на адаптированных 96-луночных тест-планшетах. Суспензию исследуемых культур микроорганизмов 0,5 ЕД («*McFarland*») в деионизированной воде вносили в лунки 96-луночного тест-планшета с применением стерильных наконечников объемом 1200,0 мкл. Наличие тест-планшетов для экспресс-идентификации позволяет исследовать одновременно от 2 до 4 образцов в течение 5–24 ч (рис. 4).



**Рис. 4. Идентификация микроорганизмов на автоматическом анализаторе «*Sensititre AIM*»:** а – исследуемые пробы 0,5 ЕД («*McFarland*»); б – 96-луночный тест-планшет для идентификации с суспензией исследуемых культур микроорганизмов

Подключение модуля для автоматического культивирования планшетов, совмещенного с модулем автоматического считывания позволяет оптимизировать время подготовки тест-планшетов к считыванию за счёт автоматизации этапов микробиологического исследования. Информация о результатах идентификации микроорганизмов обрабатывается и интерпретируется автоматически, отображается на экране компьютера, с указанием рода, вида, биотипа, альтернативного близкородственного вида и статистических данных.

Масс-спектрометрический анализ рибосомальных белков микроорганизмов и сопоставление базы данных «*Helena Biosciences*» проводили с применением «*MALDI-TOF MS Microflex*» («*Bruker Daltonik Inc.*», Германия) в соответствии с методическими рекомендациями «Идентификация микроорганизмов с применением масс-спектрометра *microflex MALDI Biotyper*», 2014.

**Чувствительность микроорганизмов к антибактериальным препаратам.** Исследование чувствительности микроорганизмов к 28 антибактериальным препаратам 12 классов (табл. 3) проводили методом серийных разведений, с применением стерильных 96-ти луночных микропланшетов («*Corning*», USA) в соответствии с МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам», 2004; EUCAST, Antimicrobial susceptibility testing, disk diffusion method, VET01-A4 Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals, Approved Standard – Fourth Edition.

Изучение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам проводили в жидкой и на плотной питательной среде («*Mueller Hinton Agar*», «*HiMedia*», Индия).

В опытах использовали стандартные коммерческие бумажные диски («*HiMedia*», Индия). На поверхность плотной питательной среды, засеянной сплошным газоном суспензии 18-ти часовой агаровой культуры микроорганизмов, проводили аппликацию дисков, содержащих 5–30 мкг антибиотиков. Исследуемые образцы культивировали при  $37\pm 1$  °C 18-24 часов, результат учитывали по диаметру зон задержки роста с точностью до  $1,0\pm 0,1$  мм.

**Перечень антибактериальных препаратов, используемых  
для определения чувствительности микроорганизмов**

<b>Классы антибиотиков</b>	<b>Антибактериальные препараты</b>	<b>Микроорганизмы</b>
β-лактамы	Ампициллин	<i>Salmonella spp.</i> , <i>E.coli</i> , <i>Enterococcus spp.</i>
	Цефотаксим	<i>E.coli</i> , <i>Staphylococcus spp.</i>
	Амоксициллин	<i>Enterococcus spp.</i>
	Цефтиофур	<i>Salmonella spp.</i> , <i>E.coli</i> ,
	Цефтаролин	<i>Salmonella spp.</i>
Аминогликозиды	Гентамицин	<i>Salmonella spp.</i> , <i>E.coli</i> , <i>Enterococcus spp.</i> , <i>Staphylococcus spp.</i>
	Стрептомицин	<i>Salmonella spp.</i> , <i>E.coli</i> , <i>Enterococcus spp.</i> , <i>Staphylococcus spp.</i>
	Спектиномицин	<i>E.coli</i> , <i>Staphylococcus spp.</i>
Тетрациклины	Доксициклин	<i>Salmonella spp.</i> , <i>E.coli</i> , <i>Enterococcus spp.</i> , <i>Staphylococcus spp.</i>
	Тетрациклин	<i>Salmonella spp.</i> , <i>E.coli</i> , <i>Enterococcus spp.</i> , <i>Staphylococcus spp.</i>
Макролиды	Эритромицин	<i>Enterococcus spp.</i> , <i>Staphylococcus spp.</i>
	Виргиниамицин	<i>Enterococcus spp.</i>
Линкозамиды	Клиндамицин	<i>Staphylococcus spp.</i>
Гликопептиды	Ванкомицин	<i>Enterococcus spp.</i> , <i>Staphylococcus spp.</i>
Полипептиды	Бацитрацин	<i>Enterococcus spp.</i>
Фениколы	Флорфеникол	<i>Salmonella spp.</i> , <i>E.coli</i> , <i>Enterococcus spp.</i>
	Хлорамфеникол	<i>Salmonella spp.</i> , <i>E.coli</i> , <i>Enterococcus spp.</i> , <i>Staphylococcus spp.</i>
Полимиксины	Колистин	<i>Salmonella spp.</i> , <i>E.coli</i> ,
Рифампицины	Рифампицин	<i>E.coli</i> , <i>Enterococcus spp.</i> , <i>Staphylococcus spp.</i>
Фторхинолоны	Энрофлоксацин	<i>E.coli</i>
	Ципрофлоксацин	<i>Salmonella spp.</i> , <i>E.coli</i> , <i>Enterococcus spp.</i> , <i>Staphylococcus spp.</i>
	Левофлоксацин	<i>Salmonella spp.</i>
	Марбофлоксацин	<i>Salmonella spp.</i>

А также применяли тест-системы: «Hexa G-minus 23», предназначенных для изучения чувствительности к антибактериальным препаратам грамотрицательных бактерий; «HexaDisc G-plus 18» – грамположительных бактерий, представляющие набор из 6 одиночных дисков, радиально прикрепленных к центральной пластине, что позволяет одновременно изучить чувствительность бактерий к антибиотикам разных групп. Исследуемые образцы культивировали при  $37\pm 1$  °C 18-24 часа, оценку результат учитывали по диаметру зоны задержки роста.

Исследования устойчивости микроорганизмов к дезинфицирующим средствам проводили в соответствии с методическими указаниями «О порядке испытания новых дезинфицирующих средств для ветеринарной практики», М. 1987. При оценке чувствительности микроорганизмов к дезинфицирующим средствам использовали метод диффузии в агар.

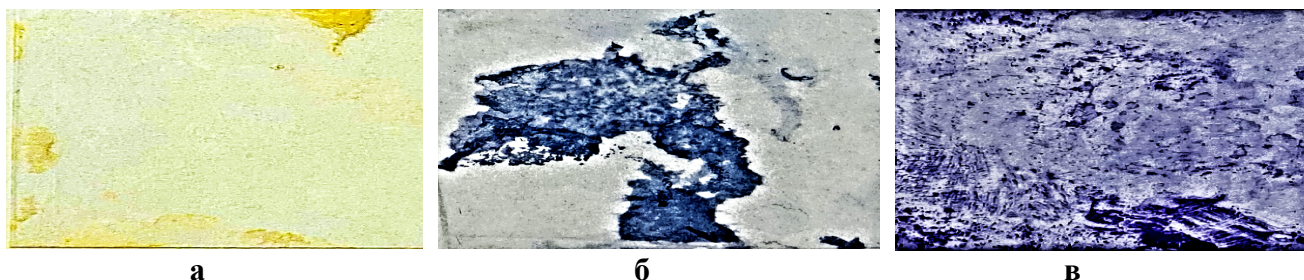
В плотной питательной среде, предварительно засеянной культурой тест-штамма, стерильным пробочным сверлом вырезали отверстия (лунки),  $d=18,0$  мм, в которые вносили дезинфицирующие средства в различных концентрациях. Исследуемые образцы культивировали при  $37\pm 1$  °C в течение 48 ч, результаты учитывали по наличию или отсутствию зон задержки роста культур микроорганизмов, диаметры зон задержки роста (мм) определяли с помощью шатнген-циркуля.

#### **2.1.4. Методы изучения патогенных свойств бактерий**

***Морфометрические показатели биопленок микроорганизмов.*** Культуры микроорганизмов (4 ЕД, «McFarland») культивировали при  $37\pm 1$  °C в течение 2–144 ч, а также при воздействии препаратов: «Хлоргексидин» (ООО «БиАгро», Россия), «Экодез» (ОАО НПО «Новодез», Россия); «Абактерил» (ООО «Рудез», Россия).

Для исследования формирования биоплёнок микроорганизмов в полужидких и жидких питательных средах использовали 17-18-часовые культуры микроорганизмов (в S-форме), выращенных на плотных питательных средах.

Взвесь микроорганизмов в концентрации 4 ЕД («*McFarland*») в объеме 100,0 мкл мл предварительно встряхивали на шейкере «*Vortex*» («*ThermoFisher Scientific*», USA) и вносили в лунки планшетов (ОАО «Фирма Медполимер», Россия), на дно которых помещали покровные стёкла 18,0×18,0 мм («*Corning Inc.*», USA). Фиксацию производили 96,0 % этанолом в течение 15 мин., подсушивали 37 °С, 20 мин; смесью спирт: эфир (1:1) – 10 мин; 4,0 %-ным раствором глутарового альдегида – 30–40 мин, 1,0 % водного раствора тетраоксида осмия – 1–2 мин. Препараты окрашивали 0,5 %-ным раствором метиленового синего; водным раствором генцианвиолета в разведении 1:2000; водным раствором акридинового оранжевого в разведении 1:2000; по Граму, с помощью набора для окраски по Граму («БиоВитрум», Россия) (рис. 5).



**Рис. 5. Способы подготовки препаратов для оптической микроскопии: а – акридиновый оранжевый, б – трипановый синий, в – генцианвиолет**

Для определения жизнеспособности микроорганизмов использовали краситель «*Live/Dead*» («*Thermo Fisher Scientific*», США), в концентрации 1 мг/мл. Для учёта количества микроорганизмов (КОЕ/мл) на каждом этапе культивирования из лунок планшета отбирали 100,0 мкл суспензии микроорганизмов, производили высев на поверхность плотных питательных сред (Ленченко Е.М., 1996). Для изучения морфологии биопленок при сканирующей электронной микроскопии покровные стекла с биопленками, после фиксации и сушки при 37±1 °С в течение 12 часов, покрывали микрослоем, 4 нм микронизированного хрома с помощью напылительной настольной установки «*Q150T ES*», («*Quorum Technologies*», Великобритания). Препараты исследовали с помощью сканирующего электронного микроскопа, «*Mira3 LM*», «*Vega LMH*» («*TESCAN Brno*», Республика Чехия), при ускоряющем напряжении 10 кВ, с увеличением x200–10000 (рис. 6).



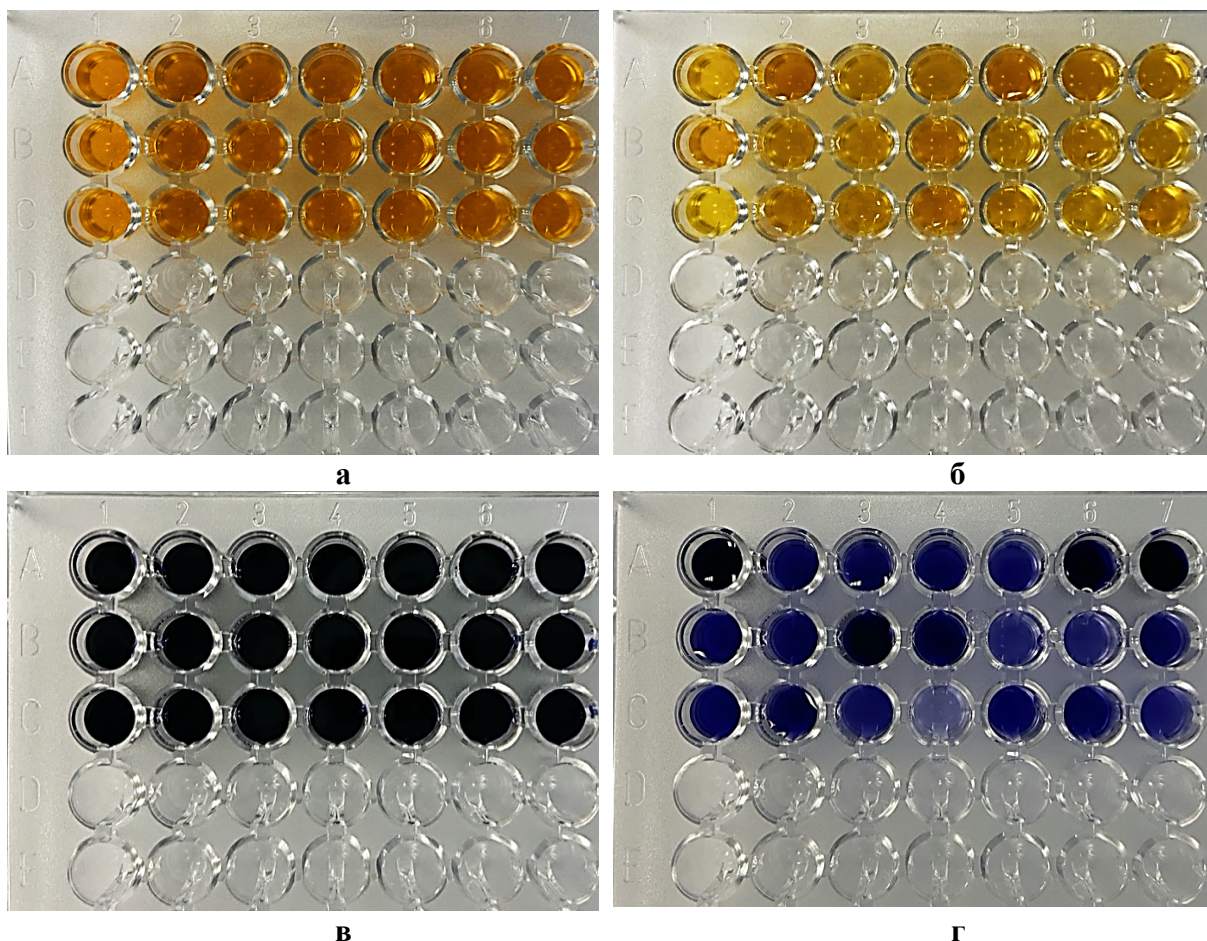
а

б

**Рис. 6. Сканирующая электронная микроскопия: а – настольная напылительная установка «Q150T ES» («Quorum Technologies», Великобритания); б – сканирующий электронный микроскоп «Mira3 LM» («TESCAN Brno», Республика Чехия)**

### ***Денситометрические показатели биопленок микроорганизмов.***

Оптическую плотность (*Optical Density – OD*) определяли по степени связывания кристаллического фиолетового («Himedia», Индия) при длине волны 490 нм ( $OD_{490}$ ) в микропланшетном фотометрическом анализаторе «Immunochem-2100» («HTI», США). Для этого в лунки 96-луночного планшета («Фирма Медполимер», Россия) вносили исследуемые образцы в концентрации 4 ЕД («McFarland») и культивировали при  $37 \pm 1$  °С, 48 ч. Затем жидкость удаляли, лунки планшетов трижды промывали 200,0 мкл фосфатно-солевым раствором (рН 7,3). На каждой стадии промывки планшеты встряхивали в течение 5 мин. Фиксацию производили 150,0 мкл 96,0 % этанолом в течение 15 мин, затем лунки подсушивали  $37 \pm 1$  °С, 20 мин. В лунки вносили 0,5 %-ный раствор кристаллического фиолетового, 0,1 %-ный раствор акридинового оранжевого, культивировали  $37 \pm 1$  °С, 5 мин (рис. 7).



**Рис. 7. Способы окрашивания клеток биоплёнок в 96-луночных планшетах: а, б – окрашивание биоплёнок 0,1 % раствором акридинового оранжевого и фиксация 96° этиловым спиртом; б, в – окрашивание биоплёнок 0,5 % раствором кристаллического фиолетового и фиксация 96° этиловым спиртом**

Содержимое лунок удаляли, трижды промывали 200,0 мкл фосфатно-буферным раствором (рН 7,3), подсушивали. Краситель элюировали из адгезированных клеток 200,0 мкл 96,0 %-ным этанолом в течение 30 мин.

Учитывали показатели оптической плотности образца (*Density of the sample* –  $OD_s$ ) и оптической плотности контроля (*Density of the control* –  $OD_c$ ). Исследуемые культуры микроорганизмов дифференцировали по интенсивности формирования биоплёнки:

- $OD_s \leq OD_c$  – микроорганизмы не продуцирующие биоплёнку;
- $OD_c < OD_s \leq (2 \times OD_c)$  – слабые продуценты биопленки;
- $(2 \times OD_c) < OD_s \leq (4 \times OD_c)$  – умеренные продуценты биопленки;
- $(4 \times OD_c) < OD_s$  – сильные продуценты биопленки (Lenchenko E.M. et al., 2018; Cadavid E. & Echeverri F., 2019).

### ***Адгезивные свойства и устойчивость бактерий к фагоцитозу.***

Исследование проводили при взаимодействии с клетками крови млекопитающих, культуры микроорганизмов в концентрации 1 млрд/мл и суспензию эритроцитов животных концентрацией 100 млн/мл культивировали при  $37 \pm 1$  °С, 24 ч, готовили мазки крови и окрашивали 0,5 % раствором генцианвиолета. При учете не менее 50 эритроцитов определяли показатели: средний показатель адгезии (СПА) – среднее число микроорганизмов, прикрепившихся к поверхности одного эритроцита; коэффициент адгезии (КА) – % эритроцитов, имеющих на своей поверхности бактерии; индекс адгезии (ИА) – отношение показателей СПА и КА. В зависимости от значений индекса адгезии микроорганизмов,  $IA=1,00-1,75$  бактерии считали неадгезивные;  $IA=1,76-2,49$  – низкоадгезивные;  $IA=2,50-3,99$  – среднеадгезивные;  $IA \geq 4,00$  – высокоадгезивные (Ленченко Е.М., 1996; 2014; Yin W. et al., 2019).

***Антагонистические свойства бактерий.*** Способность продуцировать бактериоцины определяли с применением методов «агаровые блочки» и «наслоение». Показатели ингибиции роста исследуемых культур микроорганизмов учитывали при визуальной оценке интенсивности роста («+» слабый, «++» средний, «+++» обильный) в сравнении с контролем, параллельно проводили учет КОЕ микроорганизмов при пересеве на плотные питательные среды.

При определении дилатации кишечника белых беспородных мышей заражали *per rectum* культурой микроорганизмов, 4 ЕД «McFarland» в объеме 0,2 мл. Группа мышей, которым вводили стерильный МПБ – отрицательный контроль, группа зараженных мышей – положительный контроль. Через 4 ч после заражения мышей усыпляли эфиром и проводили вскрытие. Взвешивали тонкий кишечник и оставшуюся часть тела. Коэффициент расширения тонкого кишечника (К) за счет накопления в просвете жидкости, продуцируемой под воздействием энтеротоксинов – отношение массы тонкого кишечника с содержимым к массе остального тела. Определяли коэффициент расширения для каждой мыши, вычисляя затем среднюю арифметическую и коэффициент достоверности различий средних величин по отношению к отрицательному контролю.

### 2.1.5. Методы статистической обработки результатов исследований

Результаты экспериментальных исследований обрабатывали методом вариационной статистики, с использованием программы «*Statistika*» («*StatSoft, Inc.*», США) для PC *Microsoft Excel 2021*.

Статистическую ошибку средней арифметической ( $m$ ) определяли по формуле:  $m = K \cdot \Sigma a$ , где  $K$  – константа Молденгауэра;  $\Sigma a$  – сумма отклонений вариантов от средней арифметической. Константа Молденгауэра рассчитана по формуле:  $K = \frac{1}{0,79788 \times n \sqrt{n-1}}$ ; где  $n$  – число повторности. Коэффициент достоверности средней арифметической ( $t$ ) для одного вариационного ряда определяли по формуле:  $t = \frac{M}{m}$ . Показатель коррелятивной зависимости определяли в соответствии с формулой коэффициента корреляции Пирсона:  $r = \frac{\Sigma(x_i - \bar{x}) \times (y_i - \bar{y})}{\sqrt{\Sigma(x_i - \bar{x})^2 - \Sigma(y_i - \bar{y})^2}}$ ;  $r = 0,99$  ( $p < 0,01$ );  $r = 0,95$  ( $p < 0,05$ ).

Коэффициент достоверности различий средних величин двух вариационных рядов вычисляли по формуле:  $t_d = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{M_1^2 + M_2^2}}$

По величине  $t_d$  судили о достоверности, основываясь на связи этой величины с уровнем вероятности ( $P$ ), по таблице Стьюдента-Фишера.

Метод статистического анализа результатов экспериментов проводили по программе «*Statistical Analysis Software, SAS*» («*Statistics Solutions*»), учитывая критерий достоверности ( $t$ -критерий) Стьюдента. Использовали операционную систему (ОС) «*macOS Ventura 13.0.01*», «*Windows 10, 11*» пакет приложений «*Microsoft office 2022*», включающий в себя «*Microsoft Word*»; «*Microsoft Excel*»; «*Microsoft PowerPoint*». Комплектация включала компьютер, оборудованный процессором «*Apple M1 pro*», технология 5,0 нм литографической печати, содержащий 14 графических ядер; производительность графических ядер – 5,2 TFLOPS; 16,0 гб объединенной памяти.

## **2.2. Результаты исследований**

### **2.2.1. Клинические признаки и особенности течения болезней органов пищеварения ягнят**

В период с 2018 по 2021 годы были проведены исследования в ФГУП «Ононское» Забайкальского края. Диагноз на наличие болезней органов пищеварения ягнят, вызываемых патогенными энтеробактериями, устанавливали на основании бактериологических исследований с учетом эпизоотологических данных, клинических признаков, гематологических, биохимических, иммунологических результатов и патоморфологических изменений. При ретроспективном анализе этиологической структуры болезней ягнят в животноводческих хозяйствах Забайкальского края учитывали первичные данные «Отчет о незаразных болезнях животных» форма № 2-вет.

При проведении анализа данных ветеринарной отчетности было установлено, что смертность овец за период 2016–2021 гг. составила 5,27 %, летальность в этот период колебалась: 14,25 % – в 2016 году, 22,42 % – в 2017 году, 17,60 % – в 2018 году, 21,84 % – в 2019 году, 22,90 % – в 2020 году и 16,59 % – в 2021 году голов. При анализе данных о структуре болезней животных установлено, что в 2016 году зарегистрировано 14116 больных животных, из них молодняка до 3 месяцев – 4469 голов. В 2017 году зарегистрировано 19338 больных животных, из них молодняка до 3 месяцев – 3537 голов; в 2018 году – 27503 больных животных, из них молодняка до 3 месяцев – 3361 голов; в 2019 году – 20436 больных животных, из них молодняка до 3 месяцев – 2520 голов; в 2020 году – 16019 больных животных, из них молодняка до 3 месяцев – 2287 голов; в 2021 году – 14858 больных животных, из них молодняка до 3 месяцев – 2142 голов. Из общего числа заболеваний болезни органов пищеварения составляли 26,76–36,75 %, у молодняка до 3 месяцев 12,22–18,49 %; болезни органов дыхания – 26,44–33,84 %, у молодняка до 3 месяцев 12,31–15,30 % (табл. 4).

**Структура болезней мелкого рогатого скота  
Забайкальского края в период с 2016 по 2021 гг.**

Структура болезней овец	Число животных, голов		
	Зарегистрировано больных животных первично	Из числа зарегистрированных больных животных пало и вынуждено убито	
		Пало	Вынуждено убито
<b>2016 год</b>			
Всего	14116	3443	471
Из числа заболевших: болезни органов пищеварения	7786	1828	250
В том числе больных ягнят	4469	860	21
Болезни органов дыхания	6390	867	124
В том числе больных ягнят	3216	444	8
Болезни органов размножения у маток	1953	312	44
<b>2017 год</b>			
Всего	19338	4346	216
Из числа заболевших: болезни органов пищеварения	7125	2199	83
В том числе больных ягнят	3537	1233	-
Болезни органов дыхания	5498	1238	56
В том числе больных ягнят	2505	457	-
Болезни органов размножения у маток	2134	386	26
<b>2018 год</b>			
Всего	27503	4840	99
Из числа заболевших: болезни органов пищеварения	7359	1808	36
В том числе больных ягнят	3361	711	3
Болезни органов дыхания	7953	1853	51
В том числе больных ягнят	3608	813	-
Болезни органов размножения у маток	1862	363	1
<b>2019</b>			
Всего	20436	4464	124
Из числа заболевших: болезни органов пищеварения	5765	1681	43
В том числе больных ягнят	2520	694	3
Болезни органов дыхания	6178	1498	13
В том числе больных ягнят	2515	346	1
Болезни органов размножения у маток	1456	330	13
<b>2020</b>			
Всего	16019	3669	352
Из числа заболевших: болезни органов пищеварения	5295	1446	47
В том числе больных ягнят	2287	410	-
Болезни органов дыхания	5421	1237	244
В том числе больных ягнят	2451	244	-
Болезни органов размножения у маток	1768	322	11
<b>2021</b>			
Всего	14858	2465	54
Из числа заболевших: болезни органов пищеварения	4281	970	13
В том числе больных ягнят	2142	307	-
Болезни органов дыхания	4389	898	9
Болезни органов размножения у маток	1606	277	11

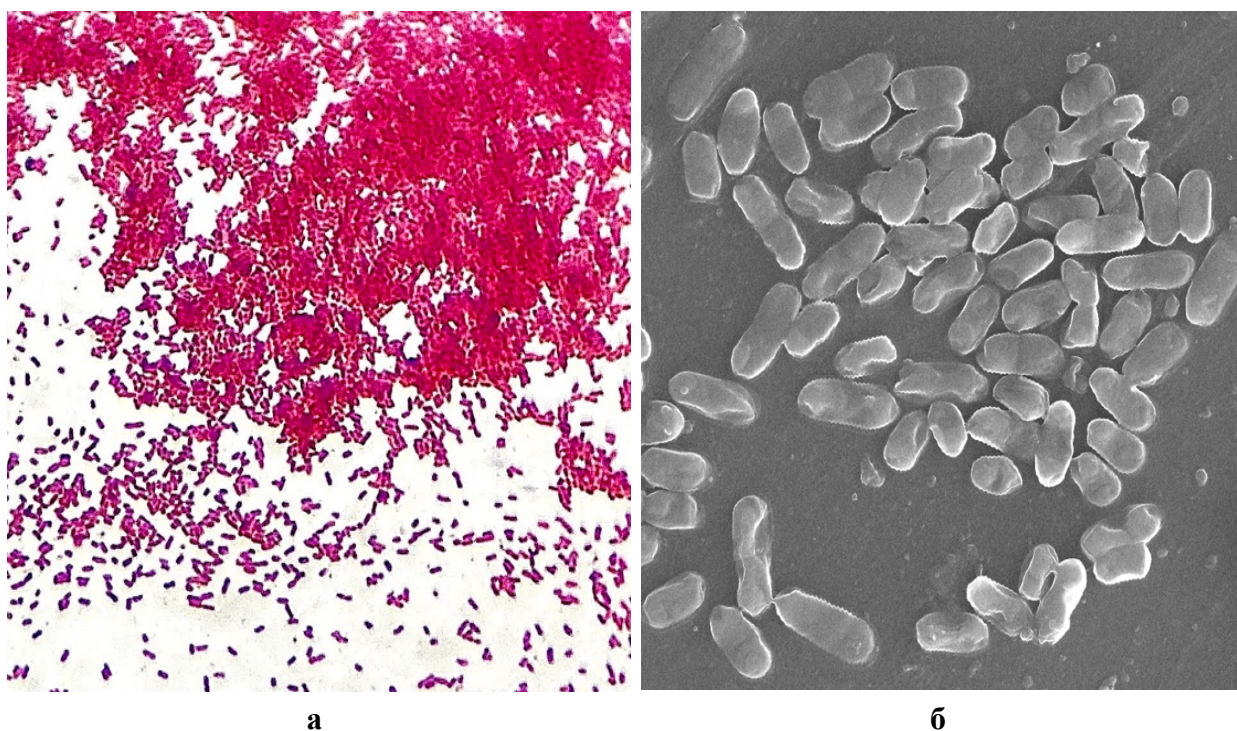
Установлено доминирование удельного веса болезней органов пищеварения молодняка животных. В 2016 году было зарегистрировано 7786 голов животных с болезнями органов пищеварения, что составляло 32,22 % от общего числа болезней, в том числе молодняка до 3 месяцев – 4469 голов (18,49 %). В 2017 году было зарегистрировано 7125 голов, что составляло 36,75 % от общего числа болезней, в том числе молодняка до 3 месяцев – 3537 голов (18,29 %). В 2018 году – 7359 голов, что составляло 26,76 % от общего числа заболеваний, в том числе молодняка до 3 месяцев – 3361 голов (12,22 %). В 2019 году – 5765 голов, что составляло 28,21 % от общего числа заболеваний, в том числе молодняка до 3 месяцев – 2520 голов (12,33 %). В 2020 году – 5295 голов, что составляло 33,05 % от общего числа заболеваний, в том числе молодняка до 3 месяцев – 2287 голов (14,28 %). В 2021 году – 4281 голов, что составляло 28,81 % от общего числа заболеваний, в том числе молодняка до 3 месяцев – 2142 голов (14,42 %).

При болезнях органов пищеварения ягнят приуроченность к сезонам года наблюдалась в зимне-весенний период, острое течение болезни отмечали преимущественно у животных периода новорожденности до 7 суток, подострое и хроническое течение – 7-90 суток. Установлена положительная корреляционная зависимость ( $r=0,96$ ) между показателями распространенности болезней органов размножения овцематок – 6,77–13,84 % и болезнями органов пищеварения ягнят, составляющими 13,09–14,29 %.

Клиническая картина характеризовалась нарушением функции желудочно-кишечного тракта, желтушностью слизистых оболочек, ухудшением аппетита, усилением жажды, воспалением, конъюнктивитами, взъерошенностью шерстного покрова. При остром течении выявляли повышение общей температуры тела до  $41,5 \pm 0,5$  °C, учащение частоты пульса –  $89,31 \pm 1,90$  уд/мин и дыхания –  $36,8 \pm 1,78$  дв/мин, болезненность брюшной стенки. Поражения нервной системы сопровождались депрессией, сменяющейся возбуждением, судорогами атаксией, парезами, параличами конечностей.

Выявляли нарушение сердечной деятельности, учащение сердечного толчка и тонов пульса, последовательности сердечных сокращений. Дыхание напряженное, поверхностное с влажными хрипами. При перкуссии легких выявляли очаги тимпанического звука, при аускультации грудной клетки в области передних участков легких обнаруживали бронхиальное дыхание и очаговые мелкопузырчатые хрипы. Отмечали воспаление слизистой оболочки дыхательных путей, гиперсекрецию и активацию местных защитных реакций, кашель, одышка, истечения из носа, отмечали ринит, фарингит, тонзиллит, ларингит, эпиглоттит, отек гортани, трахеит, бронхит, гиперемия и отек легких, плеврит, гидроторакс, пневмоторакс. Наблюдали желтушность слизистых оболочек, частота сокращений рубца достигала  $4,35 \pm 0,16$  движений, 2 мин. Установлено увеличение зоны печеночного притупления и болезненность в области печени, интоксикация, олигоурия.

Дефекация частая, фекалии водянистые, зловонные, желтоватого или серо-белого цвета. При микроскопическом исследовании выявляли сгустки молозива,  $10,0 \pm 2,5$  см, грамтрицательные бактерии (рис. 8).



**Рис. 8. Морфология микроорганизмов микробиоценозов кишечника при болезнях органов пищеварения ягнят: а – оптическая микроскопия, окраска по Граму. Ок. 10, об. 100, иммерсия; б – сканирующая электронная микроскопия, х 10000**

При развитии признаков непрекращающейся диареи, дегидратации, истощения установлено достоверное увеличение ( $p \leq 0,05$ ) частоты обнаружения микроскопических структур: мелкозернистая масса, зёрна крахмала, частицы непереваренной растительной пищи, слизь, кровь, пленки фибрина, жировые клетки, кристаллы жирных кислот в виде тонких игловидных структур, что являлось диагностическим признаком стеатореи, наблюдалась в большом количестве зёрна крахмала – амилорея, частицы непереваренной растительной пищи – лиенторея, йодофильная микрофлора (табл. 5).

Таблица 5

### Результаты микроскопических исследований

Показатели	Группы животных (n=40)			
	Период новорожденности – 7 суток		8–90 суток	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
Сгустки молозива	+++	–	–	–
<b>Растительная клетчатка:</b>				
Перевариваемая	–	–	+++	+++
Не перевариваемая	–	–	+++	–
Крахмал	–	–	+++	+
Нейтральные жиры	–	–	++	–
Жирные кислоты	+	+	++	+
Соли жирных кислот	–	–	++	–
Кишечный эпителий	++	–	+	–
Слизь	+++	+	+++	+
Эритроциты	–	–	–	–
Лейкоциты	+	+	+	+
Волокна фибрина	++	–	++	–
<b>Микроорганизмы:</b>				
Йодофильные	+++	+	+++	+
Грам «–»	+++	+	+++	+
Грам «+»	+	+	+	+
Микроскопические грибы	++	–	++	–
<i>Примечание: болезни органов пищеварения – опыт; клинически здоровые ягнята – контроль</i>				

Подострое и хроническое течение характеризовалось незначительным повышением общей температуры тела до  $40,8 \pm 0,3$  °C, учащением частоты пульса –  $54,62 \pm 2,31$  уд/мин и дыхания –  $34,2 \pm 1,13$  дв/мин, фекалии желто-серого цвета, жидкие с наличием пузырьков и комочков.

Нарушение деятельности желудочно-кишечного тракта сопровождалось гипотонией рубца, отсутствием шумов книжки и увеличением зоны печеночного притупления. Частота сокращений рубца снижалась, 30,0–60,0 % и составляла  $2,63 \pm 0,71$  в 2 мин. При снижении моторной функции рубца, основные сокращения ослаблялись, количество дополнительных сокращений увеличивалось. Установлено снижение силы и количества ритмических сокращений слепой кишки, снижение перистальтических сокращений. Поражения конечностей характеризовались увеличением объема суставов вследствие повышенного содержания синовиальной жидкости, мышечная ткань конечностей уплотнена, атрофирована.

При острой форме течения болезней органов пищеварения ягнят периода новорожденности до 7 суточного возраста установлена достоверная частота индикации  $\geq 90,0$  % поля зрения микроскопа – грамотрицательные палочковидные бактерии; подострое и хроническое течение, 7-90 суток – грамотрицательные, грамположительные бактерии, хламидоспоры, бластоспоры, гифы и псевдогифы дрожжеподобных грибов.

### **2.2.2. Динамика гематологических, иммунологических и биохимических показателей при болезнях органов пищеварения ягнят**

При развитии синдрома желудочно-кишечных болезней ягнят установлено увеличение числа эритроцитов –  $11,4 \pm 0,51 \cdot 10^{12}/л$ ; лейкоцитов –  $13,1 \pm 0,22$  %; тромбоцитов –  $937,0 \pm 0,25$  %; лимфоцитов –  $78,6 \pm 0,21$  %; эозинофилов –  $5,50 \pm 0,16$  %; гранулоцитов –  $7,29 \pm 0,53$  тыс/мкл; популяции эритроцитов –  $20,88 \pm 0,77$  %; показателей гематокрита –  $0,412 \pm 0,03$  Ед; общего билирубина –  $1,56$  ммоль/л; холестерина –  $4,14 \pm 0,03$  ммоль/л; фосфора –  $3,5$  ммоль/л; АЛТ –  $35,11 \pm 0,90$  Ед/л; АСТ –  $122,08 \pm 0,31$  Ед/л; ЛДГ –  $1701,0 \pm 6,0$  Ед/л;  $\alpha$ -амилазы –  $15,8 \pm 1,9$  Ед; кальция –  $9,5 \pm 0,14$  мг/100 мл; мочевины –  $9,7 \pm 0,07$  мм/л; креатинина –  $97,1 \pm 0,13$  мкм/л; триглицериды –  $1,4 \pm 0,06$  мм/л сыворотки крови.

Наблюдали снижение числа моноцитов –  $2,12 \pm 0,06$  %; нейтрофилов –  $19,1 \pm 0,05$  %; гранулоцитов –  $7,29 \pm 0,53$  тыс/мкл; показателей гемоглобина –  $8,1 \pm 0,50$  г/дл; объема эритроцитов –  $28,40 \pm 0,70$  фл; СОЭ –  $2,05 \pm 0,21$  мм/ч; щелочной фосфатазы –  $211,2 \pm 1,2$  ед/л; общего белка –  $56,4 \pm 3,48$  г/л; альбуминов –  $29,6 \pm 0,166$  г/л; глюкозы –  $2,1 \pm 0,17$  мм/л; кальция –  $9,5 \pm 0,14$  мг/100 мл; железа –  $30,1 \pm 0,09$  мкм/л (табл. 6).

Таблица 6

## Гематологические и биохимические показатели сыворотки крови ягнят

Показатели крови и сыворотки крови	Группы животных (n=10)			
	Ягнята, 1-7 суток		Ягнята, 8–60 суток	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
Эритроциты, $10^{12}/л$	$11,4 \pm 0,51$	$7,73 \pm 0,18$	$13,46 \pm 0,41$	$10,35 \pm 0,79$
Лейкоциты, $10^9/л$	$13,1 \pm 0,22$	$9,2 \pm 0,09$	$9,3 \pm 0,08$	$6,0 \pm 0,12$
Гемоглобин, г/дл	$8,1 \pm 0,50$	$10,6 \pm 0,18$	$9,6 \pm 0,40$	$11,9 \pm 0,54$
Гематокрит, Ед	$0,449 \pm 0,03$	$0,431 \pm 0,13$	$0,251 \pm 0,07$	$0,439 \pm 0,07$
Объем эритроцитов, фл	$28,40 \pm 0,70$	$31,80 \pm 0,85$	$31,50 \pm 0,59$	$42,4 \pm 0,16$
Нв/эритроцит, пг	$07,64 \pm 0,18$	$10,53 \pm 0,13$	$08,43 \pm 0,10$	$11,50 \pm 0,17$
Нв/эритроцит, г/дл	$20,01 \pm 0,14$	$25,94 \pm 0,24$	$21,12 \pm 0,55$	$27,10 \pm 0,42$
Тромбоциты, $10^9/л$	$937,0 \pm 0,25$	$891,0 \pm 0,21$	$921,0 \pm 0,11$	$885,0 \pm 0,13$
Лимфоциты, %	$78,6 \pm 0,21$	$56,1 \pm 0,31$	$70,4 \pm 0,35$	$62,4 \pm 0,40$
Моноциты, %	$2,12 \pm 0,06$	$7,63 \pm 0,01$	$6,21 \pm 0,06$	$7,00 \pm 0,06$
Нейтрофилы, %	$19,1 \pm 0,05$	$34,0 \pm 0,76$	$30,5 \pm 0,09$	$27,0 \pm 0,11$
Эозинофилы, %	$5,50 \pm 0,16$	$5,22 \pm 0,06$	$5,94 \pm 0,12$	$4,00 \pm 0,18$
Лимфоциты, $10^9/л$	$240,0 \pm 1,03$	$234,6 \pm 1,53$	$236,7 \pm 1,11$	$220,9 \pm 1,02$
Популяции эритроцитов, %	$20,88 \pm 0,77$	$19,88 \pm 0,63$	$16,20 \pm 0,42$	$18,92 \pm 0,32$
СОЭ, мм/ч	$2,05 \pm 0,21$	$2,68 \pm 0,17$	$1,88 \pm 0,08$	$2,12 \pm 0,31$
Моноциты, тыс/мкл	$4,8 \pm 0,42$	$6,8 \pm 0,33$	$2,14 \pm 0,56$	$4,96 \pm 0,47$
Гранулоциты, тыс/мкл	$7,29 \pm 0,53$	$5,96 \pm 0,89$	$7,05 \pm 0,51$	$4,82 \pm 0,68$
АЛТ, Ед/л	$35,11 \pm 0,90$	$31,10 \pm 1,28$	$33,94 \pm 0,19$	$29,80 \pm 0,52$
АСТ, Ед/л	$122,08 \pm 0,31$	$118,31 \pm 2,64$	$187,08 \pm 0,52$	$116,09 \pm 0,29$
Билирубин общий, мкм/л	$7,3 \pm 1,63$	$5,1 \pm 0,20$	$5,8 \pm 0,21$	$4,81 \pm 0,21$
Щелочная фосфатаза, Ед/л	$211,2 \pm 1,2$	$289,2 \pm 0,89$	$206,4 \pm 5,4$	$263,8 \pm 0,75$
ЛДГ, Ед/л	$1701,0 \pm 6,0$	$1065,0 \pm 9,1$	$1208,0 \pm 9,1$	$997,1 \pm 1,1$
Общий белок, г/л	$56,4 \pm 3,48$	$71,2 \pm 2,69$	$51,13 \pm 0,50$	$69,3 \pm 0,59$
$\alpha$ -амилаза, Ед	$15,8 \pm 1,9$	$11,2 \pm 0,2$	$13,3 \pm 0,7$	$12,1 \pm 0,6$
Альбумины, г/л	$29,6 \pm 0,166$	$36,7 \pm 0,85$	$31,41 \pm 0,63$	$40,26 \pm 0,74$
Глюкоза, мм/л	$2,1 \pm 0,17$	$7,8 \pm 0,46$	$3,5 \pm 0,09$	$7,2 \pm 0,27$
Кальций, мг/100 мл	$9,5 \pm 0,14$	$9,4 \pm 0,11$	$11,3 \pm 0,12$	$10,2 \pm 0,09$
Фосфор, мг/100 мл	$4,6 \pm 0,01$	$3,9 \pm 0,07$	$4,4 \pm 0,01$	$3,7 \pm 0,07$
Мочевина, мм/л	$9,7 \pm 0,07$	$5,0 \pm 0,10$	$8,74 \pm 0,022$	$5,7 \pm 0,82$
Креатинин, мкм/л	$97,1 \pm 0,13$	$70,0 \pm 0,24$	$89,7 \pm 0,27$	$68,2 \pm 0,19$
Триглицериды, мм/л	$1,4 \pm 0,06$	$0,2 \pm 0,03$	$1,9 \pm 0,14$	$0,3 \pm 0,02$
Железо, мкм/л	$30,1 \pm 0,09$	$49,7 \pm 0,11$	$33,5 \pm 0,20$	$56,3 \pm 0,19$
Холестерин, мм/л	$4,06 \pm 0,04$	$2,13 \pm 0,07$	$3,47 \pm 0,09$	$1,46 \pm 0,03$

**Примечание:** болезни органов пищеварения – опыт; клинически здоровые ягнята – контроль;  $p \leq 0,05$

Изменение иммунологических показателей характеризовалось увеличением общего популяционного числа лейкоцитов –  $13,1 \pm 0,22$  %, лимфоцитов –  $78,6 \pm 0,21$  %, моноцитов –  $2,12 \pm 0,06$  %, нейтрофилов –  $19,1 \pm 0,05$  %; снижением фагоцитарной активности клеток крови –  $60,22 \pm 1,24$  %, общей окислительно-восстановительной активности нейтрофилов –  $103,20 \pm 11,70$ ; бактерицидной активности сыворотки крови –  $37,98 \pm 0,18$  % (табл. 7).

Таблица 7

**Результаты иммунологических исследований  
крови и сыворотки крови ягнят**

Показатели	Группы животных (n=10)			
	Ягнята, 1-7 суток		Ягнята, 8–60 суток	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
С-реактивный белок	$5,12 \pm 0,32$	$6,08 \pm 0,34$	$5,12 \pm 0,32$	$6,08 \pm 0,34$
Бактерицидная активность сыворотки крови, %	$11,4 \pm 0,51$	$7,73 \pm 0,18$	$13,46 \pm 0,41$	$10,35 \pm 0,79$
Лейкоциты, тыс/мкл	$18,19 \pm 0,90$	$9,67 \pm 0,92$	$18,27 \pm 0,81$	$9,67 \pm 0,92$
Нейтрофилы, %	$47,24 \pm 0,54$	$59,45 \pm 0,38$	$47,34 \pm 0,65$	$59,45 \pm 0,48$
Лимфоциты, %	$47,09 \pm 0,92$	$39,73 \pm 0,90$	$47,09 \pm 0,81$	$39,73 \pm 0,90$
Моноциты, %	$6,13 \pm 0,43$	$7,09 \pm 0,45$	$6,23 \pm 0,43$	$7,09 \pm 0,45$
Эозинофилы, %	$4,09 \pm 0,74$	$2,91 \pm 0,75$	$4,09 \pm 0,74$	$2,91 \pm 0,71$
Фагоцитарный индекс, %	$7,55 \pm 0,97$	$9,93 \pm 0,82$	$7,55 \pm 0,97$	$9,93 \pm 0,72$
Фагоцитарная активность, %	$61,33 \pm 3,35$	$68,53 \pm 4,34$	$61,31 \pm 2,11$	$68,51 \pm 4,34$
<b>Тест нитросиний тетразолий, n=10:</b>				
НСТ спонтанный	$288,91 \pm 9,37$	$218,31 \pm 36,11$	$297,32 \pm 5,14$	$230,41 \pm 14,10$
НСТ индуцированный	$293,11 \pm 8,10$	$180,5 \pm 21,80$	$280,20 \pm 4,21$	$188,50 \pm 11,21$
Индекс стимуляции	$1,02 \pm 1,27^*$	$1,21 \pm 1,43$	$1,06 \pm 0,93^*$	$1,22 \pm 2,89$
<i>Примечание: болезни органов пищеварения – опыт; клинически здоровые ягнята – контроль; <math>p \leq 0,05</math></i>				

Через 15 мин взаимодействия клеток крови животных и бактерий фагоцитарное число составило  $2,7 \pm 0,23$ , фагоцитарный индекс –  $11,2 \pm 0,17$ . Через 60 мин взаимодействия показатели фагоцитарной активности клеток крови увеличивались, фагоцитарное число –  $6,2 \pm 0,02$ , фагоцитарный индекс –  $40,0 \pm 0,7$ .

Установлено увеличение содержания билирубина –  $3,78 \pm 0,28$  мг/г; концентрации уксусной –  $3,21 \pm 0,37$  мг/г, пропионовой –  $0,19 \pm 0,34$  мг/г, масляной кислот –  $0,41 \pm 0,89$  мг/г; активности энтерокиназы –  $12018 \pm 0,53$  Ед/г 1,0 г содержимого кишечника ягнят (табл. 8).

**Результаты биохимических исследований  
содержимого кишечника ягнят**

Показатели	Группы животных (n=10)			
	Ягнята, 1-7 суток		Ягнята, 8-60 суток	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
pH	4,8±0,2	6,8±0,1	5,7±0,2	7,3±0,1
Уксусная кислота, мг/г	3,21±0,37	5,35±0,45	3,13±0,42	6,41±0,42
Пропионовая кислота, мг/г	0,19±0,34	1,63±0,97	0,62±0,58	1,95±0,58
Масляная кислота, мг/г	0,41±0,89	1,61±0,07	1,00±0,63	1,91±0,63
Билирубин, мг/г	3,78±0,28	–	4,11±0,18	–
Стрекобилин, мг/г	1,24±0,19	2,19±0,15	1,94±0,11	3,14±0,47
Энтерокиназа, Ед/г	12018±0,53	186,0±0,12	1841,0±0,65	200,0±0,79
Трипсин, Ед/г	324,15±0,74	537,22±0,25	487,11±0,15	608,0±0,54
Липаза, Ед/г	128,37±0,28	148,16±0,86	98,67±0,47	157,45±0,86
Амилаза, Ед/г	247,12±0,35	417,12±0,40	342,12±0,12	541,12±0,47
Щелочная фосфатаза, Ед/г	256,21±4,54	314,22±4,25	298,77±1,99	379,36±9,0
Эластаза, Ед/г	3,12±0,32	8,0±0,30	5,07±0,32	10,08±0,32
Сахароза, мг/г	2,65±0,38	5,2±0,15	2,25±0,39	4,9±0,65
Na <sup>+</sup> , ммоль/л	129,2±0,67	259,9±0,87	212,6±0,78	307,1±0,36
K <sup>+</sup> , ммоль/л	9,65±0,09	24,9±0,12	12,15±0,88	24,9±0,12
Cl <sup>-</sup> , ммоль/л	100,1±0,99	210,6±0,69	126,1±0,37	210,6±0,69
<i>Примечание: болезни органов пищеварения – опыт; клинически здоровые ягнята – контроль; p≤0,05</i>				

Наблюдалось снижение pH среды – 4,8±0,2; концентрации уксусной – 3,21±0,37 мг/г; пропионовой – 0,19±0,34 мг/г; масляной кислоты – 0,41±0,89 мг/г; ионов натрия – 129,2±0,67 ммоль/л; калия – 9,65±0,09 ммоль/л; хлора – 100,1±0,99 ммоль/л; уровня стрекобилина – 1,24±0,19 мг/г; сахарозы – 2,65±0,38 мг/г; активности трипсина – 324,15±0,74 Ед/г, липазы – 128,37±0,28 Ед/г, амилазы – 247,12±0,35 Ед/г, щелочной фосфатазы – 256,21±4,54 Ед/г, эластазы – 3,12±0,32 Ед/г;

Установлены прямые коррелятивные зависимости (r=0,96) между изменениями показателей гематокрита – 0,412±0,03 Ед; общего билирубина – 1,56 ммоль/л; холестерина – 4,14±0,03 ммоль/л; фосфора – 3,5 ммоль/л сыворотки крови и показателями pH среды – 4,8±0,2; активности трипсина – 324,15±0,74 Ед/г, липазы – 128,37±0,28 Ед/г, амилазы – 247,12±0,35 Ед/г, щелочной фосфатазы – 256,21±4,54 Ед/г, эластазы – 3,12±0,32 Ед/г; концентрации ионов натрия – 129,2±0,67 ммоль/л, калия – 9,65±0,09 ммоль/л, хлора – 100,1±0,99 ммоль/л 1,0 г содержимого кишечника ягнят.

### 2.2.3. Результаты исследований морфологических изменений при болезнях органов пищеварения ягнят

Патогенез синдрома избыточного бактериального роста сопровождался признаками катарально-геморрагического энтерита, баугинита, холангиогепатита, гиперплазией селезенки, лимфаденита регионарных лимфатических узлов. Пролиферация моноцитарных, макрофагальных, лимфоцитарных и плазмоцитарных клеток приводило к образованию гранулём слизистой оболочки тощей и подвздошной кишки, печени, регионарных лимфатических узлов и селезенки (табл. 9).

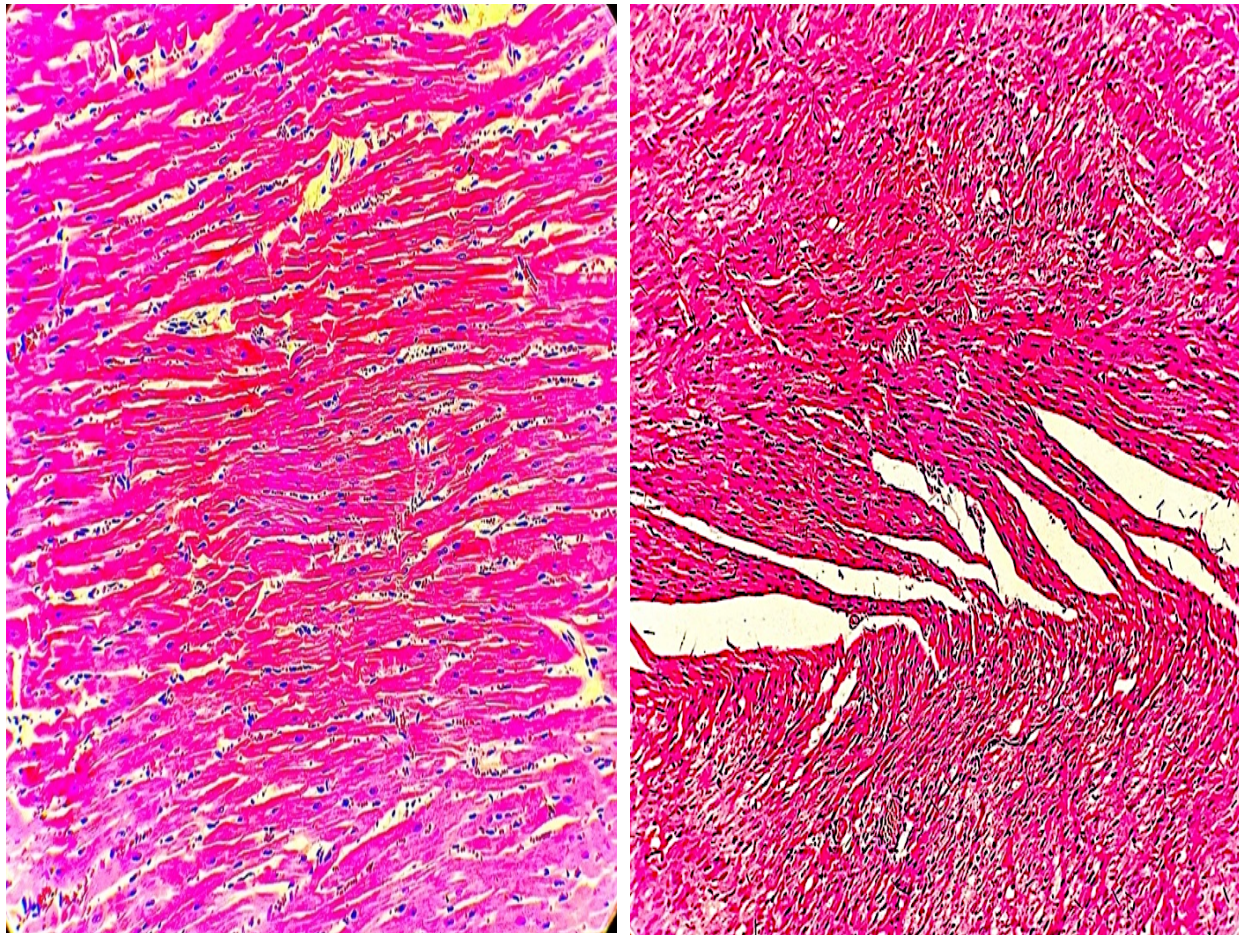
Таблица 9

#### Дифференциально-диагностические признаки болезней органов пищеварения ягнят, вызываемых патогенными энтеробактериями

Показатели	Количество микроорганизмов КОЕ, lg/г (n=9)		
	18,9±0,3	41,1±0,5	71,6±0,1
<b>Колонизационная резистентность кишечника</b>			
Индекс колонизации %*	0,692±0,04	0,807±0,06	0,952±0,08
Изоляты из содержимого тонкого кишечника	<i>E. coli</i> O78:K99 <i>E. coli</i> O26:F41 <i>E. coli</i> O86:F41 <i>P. mirabilis</i>	<i>E. coli</i> O20:K99 <i>E. coli</i> O20:K88 <i>K. pneumonia</i> K1 <i>K. oxytoca</i> <i>P. vulgaris</i>	<i>E. coli</i> O20:K99 <i>E. coli</i> O20:K88 <i>K. pneumonia</i> K2 <i>K. oxytoca</i> <i>E. faecalis</i> <i>C. albicans</i>
<b>Морфометрические изменения</b>			
Тощий и подвздошный отделы кишечника; илеоцекальный клапан	Катаральный энтерит; некроз энтероцитов ворсинок; слизистая оболочка илеоцекального клапана геперимирована, геморрагически инфильтрирована; отек рыхлой волокнистой неоформленной соединительной ткани <i>lamina propria</i>	Катаральный энтерит; некроз энтероцитов ворсинок; мононуклеарная или смешанная инфильтрация рыхлой волокнистой неоформленной соединительной ткани <i>lamina propria</i> ; гиперпластический лимфаденит регионарных лимфатических узлов	Катарально-гемморагический энтерит; некроз энтероцитов; гиперплазия солитарных фолликулов, гранулёмы слизистой оболочки тощей и подвздошной кишки; гранулёмы регионарных лимфатических узлов

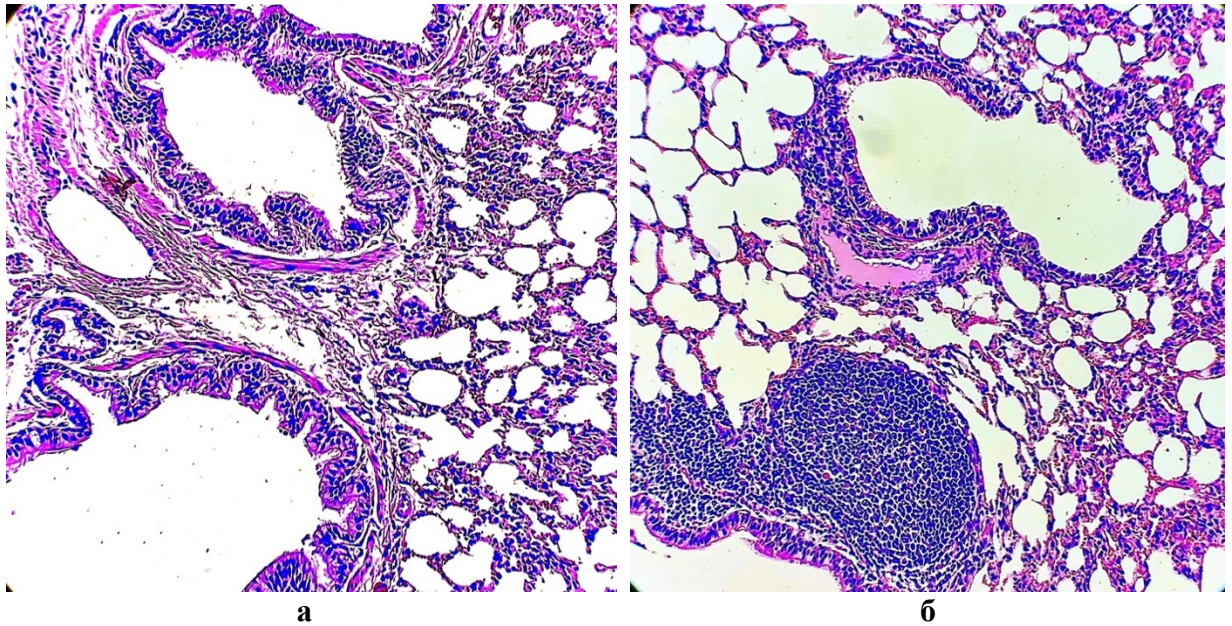
Показатели	Количество микроорганизмов КОЕ, lg/г (n=9)		
	18,9±0,3	41,1±0,5	71,6±0,1
Мезентериальные лимфатические узлы, лимфоидные фолликулы слизистой оболочки илецекального клапана	Острый гиперпластический лимфаденит; кортикальная фолликулярная гиперплазия; увеличение популяции лимфоцитов, макрофагов и нейтрофилов	Острый гиперпластический лимфаденит; гиперемия, отек лимфатических узлов	Казеозный некроз ретикулоцитов, гранулёмы субкапсулярной, фолликулярной и синусоидальной локализации
Печень	Гидропическая и жировая дистрофия гепатоцитов без признаков воспаления; острый клеточный отек	Гепатит; холангиогепатит; дистрофические изменения паренхимы органа; холестаз	Некроз гепатоцитов; холангиогепатит; моноклеарные, смешанные инфильтраты портальных трактов и синусоидов; коагуляционно-некротические гранулёмы
Селезёнка	Острый спленит; гиперемия, инфильтрация синусов	Острый экссудативный геморрагический спленит	Очагово-диффузная крупноклеточная гиперплазия, некроз ретикулоцитов; гранулёмы белой пульпы
* – отношение количества микроорганизмов 1,0 г исследуемого материала клинически здоровых животных – контроль и при болезнях органов пищеварения – опыт; $p \leq 0,05$			

Размер сердца увеличен, правое предсердие расширено, в полостях жидкая кровь, небольшое количество сгустков. Множественные гемморагии выявляли под эпикардом и эндокардом, миокард дряблой консистенции, тусклого цвета, поверхность органа влажная, мышечные волокна слабо выражены, в просветах резко расширенных сосудов наблюдали сплошную склеенную массу из форменных элементов крови. Располагающиеся в области очага кровоизлияния миокардиоциты набухшие, с признаками дистрофии, умеренной фрагментации, некроза, разрозненности, контрактуры (рис. 9).



**Рис. 9. Сердце ягнят, 7-ми сут постнатального онтогенеза: а – контроль; б – опыт, фрагментация кардиомиоцитов. Гематоксилин и эозин. Ок.10, об.20**

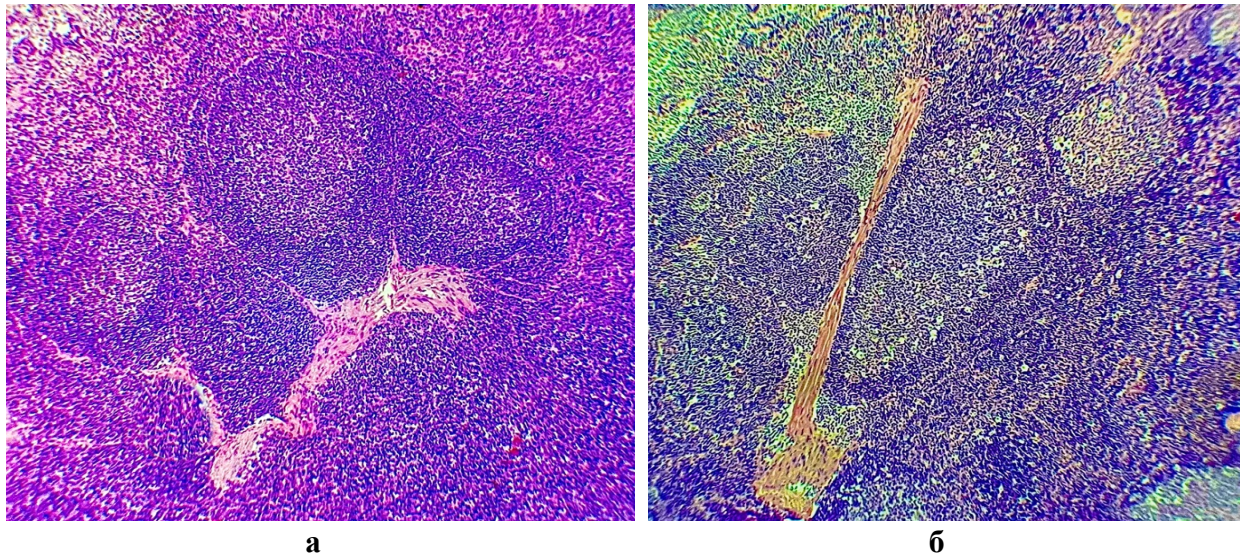
Динамика морфологических изменений органов дыхания характеризовалась отёком, наличием серозного экссудата в трахее, легкие гиперемированные, отёчные, консистенция дряблая, пораженные доли гипертрофированы с участками замещения соединительной тканью. На срезе орган сочный, с поверхности стекала мутная жидкость с примесью крови, пузырьков газа и слизи с волокнами фибрина. Наблюдали разрастание соединительной ткани в виде тяжей, переходящих в близлежащие респираторные центры. На начальных этапах развития патологического процесса поражения отмечали в верхушечных долях, с выраженной лобулярной локализацией (рис. 10).



**Рис. 10. Легкие ягнят, 7-ми сут постнатального онтогенеза: а – контроль; б – опыт, просветы альвеол расширены, крупные бронхи с перифокальной диффузно-очаговой лимфоплазматитарной инфильтрацией, отдельные сосуды тромбированы. Гематоксилин и эозин. Ок.10, об.20**

В полости бронхов выявлялась светло-розовая сеточка фибрина с наличием эритроцитов, плазмоцитов и большого количества лимфоцитов, эозинофилов, эпителиальных клеток. Установлено наличие серозного экссудата лёгочных альвеол с примесями полиморфноядерных лейкоцитов и слущенного альвеолярного эпителия. Просвет межальвеолярных капилляров сужен. Выявляли катаральный и серозно-клеточный экссудат в респираторном эпителии, дистрофию и слущивание эпителиального слоя, в междольковой соединительной ткани наблюдалась гиперемия и лейкоцитарная инфильтрация, пролиферация фибробластов в периваскулярной соединительной ткани.

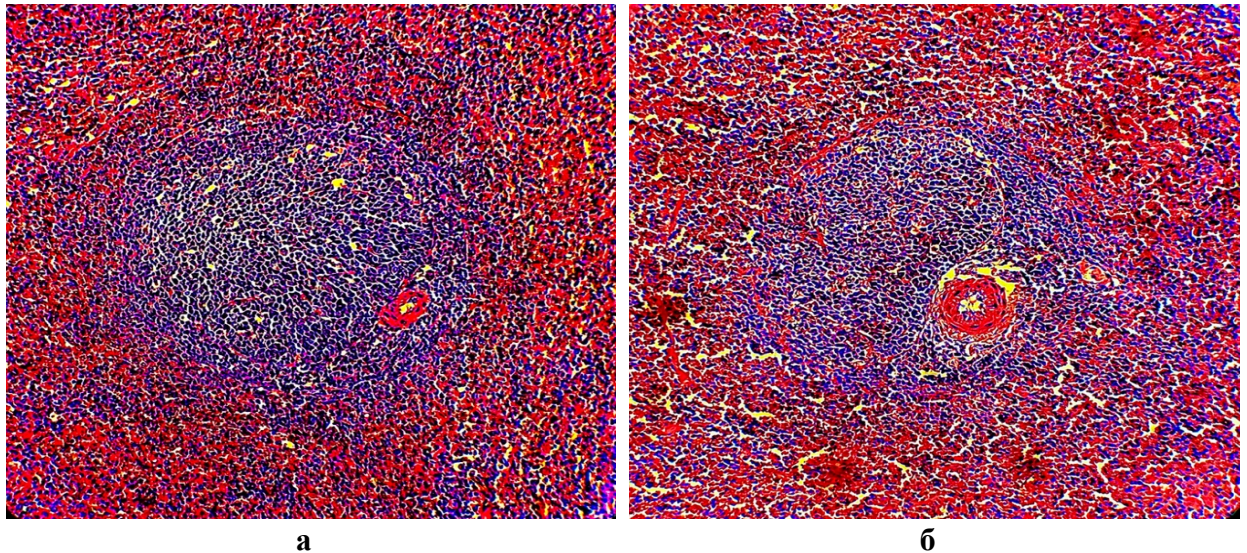
Лимфатические узлы были увеличенные,  $17,0 \pm 1,5 \times 11,2 \pm 2,5$  –  $39,4 \pm 1,6 \times 7,0 \pm 2,6$  мм, поверхность разреза сочная, серо-красного цвета, неравномерной окраски, под капсулой органа наблюдали диапедезные кровоизлияния. Лимфатические синусы расширенные и заполнены лимфоидными клетками, ретикулоциты в состоянии отека, развивается лимфостаз. Между корковой и мозговой зоной границы не выявляются (рис. 11).



**Рис. 11. Лимфатический узел ягнят, 7-ми сут постнатального онтогенеза: а – контроль; б – опыт, синусы расширенные, заполненные лимфоидными клетками, отек ретикулоцитов, лимфостаз. Гематоксилин и эозин. Ок.10, об.20**

При уменьшении площади фолликулов в зоне слабо выраженных герментативных центров выявлялись очаги массивных кровоизлияний и участки инкапсуляции лимфоидных и стромальных элементов. Реактивные процессы характеризовались гиперплазией лимфоидных фолликулов, плазмоцитарной и ретикуломакрофагальной трансформацией, инфильтрацией полиморфноядерными лейкоцитами, эозинофилами, гистиоцитами, формировались микроабсцессы.

Гиперплазия селезенки характеризовалась увеличением размеров органа до 1,5–2,0 раз, длина –  $9,5 \pm 0,5$ – $14,7 \pm 1,5$  см; ширина –  $8,8 \pm 1,2$ – $11,3 \pm 1,2$  см капсула напряженная, с диапедезными кровоизлияниями. Поверхность разреза сочная, полнокровная, ткань розово-красная, выявляли отек и частичное разволокнение капсулы. На поверхности органа мелкие множественные очаги некроза. Клетки красной пульпы в состоянии пролиферации и десквамации, в отдельных участках зоны опустошения пульпы в результате нарушения связей структурных элементов, гигантские макрофаги, увеличенные венозные синусы. Формирование плотного кольца из лимфоцитов вокруг центральной артерии белой пульпы не выявлялось, слои оболочек артерий разволокнены, лимфоидные фолликулы атрофированы, герментативные центры слабо выражены (рис. 12).



**Рис. 12. Селезенка ягнят, 7-ми сут постнатального онтогенеза: а – контроль; б – опыт, атрофия белой пульпы, пролиферация лимфоцитов, плазматических клеток, склероз сосудов. Гематоксилин и эозин. Ок.10, об.20**

Первичная периваскулярная ретикулоэндотелиальная гиперплазия и некротические процессы, локализующиеся в зародышевых центрах, выявлялись в виде гиперплазии лимфоидных фолликулов, отмечали пролиферацию лимфоцитов, плазматических клеток. В строме органа большое количество белково-полисахаридных веществ. При развитии патологических процессов отмечали сильное вздутие брюшной области, гастрит, энтерит, застой свернувшейся тёмно-красной с синюшным оттенком крови, отёк венозных сосудов. Органы брюшной полости анемичные, бледно-серого или серо-коричневого цвета, кровеносные сосуды опустошенные, зияющие. Оболочки желудка бледно окрашены. Содержимое желудка, кишечника состояло из большого количества полужидких, пенистых, смешанных с газом бродящих кормовых масс со специфическим запахом, брыжейка гиперемированная.

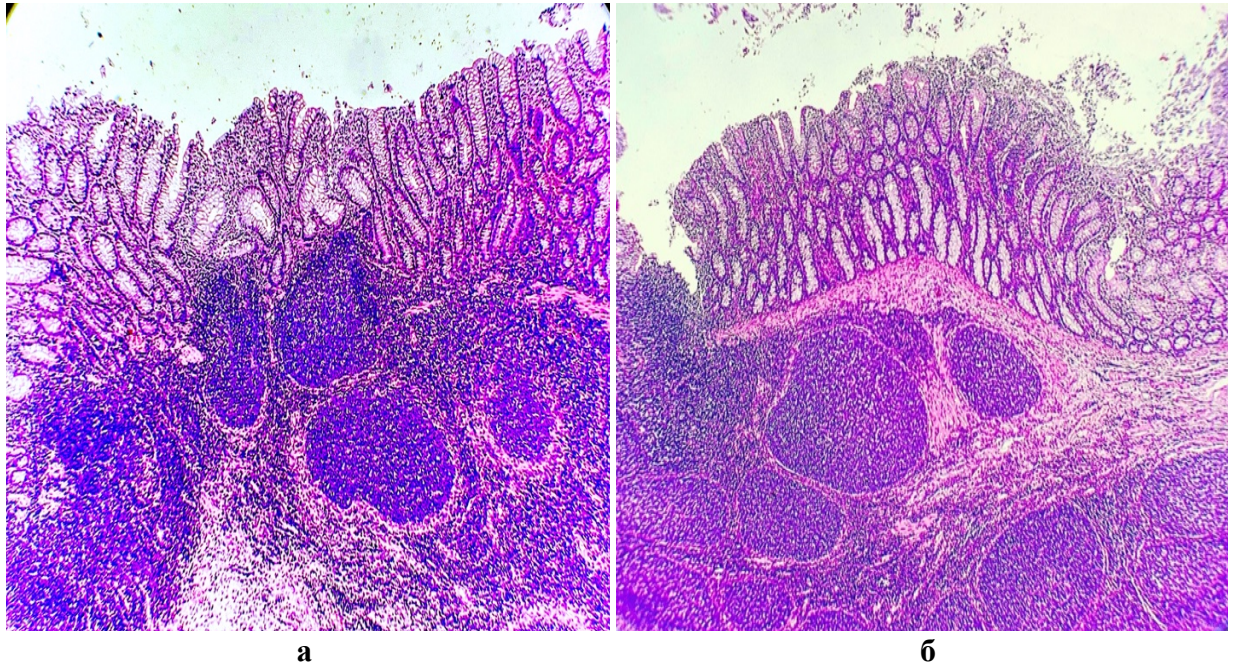
Выявляли острое катаральное воспаление, серозный отек слоёв слизистой оболочки сычуга, просветы сосудов расширены. Слизистая оболочка органа утолщена, с наличием очагово-диффузных кровоизлияний, эпителиоциты в состоянии дегенерации и десквамации, выявлялись эрозии поверхностных слоёв слизистой оболочки. В подслизистом слое слизистой оболочки отмечали десквамативно-серозное катаральное воспаление,

частичный некроз и формирование эрозий. Дистрофия и некротизация волокон мышечного слоя наблюдалась при скоплении серозно-клеточного экссудата под серозной оболочкой, покровный эпителий в состоянии дистрофии.

Отмечали наличие ярко-красного экссудата в просвете кишечника, покровный эпителий слизистой оболочки частично десквамированный. Сужение просвета кишечных крипт, нейтрофильную инфильтрацию, наличие лейкоцитов в просветах кровеносных сосудов, скопление плазмоцитов наблюдали в собственном слое слизистой оболочки тонкого отдела кишечника. Отмечены признаки гидропической дистрофии, диапедез эритроцитов, лимфоплазмочитарная инфильтрация собственной пластинки ворсинок слизистой оболочки. Альвеолы дуоденальных желез различного диаметра, эндотелиоциты набухшие, некротизированные. В подслизистом слое наблюдали инфильтрацию гистиоцитами и лимфоидными клетками. Подслизистые и межмышечные нервные сплетения в виде малодифференцированных клеточных элементов.

Достоверное увеличение частоты встречаемости –  $\geq 90,0$  % граммотрицательных бактерий мазков-отпечатков терминального отдела подвздошного кишечника установлено при развитии признаков гиперемии, дистрофических процессов эпителиального слоя слизистой оболочки, пролиферативной реакции, периваскулярной лимфо- и гистиоцитарной инфильтрации эндотелия кровеносных сосудов. При значительной степени микробиологической контаминации слизистой оболочки тонкого отдела кишечника установлено достоверное увеличение внутреннего диаметра илеоцекального сфинктера, достигавшего достигавшего  $4,48 \pm 0,26$  мм – ягнята периода новорожденности до 7 суток;  $7,45 \pm 0,83$  и  $11,29 \pm 2,11$  мм – 7–30 суточного возраста и 31–90 суточного возраста, соответственно. Развитие синдрома «недостаточности» илеоцекального сфинктера характеризовалось наличием складчатого конуса ярко-красного цвета с плоским, широким основанием и гладкими краями или округлого углубления с закругленными

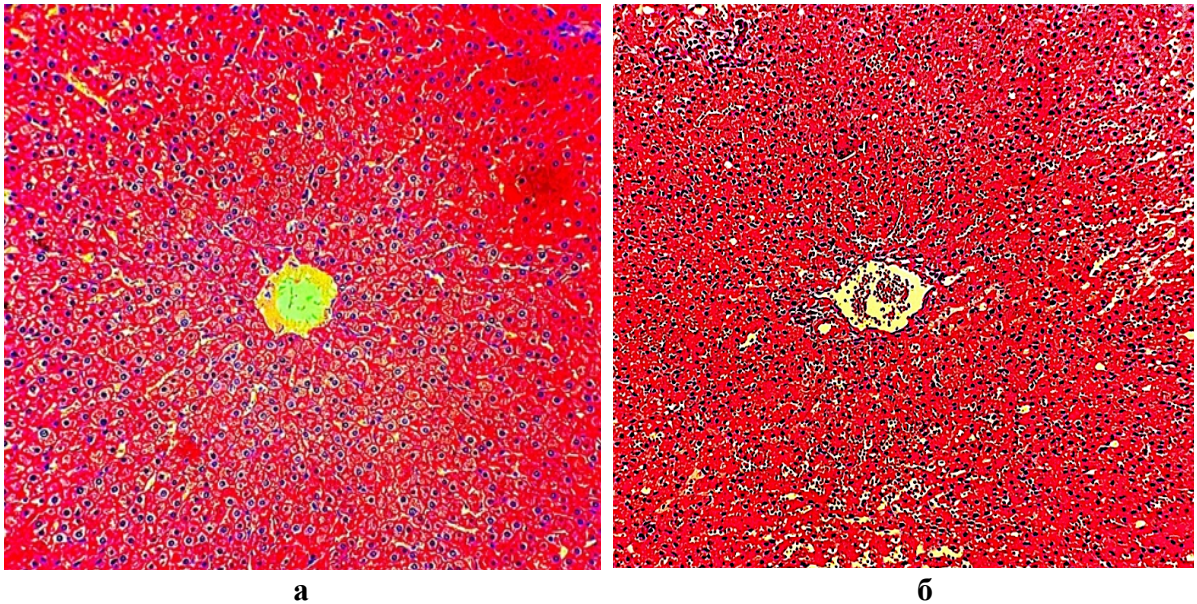
гепиримированными краями в участках перехода слизистой оболочки подвздошного и слепого отдела кишечника. Слизистая оболочка органа была атрофированной, геморрагически инфильтрированной, эрозивной. Лимфоидные фолликулы слизистой оболочки терминального отдела подвздошного кишечника и слепого отдела толстого кишечника гиперплазированные, инфильтрированные макрофагами (рис. 13).



**Рис. 13. Лимфоидные фолликулы слепого отдела толстого кишечника ягнят, 7-ми сут постнатального онтогенеза: а – контроль; б – опыт, десквамация, лейкоцитарная инфильтрация эпителиального слоя, гиперплазия лимфоидных фолликулов. Гематоксилин и эозин. Ок.10, об.20**

Кровеносные сосуды ободочного отдела толстого кишечника расширенные, кровенаполненные, рыхлая волокнистая неоформленная соединительная ткань собственной пластинки в состоянии отека, коллагеновые и эластические волокна разволокнённые. Слизистая оболочка прямой кишки гиперемированная, выявлялись признаки деструкции эпителиального слоя.

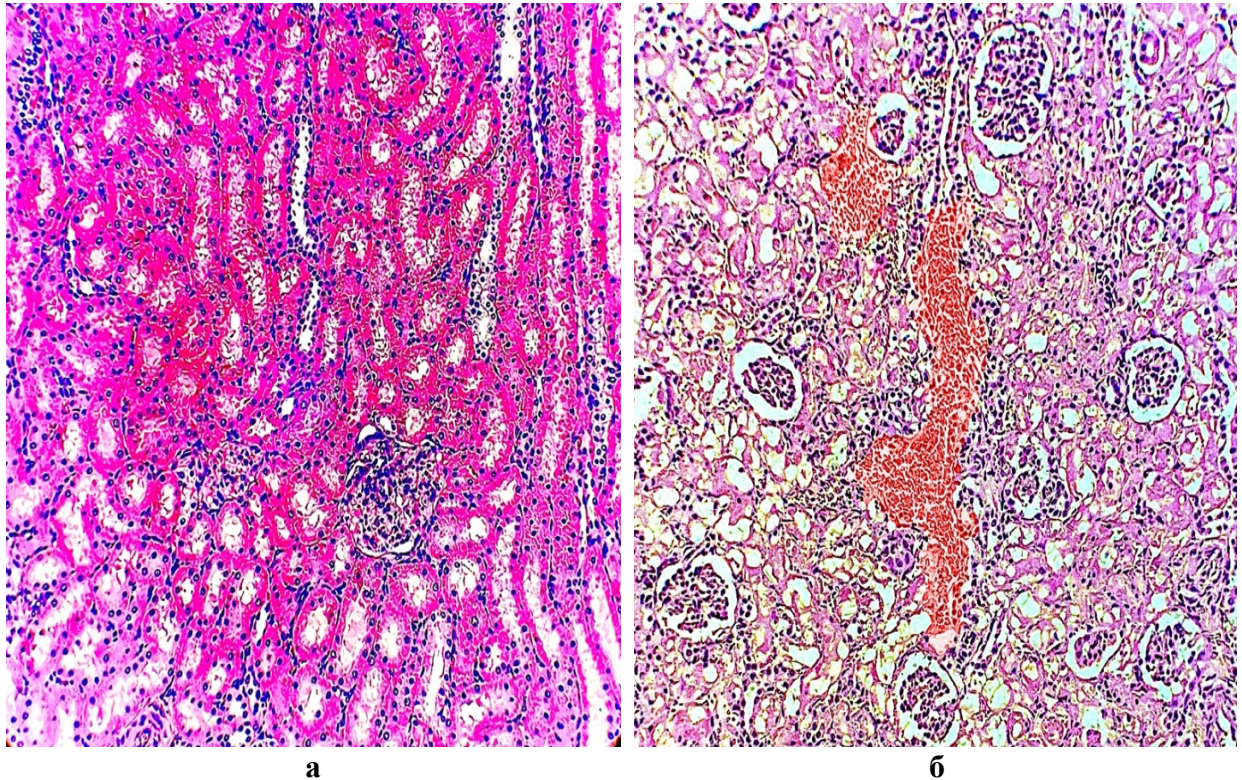
Капсула печени набухшая, повышено-влажная, с очагами серо-желтого цвета, не имеющими четких границ, на разрезе значительное количество жидкости красного цвета, соскоб обильный, полужидкий. Нарушения гемодинамики характеризовалось острым застойным полнокровием и очагово-диффузной белково-жировой дистрофией (рис. 14).



**Рис. 14. Печень ягнят, 7-суточного постнатального онтогенеза: а – контроль; б – опыт, инфильтрация портальных трактов лимфоцитарными и плазматическими клетками; просвет центральных вен расширен. Гематоксилин и эозин. Ок.10, об.20**

Наблюдали дискомплексацию печеночных балок, расширение и полнокровие центральной вены, вследствие чего часть гепатоцитов в состоянии атрофии, белковой и жировой дистрофии, ядра имели нечеткий контур. Многочисленные мелкие очаги некроза с наличием инфильтрата из полиморфноядерных лейкоцитов выявлены в паренхиме печени. Лейкоцитарный инфильтрат выявляли в междольковой рыхлой волокнистой соединительной ткани органа. Кровеносные сосуды полнокровны, оболочки желчных протоков расширены и утолщены. Отмечали признаки острого серозно-катарального холецистита, сопровождающиеся значительным увеличением объема желчного пузыря, напряжением и растяжением органа вследствие переполнения содержимым, желчь – жидкая, с примесью слизи. Острый серозный отек поджелудочной железы различной степени выраженности, сопровождался увеличением, диффузной гиперемией, частичной сглаженностью рисунка ткани органа, наличием обильного количества серозного выпота на разрезе. Однослойный железистый эпителий вакуолизированный, инфильтрированный лимфоидными и гистиоцитарными клетками, отмечали периваскулярный отек междольковой соединительной ткани органа.

Почки тестообразной консистенции, цвет от желто до темно-коричневого, под капсулой органа располагались точечные и полосчатые кровоизлияния. На срезе органа граница между корковым и мозговым слоем стерта. На гистологических препаратах отмечали участки зернистой и вакуольной дистрофии эпителия проксимальных отделов канальцев нефрона, наблюдали обилие зерен белка и вакуолей в цитоплазме клеток. Кровеносные капилляры клубочков в состоянии застойной гиперемии (рис 15).



**Рис. 15. Почки ягнят, 7-суточного постнатального онтогенеза: а – контроль; б – опыт, застойный геморрагический инфаркт, некроз эпителиоцитов канальцев нефронов, лейкоцитарная инфильтрация, сосуды переполнены кровью. Гематоксилин и эозин. Ок.10, об.20**

Динамика развития патологических процессов характеризовалась гиперплазией лимфатических узлов, селезенки, лимфоидных фолликулов терминального отдела подвздошного кишечника, илеоцекального сфинктера, слепого отдела толстого кишечника, увеличением количества межэпителиальных лимфоцитов, скоплением плазматических клеток, экссудативно-инфильтративными процессами, сочетанием общей сосудистой реакции, дистрофическими и некротическими изменениями паренхиматозных органов.

## 2.2.4. Видовой состав и патогенные свойства энтеробактерий при снижении колонизационной резистентности кишечника ягнят

### 2.2.4.1. Результаты идентификации микроорганизмов

Для исследования колонизационной резистентности слизистой оболочки кишечника ягнят учитывали индекс колонизации – отношение количества микроорганизмов (КОЕ, lg/г) 1,0 г исследуемого материала клинически здоровых животных – контроль и больных животных – опыт. Развитие клинических признаков диареи, дегидратации и токсемии характеризовалось достоверным ( $p \leq 0,05$ ) увеличением общего количества микроорганизмов, индекс колонизации –  $0,942 \pm 0,08$  %. Динамика изменений количественного состава микроорганизмов микробиоценозов кишечника больных ягнят характеризовалась снижением популяционного уровня микроорганизмов на средах «*MRS agar*» и «*Bifidum agar*», индекс колонизации –  $0,307 \pm 0,03$  %. Увеличение количественного состава бактерий наблюдали на дифференциально-диагностических средах: «Эндо», «*Chromocult coliform agar*», «*HiCrome agar*», «*Cetrimide agar*», «*Yolk salt agar*», «*HiCrome Candida agar*», индекс колонизации –  $0,807 \pm 0,08$  % (табл. 10).

Таблица 10

### Количественный состав микроорганизмов при дисбактериозах кишечника ягнят

Среды	Количество микроорганизмов (КОЕ, lg/г)		
	Контроль	Опыт	Индекс колонизации*, %
МПА	9,98±0,03 – 16,53±0,54	18,12±0,11 – 22,16±0,19	0,942±0,08
« <i>MRS agar</i> »	3,14±0,15 – 4,08±0,01	0,98±0,14 – 1,48±0,09	0,311±0,03
« <i>Bifidum agar</i> »	2,79±0,11 – 3,52±0,18	0,86±0,09 – 1,27±0,42	0,304±0,06
«Эндо»	4,09±0,14 – 8,07±0,09	8,44±0,18 – 11,03±0,13	0,854 ±0,08
« <i>Chromocult agar</i> »	3,13±0,12 – 7,13±0,10	7,15±0,12 – 9,33±0,26	0,831±0,08
« <i>HiCrome agar</i> »	3,00±0,17 – 6,95±0,14	7,18±0,20 – 10,01±0,11	0,829±0,07
« <i>Cetrimide agar</i> »	1,01±0,12 – 2,01±0,10	2,84±0,11 – 3,03±0,16	0,356±0,03
« <i>Yolk Salt agar</i> »	0,21±0,11 – 0,82±0,10	0,83±0,07 – 1,36±0,09	0,253±0,09
« <i>Candida agar</i> »	1,74±0,13 – 2,18±0,03	4,14±0,12 – 5,01±0,08	0,420±0,01

**Примечание:** \* – отношение количества микроорганизмов 1,0 г исследуемого материала клинически здоровых животных – контроль и при болезнях органов пищеварения – опыт,  $p \leq 0,05$

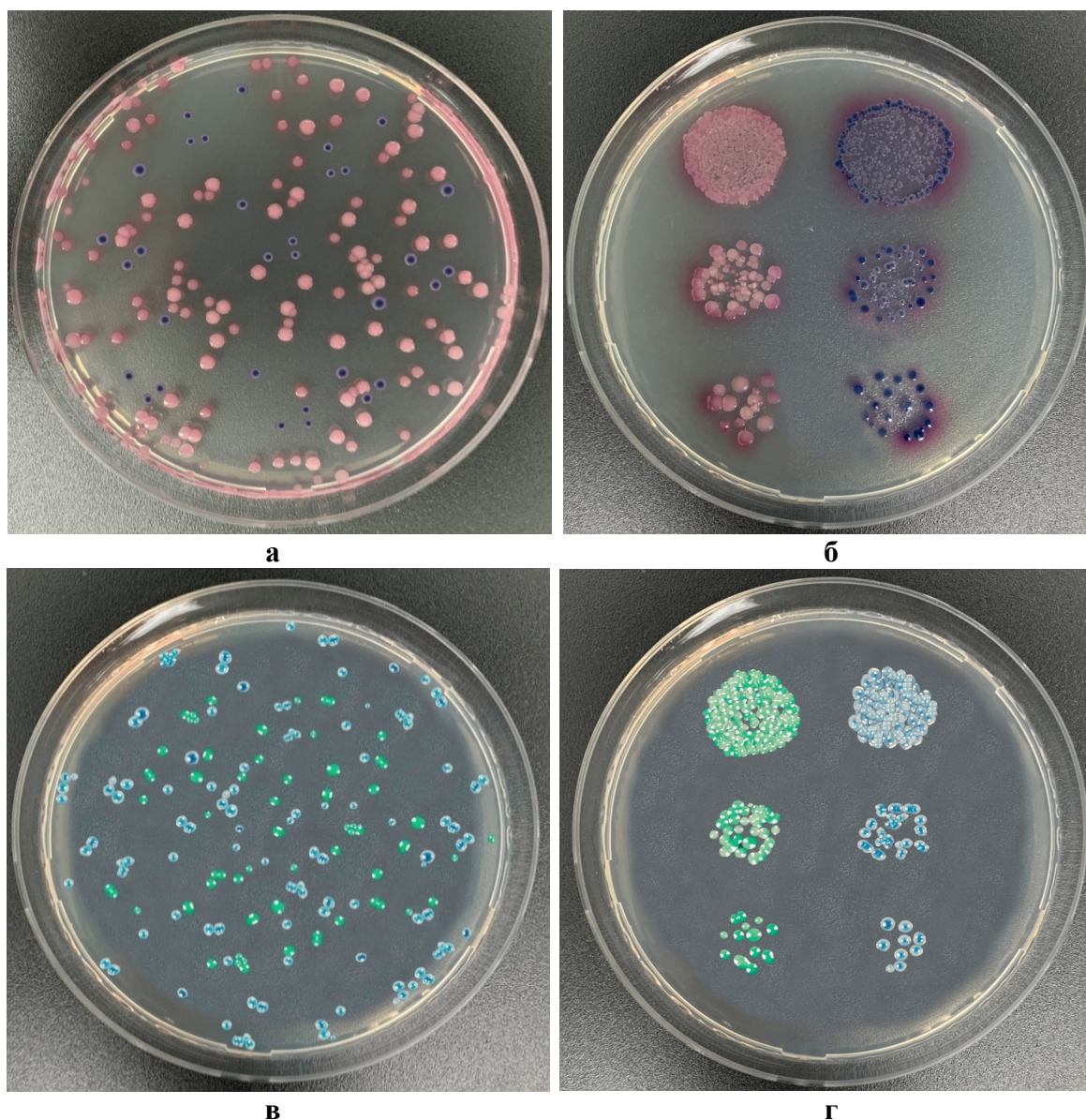
При нарушении экологического баланса наблюдалось снижение популяционного уровня лактобактерий (КОЕ) в биотопах кишечника ягнят: опыт –  $7,04 \pm 0,15$  –  $8,3 \pm 0,11$  КОЕ lg/г; контроль –  $11,41 \pm 0,15$  –  $14,52 \pm 0,09$  КОЕ lg/г; индекс колонизации составил 0,674 %. На среде «*MRS Agar*», за счет наличия в составе среды ацетата натрия – буферного агента для поддержания значения  $pH < 6,0$ , декстрозы – ферментируемого углевода, являющимся источником углерода и цитрата аммония – подавлялся рост грамотрицательных бактерий, стрептококков, плесневых грибов, наблюдался рост лактобактерий.

Бактерии *L. acidophilus* были грамположительными, спор и капсул не образовывали, палочковидной формы, располагались короткими цепочками, размеры клеток:  $0,5-1,2 \times 1,0-10,0$  мкм. Факультативные анаэробы, рост стимулировался добавлением 5,0 %  $CO_2$ , метаболизм бродильного типа, сахарокластический, часть углерода брожения – лактат. Микроорганизмы не восстанавливали нитраты, не разжижали желатин, каталазоотрицательные, цитохромов не содержали.

Снижение популяционного уровня бифидумбактерий наблюдалось на среде «*Bifidum agar*»: опыт –  $0,86 \pm 0,09$  –  $1,27 \pm 0,42$ ; контроль –  $2,79 \pm 0,11$  –  $3,52 \pm 0,18$ . Грамположительные неспорообразующие бактерии, в форме изогнутых палочек с разветвлениями или булабовидными утолщениями на концах, сбраживающие сахарозу, лактозу, галактозу, фруктозу, мальтозу, мелибиозу, раффинозу с образованием кислоты без газа, не разжижающие желатин, не восстанавливающие нитраты в нитриты, не образующие сероводород и не продуцирующие фенол относили к роду *Bifidobacterium*.

На среде *Chromocult® Coliform Agar* за счет наличия в составе среды додецилсульфата натрия подавлялся рост грамположительных бактерий, наблюдался рост грамотрицательных бактерий: опыт –  $7,15 \pm 0,12$  –  $9,33 \pm 0,26$ ; контроль –  $3,13 \pm 0,12$  –  $7,13 \pm 0,10$ ; индекс колонизации составил 0,831%.

При дифференциации микроорганизмов учитывали, что на указанной дифференциально-диагностической среде эшерихии, в связи с наличием ферментов  $\beta$ -галактозидазы и  $\beta$ -глюкуронидазы, расщепляющих одновременно два хромогенных субстрата, формировали фиолетового цвета колонии. Протеи и энтеробактеры, не имеющие указанных ферментов, формировали на среде бесцветные колонии. Клебсиеллы за счет расщепления ферментом  $\beta$ -галактозидазы хромогенного субстрата формировали колонии темно-розового цвета (рис. 16).



**Рис. 16.** Морфология колоний микроорганизмов микробиоценозов кишечника при болезнях органов пищеварения ягнят, 37 °С, 48 ч: а, б – *Chromocult® Coliform Agar*; в, г – *HiCrome Candida Agar*

Наличие триптофана в составе среды позволяло провести тест на образование индола, для этого на фиолетовые колонии наносили каплю реактива Ковача. При изменении цвета колоний до розово-красного в течение 3–5 сек тест считали положительным, что позволило дифференцировать эшерихии от таксономически сходных видов энтеробактерий в течение 24 ч.

Энтеробактерии были каталазаположительные, оксидазаотрицательные, ферментирующие D-глюкозу и многоатомные спирты с образованием кислоты и газа. Эшерихии образовывали индол, утилизировали ацетат натрия, не образовывали сероводород, не утилизировали цитрат, малонат натрия, не продуцировали уреазу, фенилаланиндезаминазу, ферментировали сахарозу и дульцит. Клебсиеллы утилизировали глюкозу, цитрат натрия, продуцировали ацетилметилкарбинол, ферментировали инозит, гидролизовали мочевины, не образовывали индол, сероводород. Протеи образовывали сероводород, уреазу, редуцировали нитраты, гидролизовали желатин, ферментировали глюкозу, давали положительную реакцию с метиловым красным, дезаминировали фенилаланин, не декарбоксилировали лизин, различались по способности утилизировать цитрат натрия. Энтеробактерии не образовывали индол и сероводород, ферментировали глюкозу, лактозу, амнозу, ксилозу, мальтозу, сорбит, арабинозу, рафинозу, утилизировали цитрат, малонат натрия, гидролизовали желатин, различались по способности утилизировать инозит, дульцит, салицин, адонит (табл. 11).

Таблица 11

### Дифференциация энтеробактерий по биохимическим свойствам

Биохимические признаки	Вид бактерий			
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
Лактоза	+	+	–	+
Индол	+	–	+	–
Сорбит	+	+	–	+
Сероводород	–	–	+	–
Цитрат	–	+	+	+
Мочевина	–	+	+	–
Желатин	–	–	+	+
Реакция Фогеса – Проскауэра	–	+	+	+

**Примечание:** «+» – положительный тест; «–» – отрицательный тест;  $p \leq 0,05$

Увеличение количества микроорганизмов при болезнях органов пищеварения наблюдали также и на среде *Cetrimide Agar*: опыт –  $2,84 \pm 0,11$  –  $3,03 \pm 0,16$ ; контроль –  $1,01 \pm 0,12$  –  $2,01 \pm 0,10$ ; индекс колонизации – 0,356%. Из 6 выделенных микроорганизмов идентифицирован 1 изолят (16,7%) грамотрицательных аэробных бактерий *Pseudomonas aeruginosa*. Указанные бактерии восстанавливали нитриты в нитраты, обладали протеолитической активностью (разжижали желатин и свернутую кровяную сыворотку, гидролизовали казеин), свертывали лакмусовое молоко и расщепляли сгусток, не ферментировали мальтозу, не образовали индол и сероводород.

Количество микроорганизмов увеличивалось и на среде *Yolk Salt Agar*, содержащей 10,0 % натрия хлорида: опыт –  $0,83 \pm 0,07$  –  $1,36 \pm 0,09$ ; контроль –  $0,21 \pm 0,11$  –  $0,82 \pm 0,10$ ; индекс колонизации – 0,253 %. Из 6 выделенных микроорганизмов идентифицировали 2 изолята (33,3 %) грамположительных бактерий *Staphylococcus spp.*: *S. aureus* – 1 (16,7 %), *S. epidermidis* – 1 (16,7 %). Указанные бактерии формировали выпуклые непрозрачные колонии белого, золотистого, оранжевого, желтого цвета, диаметром 2,0–2,5 мм. Отмечали наличие плазмокоагуляции сыворотки крови, содержащей 1,0–4,0 % цитрата натрия, с образованием на предметном стекле сгустка, наблюдали рост в присутствии 15,0% хлорида натрия или 40,0% желчи. Микроорганизмы ферментировали глюкозу, маннит в анаэробных условиях, продуцировали аммиак, свертывали и пептонизировали молоко, не ферментировали дульцит, салицин, инулин.

Количество колоний микроорганизмов на среде *HiCrome Candida Agar* так же увеличивалось: опыт –  $4,14 \pm 0,12$  –  $5,01 \pm 0,08$ ; контроль –  $1,74 \pm 0,13$  –  $2,18 \pm 0,03$ ; индекс колонизации – 0,420%. Из 6 выделенных микроорганизмов идентифицировали 3 изолята (50,0 %) дрожжеподобных грибов: *Candida albicans* – 2 (33,3 %), *Candida parapsilosis* – 1 (16,7 %). Микроорганизмы на агаре Сабуро с глюкозой формировали гладкие, выпуклые, белого цвета, мягкой равномерной консистенции колонии (S-форма). На хромогенной среде микроскопические грибы *C. albicans* за счет расщепления ферментом  $\beta$ -N-

ацетилгалактозаминидазы хромогенного гексоамидазного субстрата образовали колонии светло-зеленого цвета. Колонии *C. parapsilosis*, не имеющие указанного фермента, формировали на среде синие колонии. Дрожжеподобные грибы *Candida* spp. были способны расти в присутствии циклогексимида, сбраживали сахарозу, мальтозу, ксилозу, уреазной активностью не обладали. Микроорганизмы *C. albicans* сбраживали галактозу, *C. parapsilosis* не сбраживали трегалозу (табл. 12).

Таблица 12

**Дифференциация дрожжеподобных грибов *Candida* spp. по биохимическим свойствам**

Углеводы	Вид микроорганизмов	
	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>
Уреаза	–	–
Мелибиоза	–	–
Лактоза	–	–
Мальтоза	+	+
Сахароза	+	+
Галактоза	+	–
Целлобиоза	–	–
Инозит	–	–
Ксилоза	+	+
Дульцит	–	–
Рафиноза	–	–
Трегалоза	+	–

*Примечание:* «+» – положительный тест; «–» – отрицательный тест;  $p \leq 0,05$

При идентификации изолятов, из общего числа 118 идентифицированных микроорганизмов 32 (27,11 %) штамма выделено из патматериала ягнят (кровь, сердце, селезёнка, лимфатические узлы, легкие, терминальный отдел подвздошного кишечника, илеоцекальный сфинктер, печень, почки); 49 (41,5 %) – содержимое кишечника; 20 (16,9 %) – пробы кормов; 17 (14,4 %) – смывы помещений. Установлено доминирование грамотрицательных факультативно-анаэробных бактерий семейства *Enterobacteriaceae* – 70,1 % (табл. 13).

## Результаты идентификации микроорганизмов

Культуры микроорганизмов	Идентификация микроорганизмов									
	I		II		III		IV		Всего	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
<i>E. coli</i>	27	22,9	12	10,2	7	5,9	4	3,4	46	39,0
<i>K. pneumoniae</i>	13	11,0	8	6,8	3	2,5	3	2,5	27	22,9
<i>K. oxytoca</i>	9	7,6	5	4,2	2	1,7	1	0,8	17	14,4
<i>P. vulgaris</i>	7	5,9	3	2,5	1	0,8	2	1,7	13	11,0
<i>E. cloacae</i>	5	4,2	2	1,7	1	0,8	2	1,7	10	8,5
<i>P. aeruginosa</i>	6	5,1	2	1,7	2	1,7	3	2,5	13	11,0
<i>S. aureus</i>	5	4,2	3	2,5	3	2,5	4	3,4	15	12,7
<i>C. albicans</i>	3	2,5	2	1,7	1	0,8	2	1,7	8	6,8
<i>C. parapsilosis</i>	3	2,5	1	0,8	1	0,8	1	0,8	6	5,1
Всего	49	41,5	32	27,1	17	16,9	20	14,4	118	100

**Примечание:** I – патматериал; II – содержимое кишечника; III – смывы помещений; IV – корма;  $p \leq 0,05$

Из 86 идентифицированных микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae* бактерии *E. coli* составили 46 (58,7 %) изолята; *K. pneumoniae* K1 – 17 (19,8 %); *K. pneumoniae* K2 – 10 (11,6 %); *K. oxytoca* – 17 (7,4 %); *P. vulgaris* – 13 (6,8 %); *E. cloacae* – 10 (5,4 %). Из общего числа идентифицированных изолятов *E. coli* 15,0 % положительно реагировали с поливалентной сывороткой «группы № 1» (серогруппы O2, O78, O33); 20,0 % – сыворотка «группы № 2» (серогруппы O9, O15, O26, O111); 10,0 % – сыворотка «группы № 3». Из 46 культур микроорганизмов 18,0 % продуцировали адгезивные антигены: O78:K88 – 8,6 %; O86:F41 – 7,3 %; O33:F41 – 6,6 %; O78:K99 – 4,8 %; O2:K99 – 4,8 %; O9:A20 – 4,8 %; O86:A20 – 4,8 %; O26:A20 – 3,1 %; O111:A20 – 3,1 %; O2:A20 – 2,4 %; O20:K99 – 0,60 %; O26:F41 – 0,60 %; O119:A20 – 0,60 %.

При идентификации рибосомальных белков микроорганизмов,  $\geq 5,0 \times 10^6$  КОЕ/мл из 118 изолятов из патматериала ягнят (кровь, сердце, селезёнка, лимфатические узлы, легкие, терминальный отдел подвздошного кишечника, илеоцекальный клапан, печень, почки) были выделены 32 (27,11 %) изолята, «Score» –  $2,003 \pm 0,02 - 2,018 \pm 0,01$ ; 49 (41,5 %) изолятов были выделены из содержимого кишечника, «Score» –  $2,003 \pm 0,02 - 2,022 \pm 0,01$ ; 20 (16,9 %) – пробы кормов, «Score» –  $2,006 \pm 0,03 - 2,018 \pm 0,02$ ; 17 (14,4 %) – смывы помещений, «Score» –  $1,975 \pm 0,01 - 2,019 \pm 0,02$  (табл. 14).

### Результаты идентификации рибосомальных белков бактерий

Культуры микроорганизмов	Идентификация микроорганизмов, М±m			
	I	II	III	IV
<i>E.coli</i> O2	2,012±0,01	2,010±0,01	2,019±0,02	2,009±0,03
<i>E.coli</i> O9	2,006±0,03	2,014±0,01	1,984±0,02	2,018±0,02
<i>E.coli</i> O15	2,009±0,03	2,003±0,02	1,975±0,01	2,011±0,01
<i>E.coli</i> O26	2,007±0,01	2,012±0,01	1,988±0,02	2,006±0,03
<i>E.coli</i> O33	2,019±0,01	2,022±0,01	1,984±0,02	2,012±0,02
<i>E.coli</i> O78	2,009±0,03	2,003±0,03	1,984±0,03	2,015±0,01
<i>E.coli</i> O111	2,012±0,01	2,026±0,01	2,012±0,02	2,011±0,02
<i>E.coli</i> O119	2,006±0,03	2,014±0,01	1,984±0,02	2,018±0,02
<i>E.coli</i> O2:A20	2,012±0,01	2,010±0,01	2,019±0,02	2,009±0,03
<i>E.coli</i> O9:A20	2,006±0,03	2,014±0,01	1,984±0,02	2,018±0,02
<i>E.coli</i> O26:F41	2,018±0,01	2,010±0,02	1,984±0,01	2,012±0,01
<i>E.coli</i> O26:A20	2,009±0,03	2,003±0,02	1,975±0,01	2,011±0,01
<i>E.coli</i> O33:F41	2,007±0,01	2,012±0,01	1,988±0,02	2,006±0,03
<i>E.coli</i> O78:K88	2,019±0,01	2,022±0,01	1,984±0,02	2,012±0,02
<i>E.coli</i> O78:K99	2,009±0,03	2,003±0,03	1,984±0,03	2,015±0,01
<i>E.coli</i> O86:A20	2,019±0,01	2,022±0,01	1,984±0,02	2,012±0,02
<i>E.coli</i> O86:F41	2,009±0,03	2,003±0,03	1,984±0,03	2,015±0,01
<i>E.coli</i> O111:A20	2,012±0,01	2,026±0,01	2,012±0,02	2,011±0,02
<i>K. pneumoniae</i> K1	2,007±0,02	2,008±0,03	2,019±0,01	2,012±0,01
<i>K. pneumoniae</i> K2	2,012±0,01	2,022±0,01	1,984±0,02	2,018±0,02
<i>K. oxytoca</i>	2,011±0,01	2,014±0,02	1,975±0,01	2,026±0,01
<i>P. vulgaris</i>	2,018±0,01	2,010±0,02	1,984±0,01	2,012±0,01
<i>E. cloacae</i>	2,011±0,01	2,014±0,01	1,984±0,02	2,009±0,03

**Примечание:** I – патматериал; II – содержимое кишечника; III – смывы помещений; IV – корма,  $p \leq 0,05$

Установлено, что из 118 изолята 49 (47,6 %) культур микроорганизмов продуцировали  $\alpha$ -,  $\beta$ -гемолизины. Бактерии *K. pneumoniae* продуцировали  $\alpha$ -гемолизины – 18 (71,4 %); *P. vulgaris*:  $\alpha$ -гемолизины – 16 (12,5 %),  $\beta$ -гемолизины – 21 (62,5 %).

Для изучения антагонистических свойств микроорганизмов применяли способ «агаровые блочки» и метод отсроченного антагонизма (рис. 17).

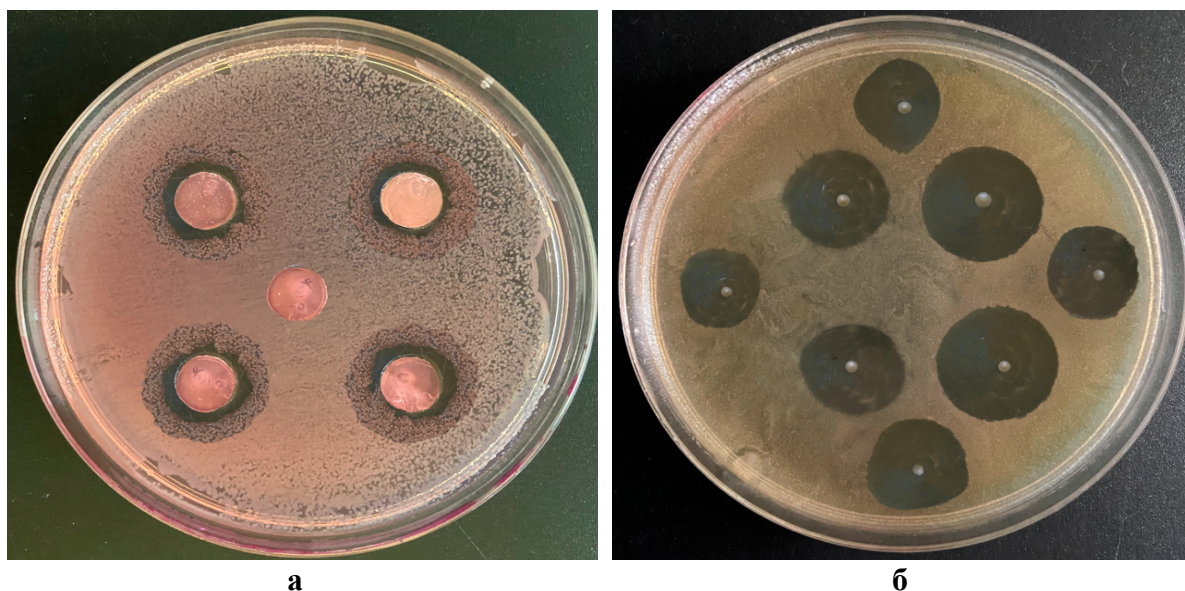


Рис. 17. Антагонистические свойства бактерий *E. coli*: *K.pneumoniae*. а – метод «агаровые блочки». «Агар Эндо ГРМ», 37 °С, 24 ч; б – метод отсроченного антагонизма. МПА, 37 °С, 24 ч

Изоляты *E. coli* ингибировали рост изученных культур микроорганизмов: *S. typhimurium*,  $d = 12,3 \pm 0,39$  мм; *K. pneumoniae*,  $d = 11,0 \pm 0,35$  мм; *C. freundii*,  $d = 9,6 \pm 0,30$  мм; *E. cloacae*,  $d = 10,3 \pm 0,33$  мм. Исследование симбиотических взаимоотношений между штаммами *E. coli* и другими грамотрицательными бактериями, принадлежащими к видам *K. pneumoniae* и *P.vulgaris* с применением метода отсроченного антагонизма, позволило установить, что бактерии *E. coli* проявляли антагонистическую активность в отношении микроорганизмов изученных видов. При использовании способа серийных разведений, 0,7 % МПА культуру микроорганизмов в объеме 1,0 мкл, начальной концентрации 4 ЕД «McFarland» и последующих десятикратных разведений вносили виде капель на поверхность плотной питательной среды, позволяющей провести визуальную дифференциацию исследуемых штаммов. Микроорганизмы культивировали 24 ч при оптимальных условиях. Затем на то же место наносили суспензию исследуемых тест-штаммов исследуемых микроорганизмов в соответствующих концентрациях. Контролем являлся рост культур микроорганизмов, без воздействия тест-штамма. Исследуемые образцы культивировали при оптимальных для тест-штамма условиях 24 ч. Учёт результатов проводили визуально, путём подсчета числа изолированных колоний исследуемого штамма (рис. 18).

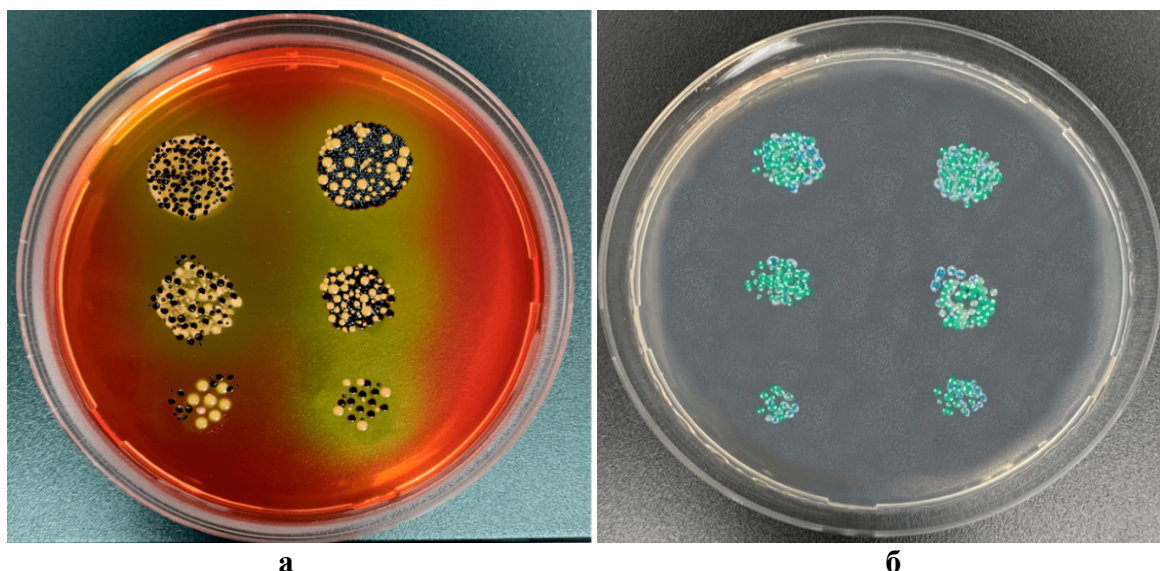


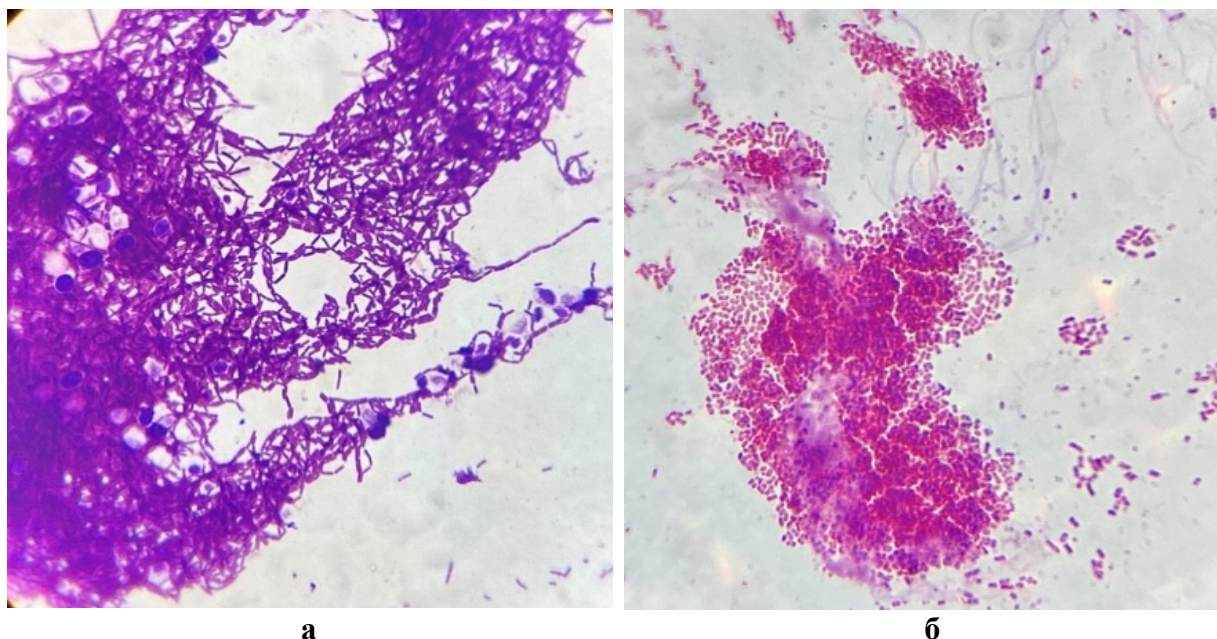
Рис. 18. Способ серийных разведений, 0,7 % МПА: *S.enteritidis*: *E.coli*. XLD, 37 °С, 24 ч.; *C.albicans*: *C.parapsilosis*. Chromogenic Candida Agar, 37 °С, 48 ч.

При апробации способа «агаровая пленка» на поверхность предметного стекла наносили стерильным одноразовым шпателем 200,0 – 300,0 мкл предварительно растопленной на водяной бане плотной питательной среды и распределяли по всей площади предметного стекла и давали подсохнуть при 37 °С, 30 мин.

На следующем этапе предметные стекла опускали в смесь культур микроорганизмов в стерильном 0,95 % растворе NaCl в равном объеме и концентрации, 4 ЕД «*McFarland*». Несколько предметных стёкол помещали во влажную среду – пластиковый контейнер с влажной ватой. Исследуемые образцы культивировали при 37 °С, 24 ч. Учёт результатов проводили визуально, путём подсчета числа изолированных колоний исследуемого штамма.

При исследовании межвидового антагонизма результаты исследований с применением способов существенно не отличались. Степень антагонистической активности ( $K_{п}$ ) штаммов *E.coli* по отношению к *K.pneumoniae* составила:  $0,7 \pm 0,02 - 0,8 \pm 0,04$ ; *P.vulgaris* –  $0,8 \pm 0,04 - 0,9 \pm 0,01$ . Установлена прямая корреляционная зависимость ( $r=0,84$ ) показателей средних значений диаметров зон задержки роста ( $d=5,9 \pm 2,2 - 12,5 \pm 0,9$  мм) и показателей средних значений коэффициента подавления роста ( $0,8 \pm 0,09 - 0,9 \pm 0,07$ ).

Показатели коагрегации микроорганизмов (%) рассчитывали по формуле:  $\% \text{ коагрегации} = \frac{OD_0 - OD_h}{OD_0} \times 100$ ; где  $OD_0$  – оптическая плотность смешанной суспензии;  $OD_h$  – оптическая плотность смешанной суспензии через 60, 120 и 240 мин. При культивировании 60–240 мин микроорганизмы *L. acidophilus* и *L. casei* проявляли способность к коагрегации, через 60 мин культивирования показатели коагрегации микроорганизмов составили: *L. acidophilus* и *C. albicans* –  $27,6 \pm 0,02$  %; *P. aeruginosa* и *C. albicans* –  $16,6 \pm 0,05$  % (рис. 19).



**Рис. 19.** Интенсивность формирования биопленок микроорганизмов, 37° С, 120 мин: а – *L. acidophilus* и *C. albicans*; б – *P. aeruginosa* и *C. albicans*. Архитектоника биопленки из коагрегации бактерий, дрожжевых и мицелиарных форм грибов, объединенных экзоцеллюлярным матриксом, и длинные разветвленные гифальные формы, формирующие плотные структуры, состоящих из псевдомицелия. Окраска по Граму, генцианвиолет. Ок. 10, об. 100, иммерсия

Через 120 мин ( $OD_{h2}$ ) показатели коагрегации *L. acidophilus* и *C. albicans* –  $38,0 \pm 0,07$  %; *L. casei* и *C. albicans* –  $30,5 \pm 0,02$  %; *S. typhimurium* и *C. albicans* –  $26,0 \pm 0,04$  %; *E. coli* и *C. albicans* –  $28,9 \pm 0,01$  %; *K. pneumoniae* и *C. albicans* –  $32,5 \pm 0,07$  %; *P. vulgaris* и *C. albicans* –  $34,5 \pm 0,07$  %; *P. vulgaris* и *C. albicans* –  $37,3 \pm 0,08$  %; *E. cloacae* и *C. albicans* –  $33,1 \pm 0,09$  %; *C. freundii* и *C. albicans* –  $34,5 \pm 0,04$  %; *P. aeruginosa* и *C. albicans* –  $39,0 \pm 0,09$  %; *C. parapsilosis* и *C. albicans* –  $29,7 \pm 0,07$  % (табл. 15).

## Показатели коагрегации культур микроорганизмов

Культуры микроорганизмов	Оптическая плотность (OD)				Коагрегация, %
	OD <sub>0</sub>	OD <sub>h1</sub>	OD <sub>h2</sub>	OD <sub>h3</sub>	
<i>L. acidophilus</i> <i>C. albicans</i>	0,426±0,10	0,308±0,05	0,264±0,15	0,192±0,12	27,6±0,02
<i>L. casei</i> <i>C. albicans</i>	0,433±0,17	0,361±0,16	0,301±0,28	0,256±0,09	16,6±0,05
<i>S. typhimurium</i> <i>C. albicans</i>	0,431±0,15	0,379±0,14	0,319±0,18	0,256±0,08	12,6±0,08
<i>E. coli</i> <i>C. albicans</i>	0,422±0,09	0,353±0,12	0,300±0,10	0,227±0,15	16,4±0,02
<i>K. pneumoniae</i> <i>C. albicans</i>	0,429±0,13	0,318±0,22	0,281±0,09	0,194±0,10	25,9±0,07
<i>P. vulgaris</i> <i>C. albicans</i>	0,422±0,09	0,353±0,12	0,300±0,10	0,227±0,15	16,6±0,05
<i>E. cloacae</i> <i>C. albicans</i>	0,429±0,13	0,318±0,22	0,281±0,09	0,194±0,10	16,4±0,02
<i>C. freundii</i> <i>C. albicans</i>	0,433±0,17	0,361±0,16	0,301±0,28	0,256±0,09	25,9±0,07
<i>P. aeruginosa</i> <i>C. albicans</i>	0,431±0,15	0,379±0,14	0,319±0,18	0,256±0,08	16,6±0,05
<i>C. parapsilosis</i> <i>C. albicans</i>	0,433±0,17	0,361±0,16	0,301±0,28	0,256±0,09	12,6±0,08

**Примечание:** OD – оптическая плотность; OD<sub>с</sub> – OD смешанной суспензии; OD<sub>h1</sub> – OD, 60 мин; OD<sub>h2</sub> – OD, 120 мин; OD<sub>h3</sub> – OD, 240 мин; p ≤ 0,05

При индикации биоплёнок значения абсолютных величин оптической плотности бактерий *P. vulgaris*, *E. cloacae* составили, OD<sub>s</sub> – 0,246±0,03 – 0,284±0,08, интенсивность формирования биопленок – IOD ≥ 0,1–0,2, следовательно, культуры микроорганизмов слабые продуценты биоплёнок. Показатели оптической плотности микроорганизмов *E. coli*, *K. pneumoniae*, *C. parapsilosis* составили, OD<sub>s</sub> – 0,391±0,07 – 0,571±0,05, интенсивность формирования биопленок – IOD ≥ 0,2–0,3, следовательно, культуры микроорганизмов умеренные продуценты биоплёнок. Показатели оптической плотности микроорганизмов *S. aureus*, *C. albicans* составили, OD<sub>s</sub> – 0,454±0,09 – 0,526±0,08, интенсивность формирования биопленок – IOD ≥ 0,3–0,4, следовательно, культуры микроорганизмов сильные продуценты биоплёнок (табл. 16).

**Результаты исследований интенсивности формирования биопленок  
микроорганизмов**

Культуры микроорганизмов	Размеры клеток, нм	Оптическая плотность (OD)		
		OD <sub>c</sub>	OD <sub>s</sub>	IOD
<i>E. coli</i> O33:F41 (легкие)	(1,4–3,8)×(0,5–0,8)	0,098±0,03	0,243±0,11	≥ 0,3–0,4
<i>E. coli</i> O2:A20 (селезенка)	(1,4–3,8)×(0,5–0,8)	0,099±0,08	0,371±0,09	≥ 0,3–0,4
<i>E. coli</i> O111:A20 (подвздошный кишечник)	(1,4–3,8)×(0,5–0,8)	0,096±0,02	0,335±0,01	≥ 0,3–0,4
<i>E. coli</i> O9:A20 (илеоцекальный клапан)	(1,4–3,8)×(0,5–0,8)	0,098±0,09	0,194±0,05	≥ 0,3–0,4
<i>E. coli</i> O9:A20 (печень)	(1,4–3,8)×(0,5–0,8)	0,098±0,03	0,243±0,11	≥ 0,3–0,4
<i>E. coli</i> O2:A20 (печень)	(1,4–3,8)×(0,5–0,8)	0,099±0,08	0,371±0,09	≥ 0,3–0,4
<i>E. coli</i> O2:A20 (мезентериальные лимфатические узлы)	(1,4–3,8)×(0,5–0,8)	0,096±0,02	0,335±0,01	≥ 0,3–0,4
<i>K. pneumoniae</i> (кровь)	(0,6–6,0)×(0,3–1,0)	0,098±0,03	0,351±0,04	≥ 0,3–0,4
<i>K. pneumoniae</i> (сердце)	(0,6–6,0)×(0,3–1,0)	0,098±0,09	0,204±0,12	≥ 0,3–0,4
<i>K. pneumoniae</i> (лёгкие)	(0,6–6,0)×(0,3–1,0)	0,099±0,08	0,383±0,10	≥ 0,3–0,4
<i>K. pneumoniae</i> (подвздошный кишечник)	(0,6–6,0)×(0,3–1,0)	0,096±0,02	0,281±0,09	≥ 0,3–0,4
<i>K. pneumoniae</i> (печеночные лимфатические узлы)	(0,6–6,0)×(0,3–1,0)	0,098±0,09	0,204±0,12	≥ 0,3–0,4
<i>P. vulgaris</i> (печень)	(1,0–3,0)×(0,4–0,8)	0,099±0,01	0,378±0,12	≥ 0,2–0,3
<i>P. vulgaris</i> (почки)	(1,0–3,0)×(0,4–0,8)	0,099±0,01	0,322±0,17	≥ 0,2–0,3
<i>C. freundii</i> (подвздошный кишечник)	(0,6–1,0)×(1,2–3,0)	0,099±0,04	0,372±0,14	≥ 0,2–0,3
<i>C. freundii</i> (мезентериальные лимфатические узлы)	(0,6–1,0)×(1,2–3,0)	0,098±0,09	0,204±0,12	≥ 0,3–0,4
<i>S. aureus</i> (лёгкие)	(1,5–1,6)	0,098±0,02	0,391±0,18	≥ 0,3–0,4
<i>S. aureus</i> (подвздошный кишечник)	(1,5–1,6)	0,099±0,01	0,389±0,16	≥ 0,3–0,4
<i>C. albicans</i> (лёгкие)	(1,5–10,0)	0,099±0,07	0,398±0,05	≥ 0,3–0,4
<i>C. albicans</i> (подвздошный кишечник)	(1,5–10,0)	0,098±0,02	0,391±0,18	≥ 0,3–0,4
<i>C. parapsilosis</i> (легкие)	(1,5–8,0)	0,098±0,06	0,397±0,06	≥ 0,2–0,3

**Примечание:** OD – оптическая плотность; OD<sub>c</sub> – OD контроль; OD<sub>s</sub> – OD исследуемый образец; IOD – интенсивность: разность OD исследуемого образца (OD<sub>s</sub>) и контроля (OD<sub>c</sub>); p≤0,05

Через 18–48 ч культивирования препаратов при 37 °С окрашенных генцианвиолетом, метиленовой синью и по Граму, были выявлены гетерогенные структуры биопленок изученных изолятов грамотрицательных и грамположительных бактерий, а также дрожжеподобных грибов *Candida spp.* (рис. 20).

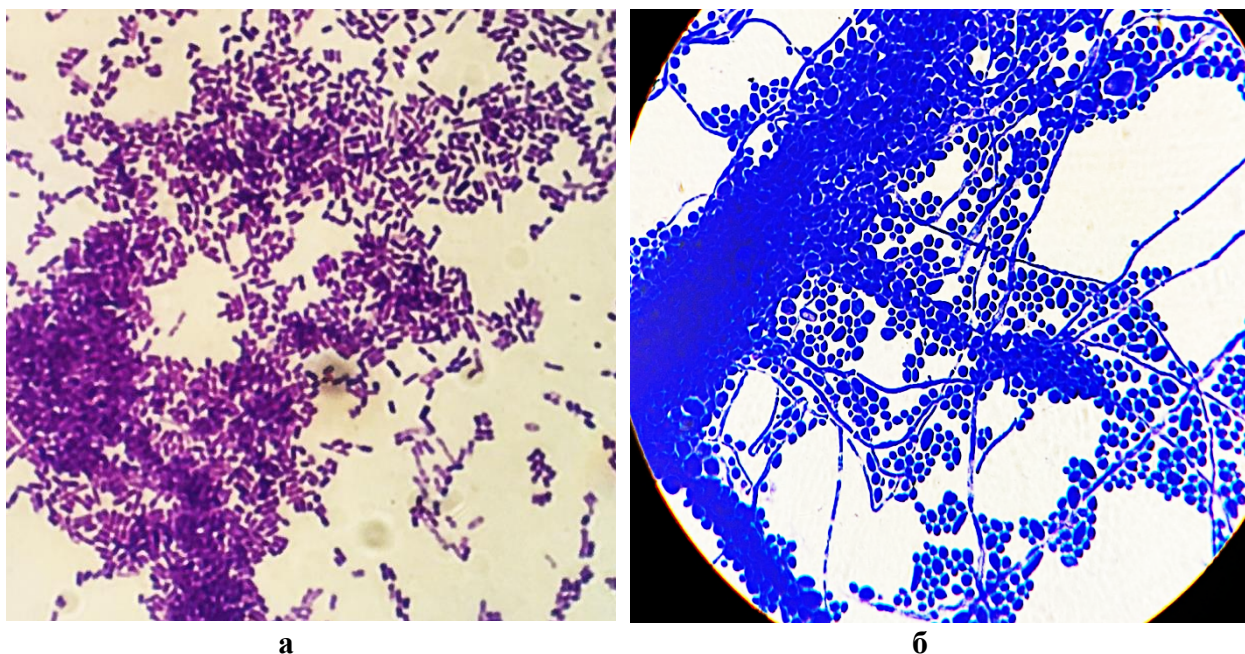
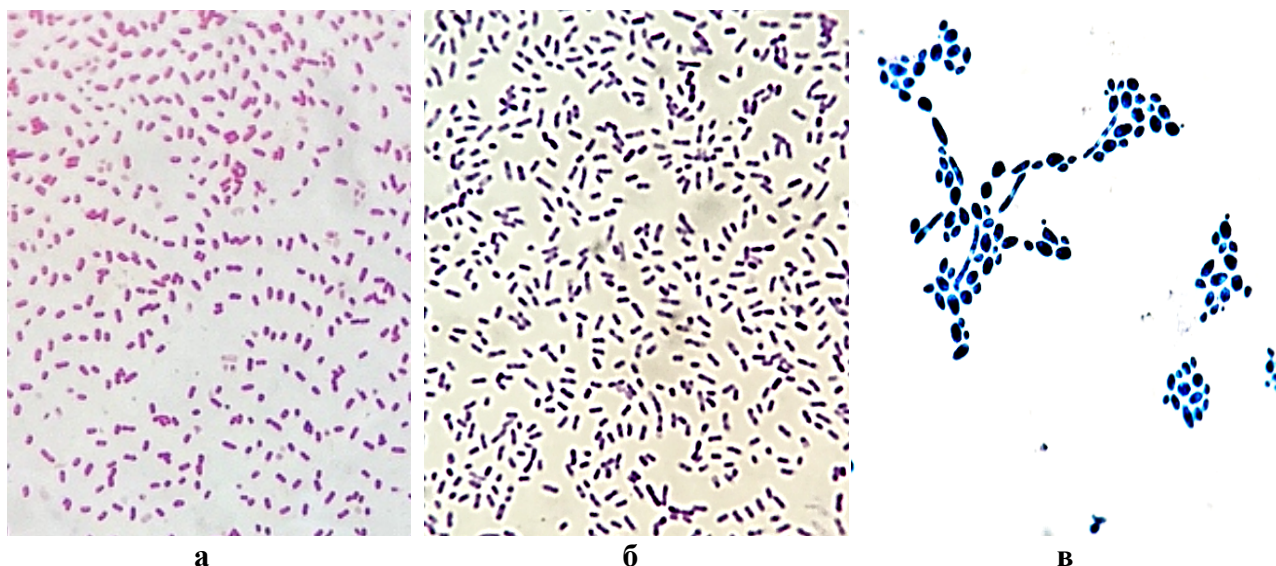


Рис. 20. Морфология микроорганизмов, 37 °С, 48 ч, МПБ: а – бактерии *K. pneumoniae*. Генцианвиолет, ок. 10, об. 100, иммерсия; б – дрожжеподобные грибы *C. albicans*. Метиленовый синий, ок. 10, об. 100, иммерсия

Статические и динамические модели *in vitro* позволили учитывать массовую долю состава биопленок без нарушения естественной архитектоники и при воздействии различных факторов. Динамика объединения общим межклеточным матриксом трехмерной объемной гетероморфной структуры биопленок – популяции (лат. *populatio* — население) сопровождалась увеличением массовой доли клеток, 86,8–91,4% и межклеточного матрикса – 8,9–13,2%.

Реализация процессов межклеточной коммуникации происходила поэтапно. Адгезия – прикрепление микроорганизмов к поверхности субстрата и фиксация – окончательное (необратимое) прикрепление микроорганизмов происходила за счет выделения внеклеточных полимеров, обеспечивающих коагрегацию и прочную фиксацию клеток к исследуемому образцу (рис. 21).



**Рис. 21. Интенсивность формирования биопленок микроорганизмов: а – *E. coli*; б – *P. aeruginosa*, 37° С, 18 ч – адгезия вегетативных форм бактерий, имеющих типичную для вида форму и размеры (0,3–0,8×0,6–3,0); в – *C. albicans*, 37° С, 18 ч – диморфный рост микроскопических грибов в виде дрожжевых почкующихся форм – бластоспор и удлинённых клеток с псевдогифами. Окраска по Граму, генцианвиолет, метиленовый синий. Ок. 10, об. 100, иммерсия**

Бактериальные клетки, как грамотрицательные, так и грамположительные, бластоспоры микроскопических грибов были объединены межклеточным матриксом различной интенсивности окраски и формировали короткие цепочки, на отдельных участках – длинные нити. Плотнo упакованные, прикрепившиеся к поверхности микроорганизмы, удерживающиеся за счёт межклеточного матрикса, способствовали прикреплению последующих клеток, образовывали замкнутые структуры различного размера – диффузный слой клеток (рис. 22, а; 22, б). На данном этапе выявлялись уплотненные участки биопленки, характеризующиеся наличием палочковидной и округлой формы клеток.

Этап созревания характеризовался наличием прикрепившихся к субстрату микроорганизмов, способствовавших прикреплению последующих клеток. Формирование микроколоний на отдельных участках обеспечивалось за счёт процесса коагрегации – образования межклеточных связей, выявлялись различные по величине плотно упакованные клеточные структуры, объединённые межклеточным матриксом (рис. 22, в).

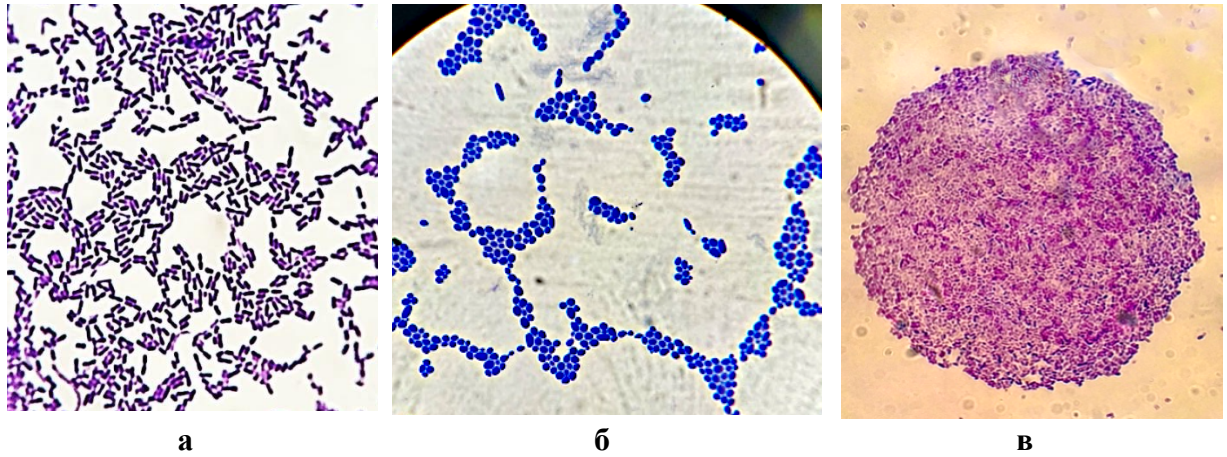


Рис. 22. Интенсивность формирования биопленок микроорганизмов, 37° С, 24 ч: а – грамотрицательные палочки *K.pneumoniae* расположены обособленными разветвленными структурами; б – агрегации вегетативных дрожжевых форм *S.albicans*. в – микроколонии *E.coli*, состоящие из коагрегации клеток, окружённых межклеточным полимерным матриксом. Генцианвиолет, метиленовый синий. Ок. 10, об. 100, иммерсия

Межклеточные связи обуславливали популяционную иммобилизацию. Наблюдалось образование вторичных микроколоний, часть клеток вторичной микроколонии была связана с первичными, выявлялись отделившиеся микроколонии, разделённые матричными пустотами, характеризующиеся наличием клеточных тяжей (рис. 23, рис. 24, а).

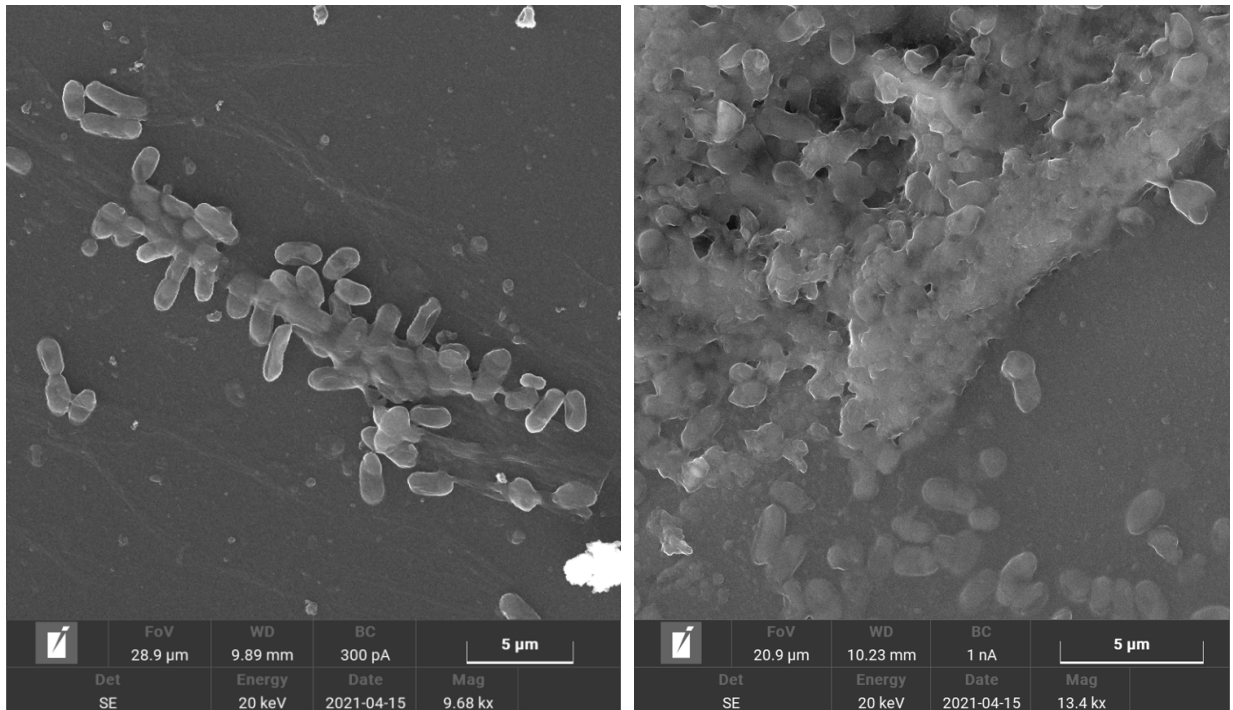


Рис. 23. Формирование биопленок микроорганизмов *E.coli* – микроколонии из групп палочковидных клеток, объединенных экзоцеллюлярным матриксом. СЭМ, x 5000

Формирование архитектоники биопленки на этапе роста обеспечивалось за счёт синтеза внеклеточного матрикса, состоящего из сложных подвижных гелевых структур. Механическую стабильность обуславливали выявленные на поверхности биоплёнок в виде полимерных сетей экзоцеллюлярные вещества. На отдельных участках были выявлены деструктивные процессы межклеточного матрикса – дисперсия микроорганизмов, сохранивших способность к адгезии и формированию новых колоний (рис. 24, в).

Гифы микроскопических грибов обеспечивали гипоксическую среду, как для дрожжевых форм грибов, так и бактерий. Диморфный рост обуславливал увеличение количества адгезированных к субстрату клеток, формировались биопленки, состоящие из дрожжевых форм грибов и бактериальных клеток, удерживающихся на гифах. Как правило, в поливидовых биоплёнках наблюдали адгезию грамотрицательных и грамположительных бактерий к дрожжевым формам микроскопических грибов (рис. 24, б).

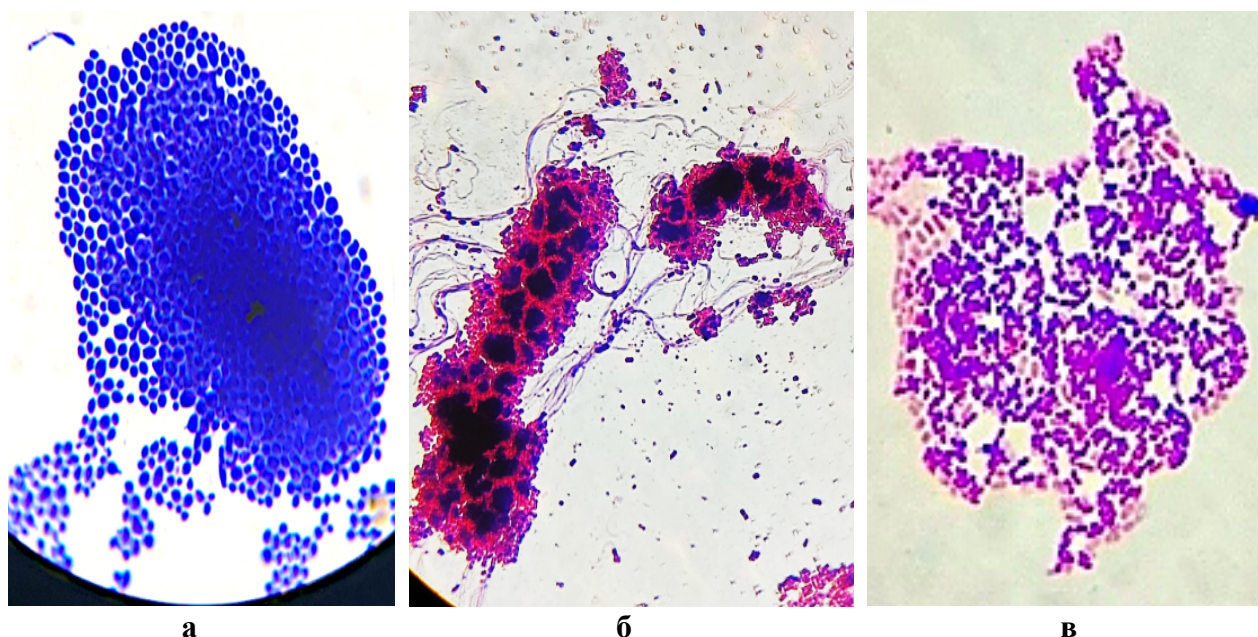


Рис. 24. Интенсивность формирования биопленок микроорганизмов 37° С, 144 ч: а – моновидовая микроколлония *C.albicans*; б – поливидовая микроколлония, состоящая из клеток *C.albicans* и грамотрицательных палочек *K.pneumoniae*; в – микроколлония, состоящая из коагрегации грамположительных кокков *S.aureus* – в центре и грамотрицательных палочек *K.pneumoniae* – на периферии, деструктивный процесс межклеточного матрикса с последующим отделением клеток, сохранивших способность к адгезии и формированию вторичных микроколлоний. Окраска по Граму, метиленовый синий. Ок. 10, об. 100, иммерсия

### 2.2.4.2. Динамика патологических процессов при диссеминации биопленкообразующих энтеробактерий

При взаимодействии бактерий с клетками крови учитывали показатели: средний показатель адгезии (AIA) – среднее число микроорганизмов, прикрепившихся к поверхности одного эритроцита; коэффициент адгезии (CA) – % эритроцитов, имеющих на поверхности бактерии; индекс адгезии микроорганизмов (IA) – отношение AIA и CA. В зависимости от значений IA исследуемые бактерии считали: неадгезивные (IA=1,00–1,75); низкоадгезивные (IA=1,76–2,49); среднеадгезивные (IA=2,50–3,99); высокоадгезивные (IA ≥ 4,00) (табл. 17).

Таблица 17

#### Результаты изучения адгезивных свойств бактерий

Культуры микроорганизмов	Свойства микроорганизмов (M±m)			t <sub>d</sub>
	AIA	CA	IA	
<i>S. typhimurium</i> ATCC 29056	3,18±0,14	1,12±0,33	4,8±0,35	4,4
<i>E. coli</i> O33:F41 (легкие)	3,62±0,75	1,15±0,29	2,8±0,16	4,2
<i>E. coli</i> O2:A20 (селезенка)	2,91±0,28	1,03±0,09	2,5±0,14	4,6
<i>E. coli</i> O111:A20 (подвздошный кишечник)	3,18±0,14	1,07±0,52	4,8±0,35	4,1
<i>E. coli</i> O9:A20 (илеоцекальный клапан)	3,62±0,75	1,15±0,29	2,8±0,16	4,4
<i>E. coli</i> O9:A20 (печень)	2,91±0,28	1,03±0,09	2,5±0,14	4,2
<i>E. coli</i> O2:A20 (печень)	3,18±0,14	1,07±0,52	4,8±0,35	4,6
<i>E. coli</i> O2:A20 (мезентериальные лимфатические узлы)	3,62±0,75	1,15±0,29	2,8±0,16	4,4
<i>K. pneumoniae</i> (кровь)	2,91±0,28	1,03±0,09	4,8±0,35	4,2
<i>K. pneumoniae</i> (подвздошный кишечник)	2,91±0,28	1,03±0,09	4,8±0,35	4,6
<i>K. pneumoniae</i> (печеночные лимфатические узлы)	3,18±0,14	1,07±0,52	2,8±0,16	4,1
<i>P. vulgaris</i> (печень)	3,62±0,75	1,15±0,29	4,8±0,35	4,4
<i>C. freundii</i> (подвздошный кишечник)	3,18±0,14	1,07±0,52	4,8±0,35	4,2
<i>C. albicans</i> (подвздошный кишечник)	2,91±0,28	1,03±0,09	4,8±0,35	4,2
<i>C. parapsilosis</i> (легкие)	2,91±0,28	1,03±0,09	4,8±0,35	4,6

**Примечание:** AIA – средний показатель адгезии; CA – коэффициент адгезии; IA – индекс адгезии; t<sub>d</sub> – коэффициент достоверности; p ≤ 0,05

Изученные бактерии были высоко адгезивные ( $IA \geq 4,0$ ) – *E.coli* O26:A20, *K.pneumoniae*, изоляты из патматериала и среднеадгезивные ( $IA=2,50-3,99$ ) – *E.coli* O9; *K.pneumoniae*; *C.freundii* ATCC 43864 – референтные штаммы и *C.freundii*, изолят из патматериала ягнят.

Установлена прямая коррелятивная зависимость ( $r=0,89$ ) между показателями индекса адгезии бактерий,  $IA - 4,09 \pm 0,02 - 4,98 \pm 0,02$  и индекса колонизации,  $ICol - 0,602 \pm 0,08 - 0,633 \pm 0,02$  (рис. 25).

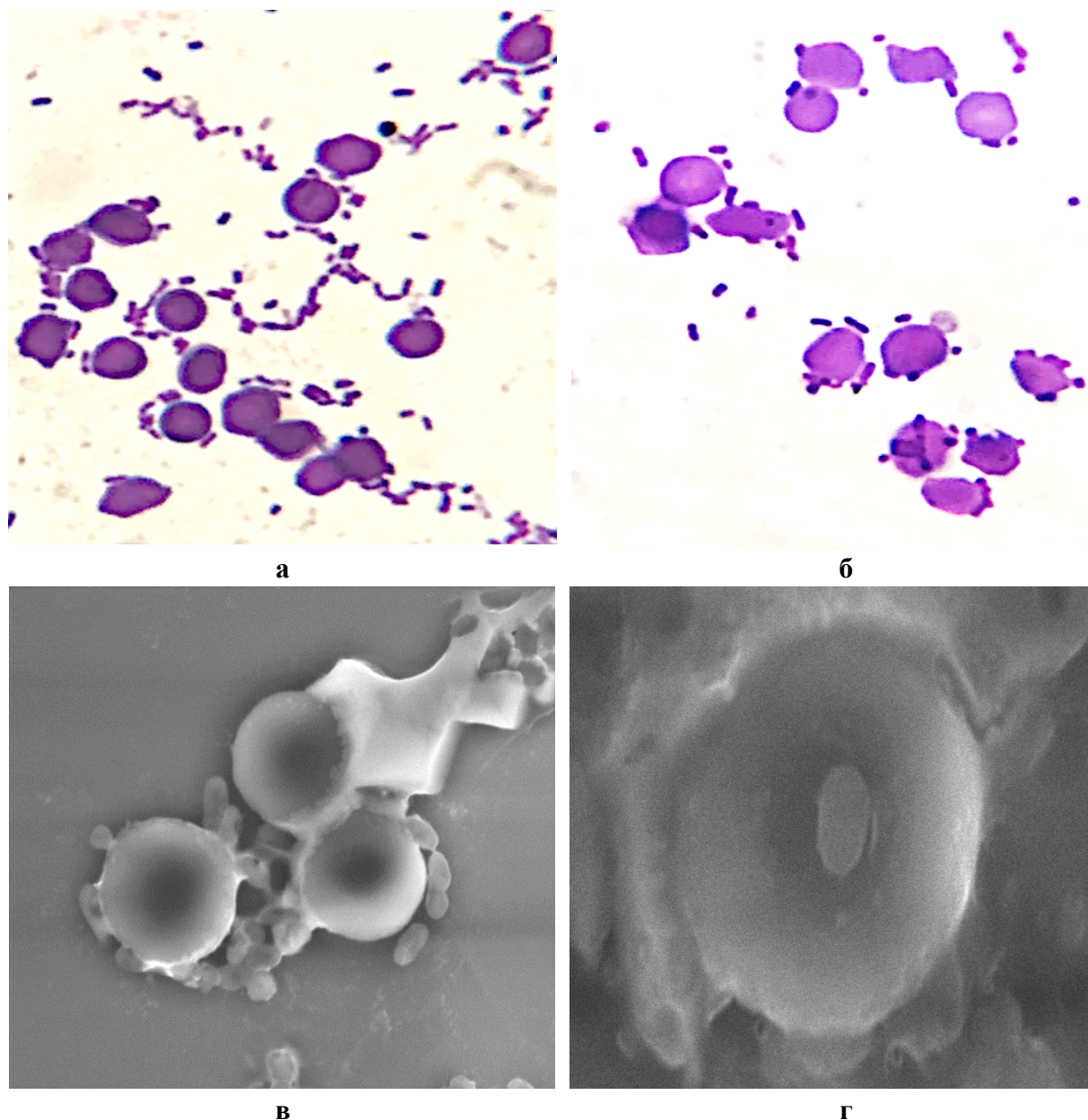


Рис. 25. Адгезия к эритроцитам барана, 30 мин, *K. pneumoniae*: а, б – генцианвиолет, оптическая микроскопия, ок. 10, об 100, иммерсия; в, г – СЭМ, х 3000–10000

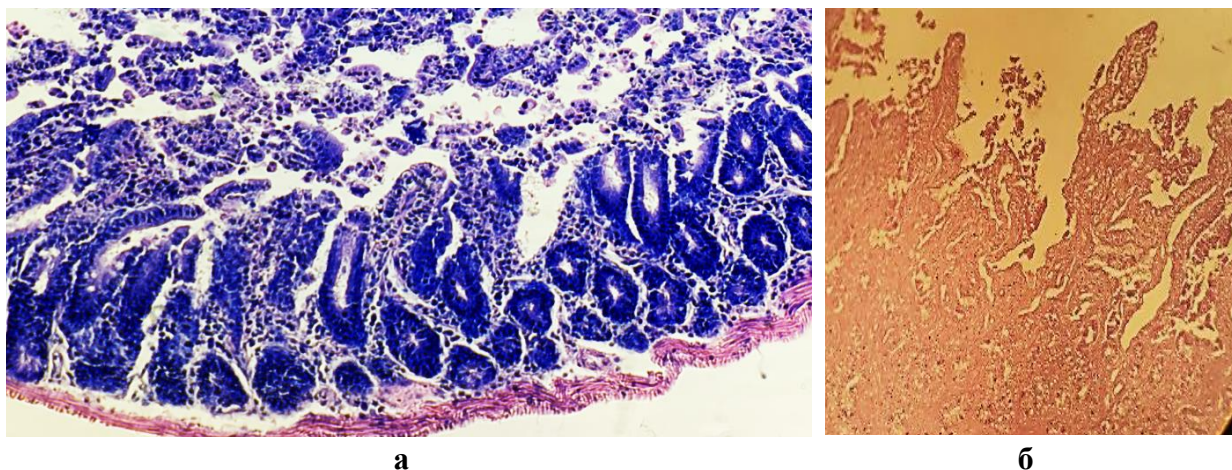
Экспериментальное воспроизведение инфекционного процесса при заражении белых беспородных мышей референтным штаммом *S. typhimurium* ATCC 29056; *E.coli* O78:K99 (терминальный отдел подвздошного кишечника ягненка); *K. pneumoniae* K1 (селезёнка ягненка) позволило установить, что индекс колонизации, *ICol* составил  $0,602 \pm 0,08 - 0,633 \pm 0,02$ ; индекс дилатации, *IDil* –  $0,115 \pm 0,005 - 0,125 \pm 0,007$  (табл. 18).

Таблица 18

**Результаты исследований динамики патологических процессов при диссеминации микроорганизмов**

Виды бактерий	Факторы вирулентности бактерий				
	<i>IOD</i>	<i>IA</i>	<i>ICol</i>	<i>IDil</i>	<i>IDis</i>
<i>S. typhimurium</i> ATCC 29056	$0,391 \pm 0,07$	$4,8 \pm 0,35$	$0,633 \pm 0,02$	$0,125 \pm 0,007$	$33,91 \pm 0,02$
<i>E.coli</i> O78:K99	$0,376 \pm 0,04$	$2,8 \pm 0,16$	$0,602 \pm 0,08$	$0,119 \pm 0,009$	$24,14 \pm 0,01$
<i>K.pneumoniae</i> K1	$0,471 \pm 0,05$	$2,5 \pm 0,14$	$0,614 \pm 0,05$	$0,115 \pm 0,005$	$29,30 \pm 0,01$
<i>Примечание: IOD – интенсивность формирования биопленок; IA – индекс адгезии; ICol – индекс колонизации; IDil – индекс дилатации; IDis – индекс диссеминации; p ≤ 0,05</i>					

Установлена прямая коррелятивная зависимость ( $r=0,89$ ) между показателями индекса адгезии бактерий, *IA* –  $4,09 \pm 0,02 - 4,98 \pm 0,02$  и индекса колонизации, *ICol* –  $0,602 \pm 0,08 - 0,633 \pm 0,02$ . За счет наличия фимбриальных структур и афимбриальных адгезинов, бактерии, реализующие патогенный потенциал, адгезировали к рецепторам энтероцитов ворсинок слизистой оболочки терминального отдела подвздошного кишечника. Многоклеточные гетерогенные биопленки энтеробактерий, объединенные межклеточным матриксом, располагались на апикальных полюсах эпителиоцитов ворсинок и крипт терминального отдела подвздошного кишечника. В просвете органа выявляли множество бактерий, экссудат, содержащий десквамированные эпителиальные клетки, с примесью слизи, полиморфноядерные лейкоциты. Инвазивные бактерии вызывали повреждение эпителиального пласта, большинство ворсинок были разрушены, выявляли нарушение эндотелиального слоя кровеносных сосудов, развитие воспалительной гиперемии собственной пластинки слизистой оболочки органа (рис. 26).



**Рис. 26.** Биопленки бактерий, объединенные межклеточным матриксом, расположены на апикальных полюсах энтероцитов терминального отдела подвздошного кишечника: ворсинки разрушены, кровеносные сосуды подслизистого слоя инъецированы: а – окраска по Крантцу; б – гематоксилин и эозин. Ок. 10, об. 100

Инвазивные бактерии вызывали повреждение эпителиального слоя, ворсинки были разрушены, выявляли нарушение эндотелиального слоя кровеносных и лимфатических сосудов. Установлена множественная бактериальная эмболия кровеносных сосудов, выраженная нейтрофильная инфильтрация и застойная гиперемия лимфоидных фолликулов, генерализованная инфекция, абсцессы легких, сердца, печени, почек. Наблюдалось развитие реакций гиперчувствительности замедленного типа, характеризующихся застойной гиперемией сосудов, токсической дистрофией кардиомиоцитов, массовым распадом лимфоцитов, макрофагальной реакцией, периваскулярным отеком тканей, диссеминированным тромбозом, признаками острого некротического мезаденита, формированием гранулём лимфоидных фолликулов слизистой оболочки кишечника, илеоцекального клапана, лимфатических узлов и селезёнки.

Динамика изменений биохимических показателей внутренних органов животных при заражении *S. typhimurium* ATCC 29056, 4 ЕД «McFarland» на 4-е сут. характеризовалась увеличением концентрации уксусной, пропионовой, масляной кислот, сахарозы, активности щелочной фосфатазы, химотрипсина, амилазы, липазы; снижением рН среды, концентрации лецитина, гликогена, липидов (табл. 19, 20).

Таблица 19

**Результаты биохимических исследований  
при заражении *S. typhimurium* ATCC 29056**

Биохимические показатели	Органы животных																									
	Сердце		Легкие		Желудок		Двенадцати-перстный к-к		Тоший к-к		Подвздошный к-к		Слепой к-к		Ободочный к-к		Прямой к-к		Печень		Поджелудочная железа		Почки		Семенники	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
рН	5,4±0,1	6,8±0,1	5,3±0,2	6,9±0,1	4,6±0,3	7,3±0,1	4,2±0,1	7,0±0,1	4,4±0,1	6,9±0,1	4,2±0,5	7,2±0,1	5,1±0,5	6,9±0,2	5,6±0,1	6,8±0,5	5,6±0,9	6,9±0,1	6,0±0,1	7,1±0,1	4,9±0,1	7,4±0,1	5,8±0,2	6,8±0,1	6,1±0,4	6,7±0,1
Уксусная кислота, мг/г	0,2±0,1	–	0,4±0,1	0,2±0,2	4,3±0,3	2,9±0,4	3,4±0,8	2,4±0,7	3,9±0,2	1,6±0,1	4,3±0,1	2,4±0,1	3,7±0,7	1,9±0,4	2,1±0,3	0,4±0,1	1,9±0,4	0,4±0,4	1,1±0,3	0,2±0,3	2,2±0,1	0,9±0,2	0,3±0,3	0,2±0,1	0,3±0,1	–
Пропионовая кислота, мг/г	0,2±0,1	–	0,2±0,1	–	3,2±0,1	1,4±0,2	2,2±0,1	1,6±0,2	2,8±0,4	1,2±0,1	2,19±0,34	1,1±0,1	1,9±0,24	–	0,9±0,3	–	0,7±0,14	–	1,9±0,4	0,6±0,3	2,2±0,8	0,5±0,1	0,6±0,24	0,3±0,2	0,2±0,2	–
Масляная кислота, мг/г	0,2±0,1	–	0,1±0,1	–	1,4±0,2	1,0±0,2	1,2±0,4	1,0±0,4	1,4±0,1	0,8±0,1	1,3±0,2	0,4±0,1	0,9±0,1	–	0,4±0,9	–	0,2±0,1	–	0,41±0,89	0,21±0,89	1,0±0,2	0,7±0,2	0,4±0,1	–	0,2±0,1	–
Билирубин, мг/г	0,6±0,1	–	0,8±0,2	–	1,4±0,1	–	2,1±0,2	–	2,2±0,1	–	2,6±0,2	–	2,1±0,1	–	1,2±0,1	–	0,6±0,1	–	2,9±0,1	–	1,9±0,3	–	0,8±0,2	–	0,3±0,1	–
Энтерокиназа, Ед/г	36,0±0,1	10,0±0,1	22,0±0,3	08,0±0,3	97,0±0,1	22,0±0,2	90,0±0,2	19,0±0,1	87,0±0,3	15,0±0,1	80,0±0,1	14,0±0,1	82,0±0,21	12,0±0,5	60,0±0,3	18,0±0,4	31,0±0,1	09,0±0,5	46,0±0,2	15,0±0,4	41,0±0,5	11,0±0,4	19,0±0,21	–	08,0±0,–	–
Трипсин, Ед/г	04,1±0,4	–	02,2±0,1	–	24,1±0,2	16,8±0,1	14,1±0,1	02,8±0,2	12,4±0,2	01,2±0,2	10,2±0,4	03,2±0,2	04,1±0,4	0,2±0,1	02,1±0,4	–	02,2±0,1	–	08,2±0,4	0,7±0,2	11,0±0,2	0,6±0,1	05,3±0,1	–	02,2±0,–	–
Липаза, Ед/г	11,2±0,5	–	08,7±0,2	–	48,1±0,1	29,0±0,2	38,2±0,5	17,0±0,4	30,0±0,1	08,1±0,1	24,6±0,4	05,1±0,1	20,1±0,4	7,1±0,1	18,2±0,8	–	12,1±0,11	–	20,1±0,2	48,1±0,1	31,1±0,6	48,1±0,1	10,2±0,1	–	0,5±0,7	–
Амилаза, Ед/г	30,0±0,2	–	25,0±0,1	–	99,0±0,1	48,2±0,7	94,0±0,6	50,1±0,2	82,0±0,1	36,0±0,1	79,0±0,1	30,0±0,1	65,0±0,21	18,0±0,1	60,0±0,1	–	33,0±0,1	–	50,0±0,2	16,0±0,1	45,0±0,5	19,0±0,2	17,0±0,21	–	10,0±0,–	–
Щелочная фосфатаза, Ед/г	34,0±0,7	–	28,0±0,3	–	98,0±0,4	45,2±0,3	90,0±0,1	46,2±0,1	88,0±0,2	29,0±0,1	85,0±0,1	37,0±0,1	69,0±0,1	19,0±0,4	61,0±0,4	9,1±0,2	41,0±0,21	7,0±0,21	59,0±0,4	14,0±0,4	48,0±0,2	21,0±0,3	14,0±0,11	–	16,0±0,1	–
Эластаза, Ед/г	0,3±0,2	–	0,2±0,1	–	5,3±0,1	0,9±0,2	4,2±0,3	0,4±0,1	3,6±0,1	0,2±0,1	3,3±0,1	0,3±0,1	3,0±0,7	0,2±0,1	2,4±0,2	–	1,5±0,2	–	1,2±0,4	–	2,9±0,2	0,9±0,1	0,3±0,2	–	0,2±0,1	–
Стрекобилин, мг/г	0,2±0,1	–	0,3±0,1	–	3,2±0,1	0,3±0,1	2,2±0,1	0,2±0,1	2,8±0,4	0,2±0,1	2,19±0,4	0,2±0,1	1,9±0,24	0,2±0,1	0,9±0,3	–	0,7±0,14	–	1,9±0,4	–	2,2±0,8	–	0,6±0,24	–	0,2±0,2	–
Сахароза, мг/г	0,3±0,2	–	0,4±0,1	–	1,1±0,2	0,8±0,2	0,9±0,1	0,5±0,3	0,8±0,2	0,4±0,3	0,6±0,2	–	0,5±0,1	–	0,5±0,2	–	0,3±0,2	–	0,4±0,2	–	0,6±0,1	–	0,2±0,2	–	0,3±0,1	–
Лецитин, мг	99,0±0,5	219,0±0,5	86,0±0,1	208,0±0,1	101,0±0,6	208,0±0,1	100,0±0,2	204,0±0,4	108,0±0,5	201,0±0,2	105,0±0,1	200,0±0,2	102,0±0,1	206,0±0,2	101,0±0,4	212,0±0,9	98,0±0,21	210,0±0,9	139,0±0,4	217,0±0,9	94,0±0,2	198,0±0,5	102,0±0,1	205,0±0,1	161,0±0,1	192,0±0,1
Гликоген, мг	154,0±0,4	287,0±0,4	76,0±0,2	125,0±0,4	97,0±0,6	197,0±0,4	87,0±0,2	189,0±0,2	74,0±0,3	184,0±0,4	70,0±0,1	177,0±0,4	74,0±0,1	185,0±0,4	83,0±0,2	191,0±0,2	89,0±0,21	196,0±0,2	597,0±0,2	868,0±0,4	43,0±0,3	99,0±0,1	69,0±0,11	126,0±0,1	131,0±0,1	169,0±0,1
Липиды, %	06,2±0,4	17,3±0,4	03,1±0,2	14,1±0,4	12,4±0,2	26,1±0,2	10,2±0,1	23,1±0,1	10,4±0,2	16,2±0,2	11,3±0,4	15,1±0,1	12,2±0,4	16,3±0,1	12,3±0,5	15,0±0,3	12,1±0,1	61,2±0,1	11,5±0,2	27,3±0,4	11,0±0,4	16,1±0,2	15,2±0,1	19,1±0,1	10,2±0,1	24,3±0,1
Холестерин, мг	96,0±0,3	171,3±0,4	99,0±0,2	184,3±0,4	104,0±0,6	199,2±0,4	106,0±0,1	198,1±0,7	104,0±0,3	192,1±0,4	105,0±0,1	195,1±0,4	104,0±0,1	190,3±0,4	102,0±0,4	189,3±0,4	96,0±0,2	169,3±0,4	119,0±0,4	199,3±0,4	157,0±0,2	205,3±0,2	142,0±0,1	198,3±0,1	170,0±0,1	231,1±0,1
Na <sup>+</sup> , ммоль/л	164,0±0,4	235,0±0,4	149,0±0,6	258,0±0,1	124,0±0,3	246,0±0,1	131,0±0,2	254,0±0,2	134,0±0,3	241,0±0,2	170,0±0,1	230,0±0,2	174,0±0,1	236,0±0,2	163,0±0,2	232,0±0,9	159,0±0,1	240,0±0,9	127,0±0,2	237,0±0,9	103,0±0,3	208,0±0,5	149,0±0,1	215,0±0,1	121,0±0,1	252,0±0,1
K <sup>+</sup> , ммоль/л	11,1±0,3	29,0±0,2	12,7±0,3	24,1±0,2	18,1±0,1	22,2±0,1	18,2±0,5	23,1±0,3	10,0±0,2	21,2±0,3	14,3±0,4	22,0±0,3	10,6±0,4	20,1±0,2	14,1±0,7	22,8±0,1	12,1±0,2	20,1±0,1	10,1±0,7	21,2±0,1	11,1±0,2	20,1±0,2	10,1±0,1	21,5±0,1	11,0±0,1	21,3±0,1
СГ, ммоль/л	99,6±0,3	215,0±0,4	104,0±0,2	210,0±0,4	100,0±0,6	205,0±0,4	104,0±0,2	211,0±0,2	101,0±0,5	209,0±0,4	103,0±0,1	207,0±0,4	105,0±0,1	210,0±0,4	102,0±0,4	213,0±0,2	101,0±0,4	204,0±0,4	109,0±0,4	216,0±0,4	104,0±0,2	202,0±0,4	100,0±0,1	207,0±0,1	111,0±0,1	201,0±0,1

**Примечание:** I – болезни органов пищеварения, n=3; II – клинически здоровые животные, n=3;   – увеличение показателя;   – снижение показателя; p≤0,05

Таблица 20

**Результаты биохимических исследований  
при заражении *S. typhimurium* ATCC 29056**

Биохимические показатели	Органы животных																					
	Тимус		Небная миндалина		Лимфатические узлы																Селезенка	
					Нижнечелюстные		Шейные		Подмышечные		Средостенные		Мезентеральные		Почечные		Паховые		Хвостовые			
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
рН	3,2±0,2	6,7±0,2	5,7±0,3	6,8±0,2	5,5±0,1	6,9±0,2	5,2±0,3	7,1±0,2	5,7±0,2	7,0±0,2	5,3±0,5	7,1±0,3	5,4±0,7	7,2±0,1	5,7±0,3	6,9±0,1	5,9±0,1	7,1±0,2	6,1±0,2	7,0±0,2	4,6±0,2	7,1±0,2
Уксусная кислота, мг/г	0,3±0,2	–	0,3±0,1	–	2,3±0,5	–	2,7±0,4	–	3,9±0,5	–	3,0±0,1	1,3±0,2	2,1±0,4	0,9±0,2	2,0±0,1	0,9±0,2	1,8±0,2	0,6±0,3	1,6±0,1	0,2±0,3	2,3±0,2	0,6±0,1
Пропионовая кислота, мг/г	0,2±0,1	–	0,2±0,1	–	3,2±0,1	–	3,5±0,1	–	3,4±0,2	–	1,9±0,4	1,0±0,3	2,7±0,4	1,7±0,2	2,8±0,3	1,7±0,6	2,5±0,4	1,2±0,1	2,2±0,3	1,0±0,3	2,9±0,2	1,8±0,4
Масляная кислота, мг/г	0,2±0,1	–	0,3±0,2	–	1,2±0,1	–	1,8±0,6	–	2,3±0,5	–	1,8±0,1	0,6±0,2	1,9±0,1	0,5±0,3	1,4±0,1	0,5±0,1	1,2±0,3	0,8±0,1	0,9±0,2	0,3±0,1	2,2±0,3	0,7±0,3
Билирубин, мг/г	0,3±0,2	–	0,4±0,2	–	0,9±0,6	–	1,5±0,6	–	3,6±0,2	–	3,9±0,8	–	3,8±0,6	–	2,1±0,2	–	1,9±0,1	–	1,4±0,2	–	4,6±0,1	–
Энтерокиназа, Ед/г	16,0±0,1	–	12,5±0,1	–	67,0±0,2	–	69,0±0,6	–	72,0±0,5	–	74,5±0,2	–	78,4±0,1	17,4±0,4	47,2±0,1	10,2±0,5	38,1±0,4	9,0±0,5	36,0±0,3	5,9±0,6	76,0±0,4	19,1±0,6
Трипсин, Ед/г	02,1±0,3	–	3,1±0,1	–	12,1±0,1	–	14,3±0,2	–	16,2±0,1	–	18,1±0,3	–	24,2±0,4	–	16,2±0,1	–	12,4±0,7	–	10,6±0,2	–	10,5±0,3	0,3±0,2
Липаза, Ед/г	6,3±0,1	–	8,1±0,4	–	31,6±0,7	–	34,3±0,4	–	38,5±0,2	–	39,4±0,2	–	41,1±0,1	–	18,2±0,8	–	10,1±0,6	–	6,2±0,1	–	31,1±0,6	48,1±0,1
Амилаза, Ед/г	13,0±0,1	–	14,3±0,2	–	72,2±0,4	–	75,3±0,3	–	82,0±0,1	–	77,0±0,2	–	77,4±0,1	–	56,1±0,7	–	31,4±0,6	–	22,1±0,4	–	45,3±0,4	19,0±0,6
Щелочная фосфатаза, Ед/г	21,0±0,5	–	15,0±0,1	–	75,3±0,1	–	79,2±0,1	–	86,2±0,1	–	84,0±0,7	–	88,2±0,3	–	70,4±0,7	9,0±0,4	54,3±0,0	7,0±0,1	26,7±0,1	–	80,0±0,1	26,4±0,5
Эластаза, Ед/г	0,3±0,1	–	0,3±0,1	–	0,7±0,3	–	1,2±0,5	–	2,6±0,2	–	2,9±0,2	–	3,0±0,7	–	2,2±0,1	–	1,6±0,4	–	1,2±0,3	–	2,9±0,4	0,6±0,2
Стрекобильин, мг/г	0,2±0,1	–	0,2±0,1	–	0,9±0,2	–	1,8±0,2	–	2,8±0,4	–	2,9±0,5	–	3,3±0,4	–	2,8±0,3	–	1,7±0,3	–	1,1±0,3	–	2,7±0,6	–
Сахароза, мг/г	0,4±0,2	–	0,2±0,1	–	0,3±0,1	–	1,9±0,5	–	2,8±0,1	–	2,6±0,1	–	2,9±0,8	–	1,9±0,4	–	1,3±0,7	–	0,8±0,2	–	2,5±0,2	–
Лецитин, мг	87,0±0,2	186,0±0,8	51,0±0,2	179,0±0,1	31,0±0,2	177,0±0,1	80,4±0,4	163,0±0,4	94,0±0,3	160,0±0,2	98,0±0,2	162,0±0,2	104,0±0,7	176,0±0,1	95,2±0,6	156,4±0,9	92,0±0,1	139,0±0,9	91,2±0,3	126,1±0,9	145,3±0,2	188,4±0,1
Гликоген, мг	74,0±0,1	190,0±0,4	56,0±0,1	107,0±0,4	45,2±0,7	138,0±0,6	68,3±0,5	127,0±0,2	68,6±0,3	130,0±0,6	69,2±0,4	135,1±0,4	72,0±0,2	141,2±0,7	69,4±0,1	130,0±0,2	64,3±0,2	127,0±0,2	61,5±0,2	115,3±0,4	96,7±0,8	166,1±0,9
Липиды, %	29,2±0,5	37,2±0,4	03,1±0,2	10,2±0,1	7,3±0,1	18,4±0,1	6,1±0,6	19,3±0,4	8,4±0,7	20,2±0,1	10,1±0,5	22,4±0,6	11,8±0,2	26,4±0,2	07,4±0,1	09,0±0,2	06,3±0,1	9,2±0,3	06,5±0,3	8,3±0,3	20,1±0,3	44,2±0,3
Холестерин, мг	86,3±0,1	134,2±0,1	75,0±0,4	142,1±0,3	95,2±0,1	164,3±0,4	95,4±0,2	101,2±0,7	96,0±0,5	102,1±0,5	99,1±0,2	109,7±0,4	101,0±0,2	111,4±0,3	96,6±0,4	103,1±0,4	90,0±0,4	100,4±0,4	87,4±0,6	97,8±0,1	136,2±0,2	189,4±0,6
Na <sup>+</sup> , ммоль/л	128,0±0,1	206,0±0,2	149,0±0,6	258,0±0,1	106,2±0,3	222,5±0,1	104,0±0,2	176,0±0,2	109,0±0,3	180,1±0,3	110,0±0,1	184,5±0,2	114,0±0,3	187,4±0,1	108,1±0,5	164,7±0,9	101,2±0,2	156,0±0,9	100,9±0,2	139,7±0,9	149,2±0,3	209,7±0,2
K <sup>+</sup> , ммоль/л	8,1±0,3	16,4±0,5	12,7±0,3	24,1±0,2	11,6±0,5	24,1±0,4	18,2±0,5	26,2±0,1	17,0±0,6	29,6±0,2	19,2±0,1	31,7±0,2	19,7±0,7	34,7±0,6	14,1±0,6	16,4±0,2	12,0±0,6	15,7±0,1	10,1±0,6	16,4±0,2	34,6±0,2	89,7±0,3
Cl <sup>-</sup> , ммоль/л	73,1±0,5	159,0±0,2	97,0±0,1	200,0±0,4	74,1±0,8	148,0±0,4	86,0±0,4	166,5±0,2	89,0±0,2	171,2±0,3	92,0±0,6	180,2±0,2	94,0±0,5	188,4±0,6	87,7±0,5	169,7±0,5	83,5±0,5	155,9±0,2	83,0±0,1	142,8±0,4	138,2±0,2	190,3±0,8

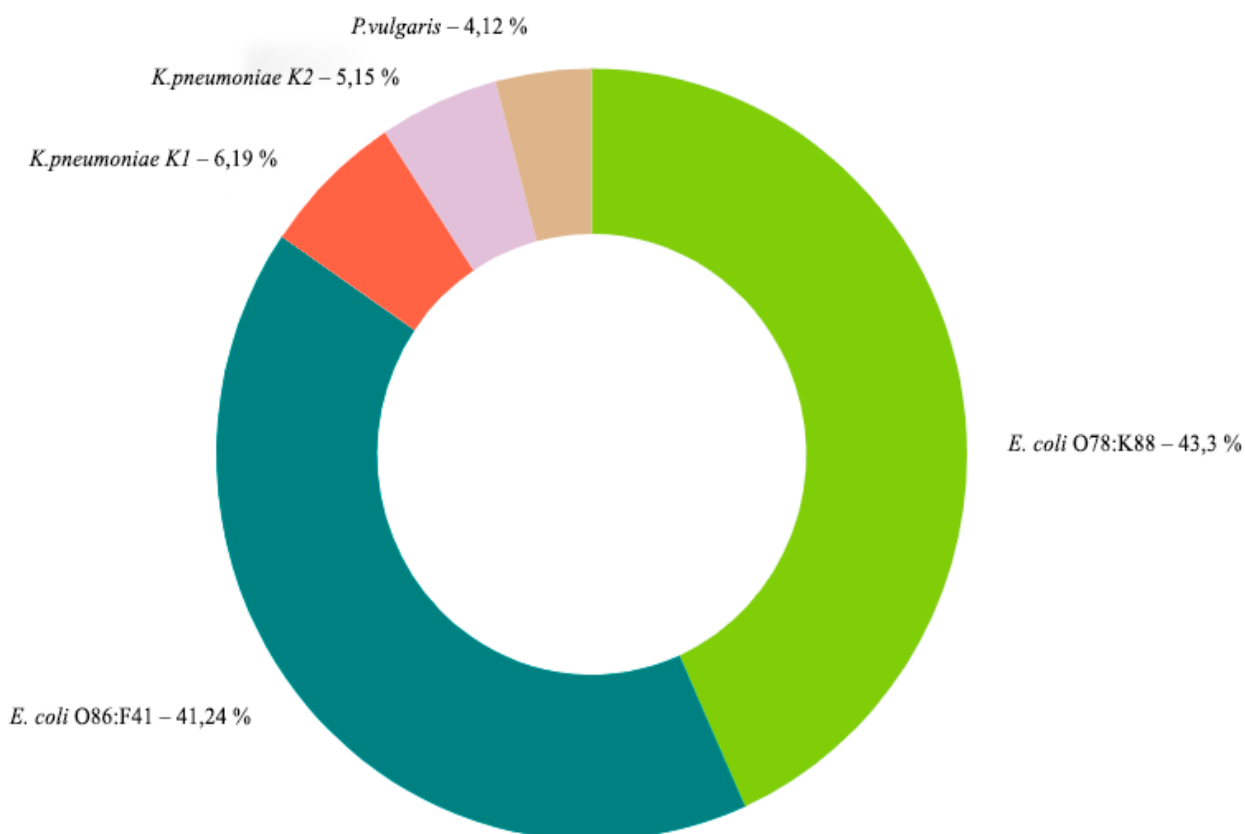
*Примечание:* I – болезни органов пищеварения, n=3; II – клинически здоровые животные, n=3;   – увеличение показателя;   – снижение показателя; p ≤ 0,05

Значительные изменения уровня глюкозы, концентрации общего белка обусловило инфильтрацию и некроз гепатоцитов и панкреацитов, развитие нефротоксического синдрома. Снижение уровня гемоглобина, гематокрита наблюдали при нарушении целостности эпителиального слоя и кариорексиса альвеолоцитов легких. Увеличение количества D-димеров фибриногена сопровождалось развитием дистрофии и некрозом миокардиоцитов, отмечали диапедез эритроцитов, отторжение эндотелиальных клеток в просвет сосудов. Увеличение концентрации мочевины и креатинина обуславливали некроз эпителия канальцев нефрона, капсулы клубочков заполнены лейкоцитами, что приводило к развитию синдрома острой почечной недостаточности. Нарушение липидного обмена, снижение концентрации холестерина, триглицеридов, калия, натрия и магния характеризовали общий уровень физиологического стресса.

При развитии синдрома желудочно-кишечных болезней из общего числа идентифицированных культур микроорганизмов 78,9 % составили бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, в том числе *E. coli* O78:K88, O86:F41, O33:F41, O78:K99, O2:K99, O9:A20, O86:A20, O26:A20, O111:A20, O2:A20, O20:K99, O26:F41, O119:A20 – 69,3 %; *K. pneumoniae* K1, K2 – 24,5 %; *K. oxytoca* – 18,5 %; *P. vulgaris* – 7,9 %; *E. cloacae* – 3,3 %.

#### **2.2.5. Результаты исследований чувствительности энтеробактерий к антибактериальным препаратам**

Для изучения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам учитывали диаметр зон задержки роста бактерий: «чувствительные» – зоны задержки роста, мм –  $\geq 22,0$ ; «умеренно резистентные» – 18,0 – 22,0; «резистентные» –  $\leq 18,0$ . Анализ чувствительности к антибактериальным препаратам диско-диффузионным методом был проведён для 63 изолятов энтеробактерий, выделенных при болезнях органов пищеварения ягнят. На рисунке 27 представлена общая структура данных по видам исследуемых микроорганизмов.



**Рис. 27. Видовая структура исследуемых энтеробактерий**

Распределение устойчивости культур микроорганизмов к исследуемым антибактериальным препаратам было представлено следующим образом: 36,08–39,0 % культур микроорганизмов проявляли резистентность к группе аминогликозидов (канамицин, гентамицин, тобрамицин, нетилмицин); 20,1 – 23,2 % – к антибиотикам группы фениколы (флорфеникол); 45,0 – 50,52 % – к антибиотикам группы тетрациклины (доксциклин, тетрациклин); 31,0 – 47,42 % – к антибиотикам группы диаминоперемидины (триметоприм); 52,58 – 55,67 % – к антибиотикам группы хинолонов (энрофлоксацин, цiproфлоксацин); 83,24 – 84,54 % – к антибиотикам группы сульфаниламиды (сульфаметаксазол, сульфадиазин); 34,54 – 81,4 % – к антибиотикам группы природных и полусинтетических пенициллинов (ампицилин, оксациллин, карбенциллин); 25,26 – 51,55 % – к антибиотикам группы цефалоспоринов (цефподоксим, цефтазидим, азтреонам, цефотаксим, цефтриаксон) (табл. 21, 22).

**Результаты изучения чувствительности энтеробактерий  
к антибактериальным препаратам**

Антибиотики	Зоны задержки роста микроорганизмов, мм (M±m)									
	<i>E.coli</i> O2 (n=29)		<i>E.coli</i> O33:K88 (n=18)		<i>K.pneumonia</i> K1 (n=10)		<i>K.pneumonia</i> K2 (n=22)		<i>P.vulgaris</i> (n=15)	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
<b>β-лактамы</b>										
Ампициллин	13,0±0,2	р	24,0±0,4	ч	19,0±0,4	у/р	20,0±0,4	ч	18,0±0,3	у/р
Цефтазидим	29,0±0,4	ч	28,0±0,2	ч	29,0±0,2	ч	21,0±0,3	ч	27,0±0,1	ч
Имипенем	28,0±0,4	ч	27,0±0,1	ч	28,0±0,5	ч	23,0±0,2	ч	25,0±0,6	ч
Меропенем	35,0±0,1	ч	33,0±0,2	ч	31,0±0,1	ч	22,0±0,4	ч	8,0±0,2	р
<b>Аминогликозиды</b>										
Канамицин	19,0±0,2	у/р	20,0±0,2	у/р	19,0±0,2	у/р	22,0±0,2	ч	14,0±0,2	р
Гентамицин	25,0±0,1	ч	23,0±0,1	ч	21,0±0,2	у/р	25,0±0,5	ч	23,0±0,4	ч
Тобрамицин	23,0±0,4	ч	22,0±0,3	ч	20,0±0,2	у/р	27,0±0,3	ч	25,0±0,3	ч
Нетилмицин	21,0±0,6	у/р	24,0±0,2	ч	24,0±0,2	ч	26,0±0,1	ч	23,0±0,5	ч
<b>Хинолоны</b>										
Офлоксацин	25,0±0,3	ч	23,0±0,1	ч	20,0±0,1	у/р	25,0±0,2	ч	23,0±0,4	ч
Норфлоксацин	21,0±0,2	у/р	24,0±0,2	ч	23,0±0,6	ч	28,0±0,1	ч	24,0±0,2	ч
Левифлоксацин	10,0±0,4	р	26,0±0,4	ч	19,0±0,2	у/р	26,0±0,4	ч	18,0±0,7	у/р
Гатифлоксацин	29,0±0,5	ч	28,0±0,5	ч	28,0±0,1	ч	25,0±0,2	ч	27,0±0,2	ч
<b>Тетрациклины</b>										
Тетрациклин	19,0±0,6	у/р	26,0±0,4	ч	19,0±0,4	у/р	18,0±0,3	у/р	7,0±0,5	р
Доксициклин	5,0±0,2	р	8,0±0,3	р	9,0±0,2	р	7,0±0,1	р	11,0±0,2	у/р
<b>Другие препараты</b>										
Флорфеникол	27,0±0,3	ч	26,0±0,1	ч	20,0±0,3	у/р	23,0±0,5	ч	29,0±0,1	ч
Ко-тримоксазол	20,0±0,1	у/р	23,0±0,2	ч	24,0±0,2	ч	22,0±0,1	ч	24,0±0,5	ч
Нитрофурантоин	21,0±0,4	у/р	25,0±0,6	ч	19,0±0,4	у/р	6,0±0,4	р	7,0±0,6	р
<i>Примечание: I – зона задержки роста микроорганизмов (M±m), мм; II – р – резистентные; у/р – умеренно резистентные; ч – чувствительные. p≤0,05</i>										

**Результаты интерпретации чувствительности энтеробактерий к  
антибактериальным препаратам в процентном соотношении**

Антибиотики	Чувствительность энтеробактерий									
	<i>E.coli</i> O2 (n=29)		<i>E.coli</i> O33:K88 (n=18)		<i>K.pneumonia</i> K1 (n=10)		<i>K.pneumonia</i> K2 (n=22)		<i>P.vulgaris</i> (n=15)	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
<b><i>β</i>-лактамы</b>										
Ампициллин	-	66,6	-	96,4	-	85,7	-	87,5	42,8	-
Цефтазидим	66,6	-	57,1	-	71,4	-	37,5	-	-	89,2
Имипенем	-	33,3	-	42,8	-	14,2	87,5	-	96,4	-
Меропенем	66,6	-	57,1	-	71,4	-	37,5	-	42,8	-
<b>Аминогликозиды</b>										
Канамицин	-	66,6	-	89,2	-	100,0	-	87,5	-	42,8
Гентамицин	-	66,6	-	89,2	-	100,0	75,0	-	-	89,2
Тобрамицин	-	33,3	-	96,4	-	85,7	-	87,5	-	96,4
Нетилмицин	-	33,3	-	78,5	-	85,7	-	75,0	-	33,3
<b>Хинолоны</b>										
Офлоксацин	66,6	-	75,0	-	71,4	-	87,5	-	-	66,6
Норфлоксацин	66,6	-	96,4	-	71,4	-	87,5	-	-	66,6
Левифлоксацин	66,6	-	75,0	-	71,4	-	87,5	-	-	33,3
Гатифлоксацин	-	33,3	-	42,8	-	42,8	-	-	-	45,6
<b>Тетрациклины</b>										
Тетрациклин	-	33,3	-	42,8	-	42,8	37,5	-	-	33,3
Доксициклин	-	66,6	-	42,8	-	85,7	-	87,5	-	66,6
<b>Другие препараты</b>										
Флорфеникол	-	66,6	-	89,2	-	100,0	-	75,0	-	37,5
Ко-тримоксазол	-	33,3	-	75,0	-	85,7	-	75,0	-	14,2
Нитрофурантоин	66,6	-	57,1	-	71,4	-	37,5	-	-	89,2

*Примечание:* I – % резистентных бактерий; II – % чувствительных бактерий;  $p \leq 0,05$

Необходимость дополнительной детекции штаммов микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae*, вырабатывающих  $\beta$ -лактамазы расширенного спектра обусловлена способностью штаммов-продуцентов при применении существующих критериев проявлять чувствительность к большинству антибактериальных препаратов.

Для детекции  $\beta$ -лактамаз расширенного спектра применяли набор, включающий пять цефалоспоринов III поколения: цефподоксим, цефтазидим, азтреонам, цефотаксим и цефтриаксон (табл. 23).

**Результаты изучения штаммов, продуцирующих  
 $\beta$ -лактамазы расширенного спектра**

Антибиотики	Культуры микроорганизмов					
	<i>E.coli</i> (n=38)			<i>K.pneumonia</i> (n=22)		
	I	II	III	I	II	III
Цефподоксим	8,0±0,2	10,3±0,3	66,6	19,0±0,2	8,9±0,5	-
Цефтазидим	25,0±0,3	3,2±0,2	-	14,0±0,1	4,4±0,1	96,4
Азтреонам	21,0±0,2	6,1±0,1	33,3	17,0±0,2	3,7±0,2	42,8
Цефотаксим	29,0±0,2	1,5±0,5	-	21,0±0,5	1,8±0,6	-
Цефтриаксон	25,0±0,3	1,1±0,7	12,4	10,0±0,7	1,2±0,2	-

*Примечание:* I – зона задержки роста микроорганизмов ( $M\pm m$ ), мм; II – минимальная подавляющая концентрация, мг/л; III – % микроорганизмов, продуцирующих БЛРС;  $p\leq 0,05$

Исследование чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам методом серийных разведений выявило, что энтеробактерии были чувствительными к препаратам группы  $\beta$ -лактамы, аминогликозиды, хинолоны, левомецетины и тетрациклины. Для проведения исследования использовали стерильные 96-луночные планшеты («Corning», USA), к основному раствору антибиотика исходной концентрации добавляли 100,0 мкл исследуемой бактериальной суспензии, содержащей  $10^5$ — $10^6$  КОЕ/мл, трехкратно перемешивали, затем делали серийные разведения путём последовательно переноса 100,0 мкл суспензии в каждую последующую лунку, содержащую предварительно внесенную бактериальную суспензию объемом 100,0 мкл.

Показатель «Минимальная ингибирующая концентрация» («МИК») учитывали при визуальной оценке содержимого лунок планшета через предметный столик, оборудованный подсвечивающим элементом. Параллельный контроль проводили путём посева каплями суспензии микроорганизмов из соответствующих лунок на поверхность агара Мюллера-Хинтона. В одну чашку Петри наносили до 6 капель различных десятичных разведений антибиотика (рис. 28).

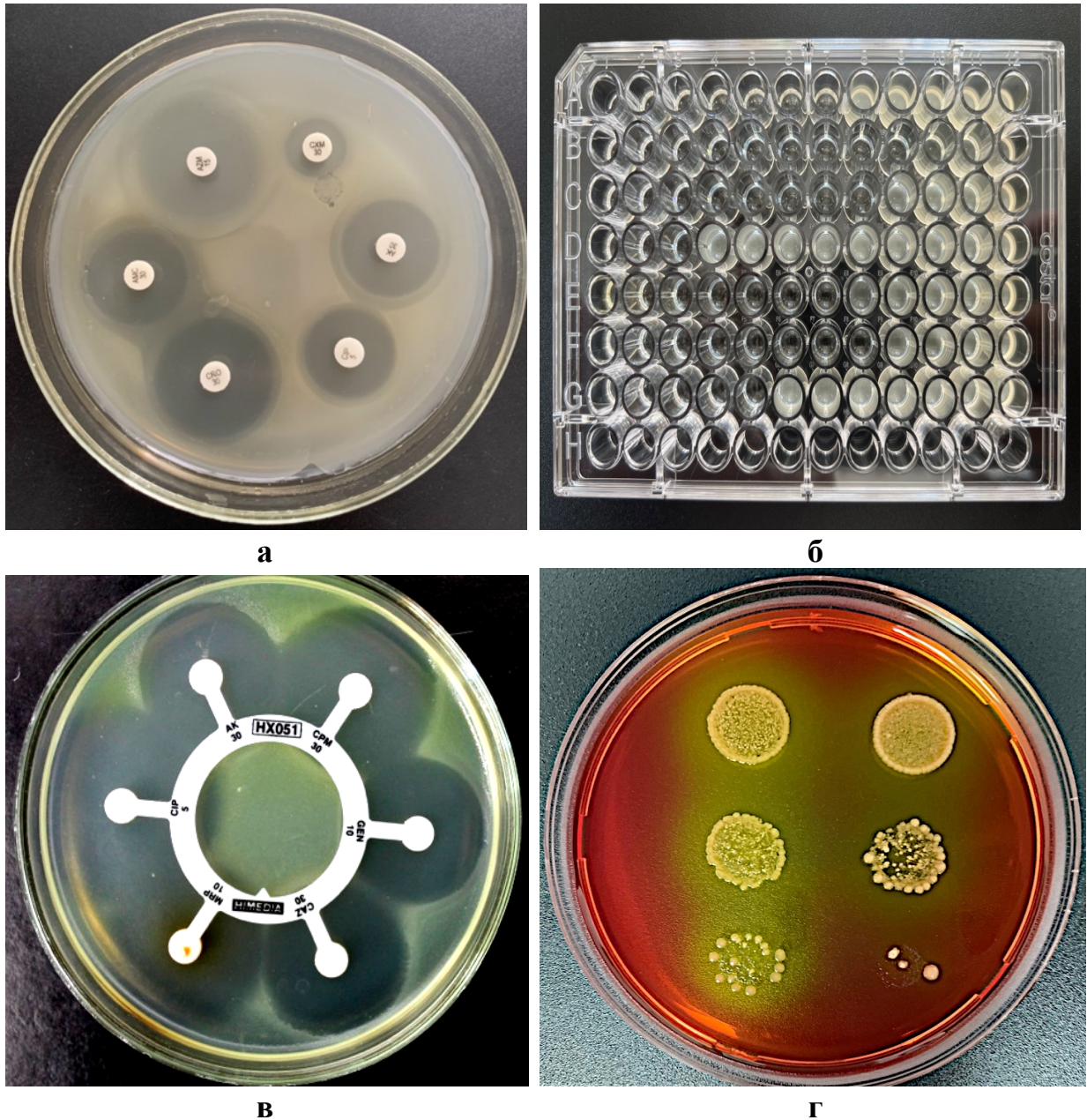


Рис. 28. Результаты изучения чувствительности энтеробактерий к антибиотикам методом диффузии в агар: а – диски; б – серийные разведения, МПБ; в – тест-система «HexaDisc»; г – серийные разведения, 0,85 % NaCl

При учете показателя «Минимальная ингибирующая концентрация» («МИК») интерпретацию результатов проводили в соответствии с критериями микробиологической и клинической устойчивости «European Comittee of Antimicrobial Susceptibility Testing: Epidemiological cut-off value, EUCAST ECOFFs режим доступа: [https://www.eucast.org/mic\\_and\\_zone\\_distributions\\_and\\_ecoffs;](https://www.eucast.org/mic_and_zone_distributions_and_ecoffs;) Clinical breakpoints – bacteria (v 12.0, 2022) режим доступа: [https://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints,](https://www.eucast.org/clinical_breakpoints) учитывая Рекомендации

Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии, МАКМАХ «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам», 2021 (табл. 24).

Таблица 24

### Критерии интерпретации результатов исследований МИК

Антибиотик	Критерии интерпретации значений МИК, мкг/мл				Резистентные изоляты, %
	Контрольный диапазон концентраций <sup>1</sup>	Микробиологическая устойчивость <sup>2</sup>	Клиническая устойчивость <sup>3</sup>	Рабочие концентрации	
<b><i>E. coli</i> (n=46)</b>					
Ципрофлоксацин	0,004–0,016	S≤0,06; R>0,06	S≤0,25; R>0,5	0,001–2,0	55,67
Цефотаксим	0,03–0,125	S≤0,25; R>0,25	S≤1,0; R>2,0	0,001–8,0	51,55
Колистин	0,25–2,0	S≤2,0; R>2,0	S≤2,0; R>2,0	0,06–8,0	-
Хлорамфеникол	2,0–8,0	S≤16,0; R>16,0	S≤8,0; R>8,0	0,5–64,0	23,20
Ампициллин	2,0–8,0	S≤8,0; R>8,0	S≤8,0; R>8,0	0,5–64,0	-
Тетрациклин	0,5–16,0	S≤8,0; R>8,0	-	0,125–32,0	50,52
Триметоприм/СМЗ <sup>4</sup>	≤0,5	S≤0,5; R>0,5	S≤2,0; R>4,0	0,125/2,4–8/152	84,54
Гентамицин	0,25–1,0	S≤2,0; R>2,0	S≤2,0; R>2,0	0,06–32	36,08
Меропенем	0,008–0,06	S≤0,06; R>0,06	S≤2,0; R>8,0	0,002–8,0	-
<b><i>S. enteritidis</i> (n=23)</b>					
Ципрофлоксацин	0,004–0,016	S≤0,125; R>0,125	S≤0,06; R>0,06	0,001–2,0	61,0
Цефотаксим	0,03–0,125	S≤0,5; R>0,5	S≤1,0; R>2,0	0,001–8,0	31,0
Колистин	0,25–2,0	S≤16,0; R>16,0	S≤2,0; R>2,0	0,06–8,0	-
Хлорамфеникол	2,0–8,0	S≤16,0; R>16,0	S≤8,0; R>8,0	0,5–64,0	-
Ампициллин	2,0–8,0	S≤4,0; R>4,0	S≤8,0; R>8,0	0,5–64,0	-
Гентамицин	0,25–1,0	S≤2,0; R>2,0	S≤2,0; R>2,0	0,06–32	39,0
Меропенем	0,008–0,06	-	S≤2,0; R>8,0	0,002–8,0	-
<b>Примечание:</b> «S», sensitive – чувствительный; «R», resistance – резистентный; <sup>1</sup> Рекомендации МАКМАХ, <sup>2</sup> EUCAST ECOFF's, <sup>3</sup> EUCAST Clinical breakpoints – bacteria, <sup>4</sup> Сульфаметоксазол; p≤0,05					

При изучении чувствительности микроорганизмов методом серийных разведений, бактерии *E. coli* были резистентными к группе аминогликозиды – 36,08 %; хлорамфениколы – 23,2 %; цефалоспорины – 51,55 %; пенициллины – 34,54 %;  $\beta$ -лактамамы – 34,54 %; тетрациклины – 50,52 %; диаминоперемидины – 47,42 %; фторхинолоны – 55,67 %; сульфаниламиды – 84,54 %.

Бактерии *S. enteritidis* проявляли устойчивость к группе аминогликозиды – 39,0 %; цефалоспорины – 31,0 %; тетрациклины – 45,0 %; диаминоперемидины – 31,0 %; фторхинолоны – 61,0 %.

При сравнительной оценке результатов определения антибиотикорезистентности микроорганизмов с последующим построением гистограммы, выявляющей уровень резистентности изучаемых микроорганизмов установлена прямая коррелятивная зависимость ( $r=0,83$ ) между показателями диаметра зон задержек роста –  $07,0\pm0,1$ – $33,0\pm0,2$  мм и показателями резистентности, 60,1–78,0 % (рис. 29).

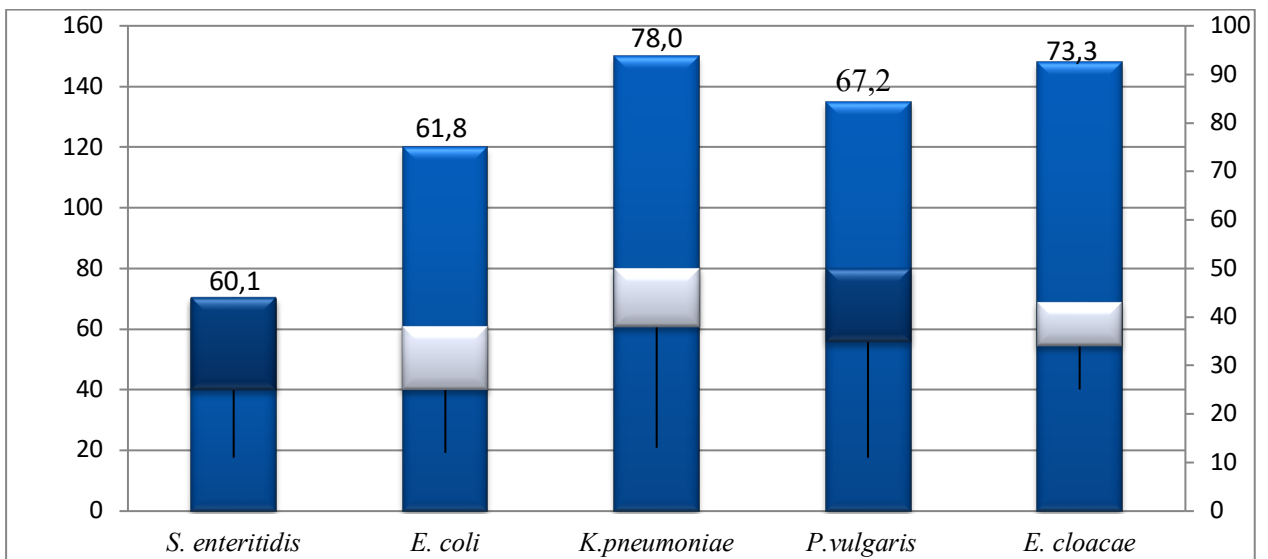


Рис. 29. Профили антибиотикорезистентности энтеробактерий – диаметры зон задержек роста, мм; резистентность, %

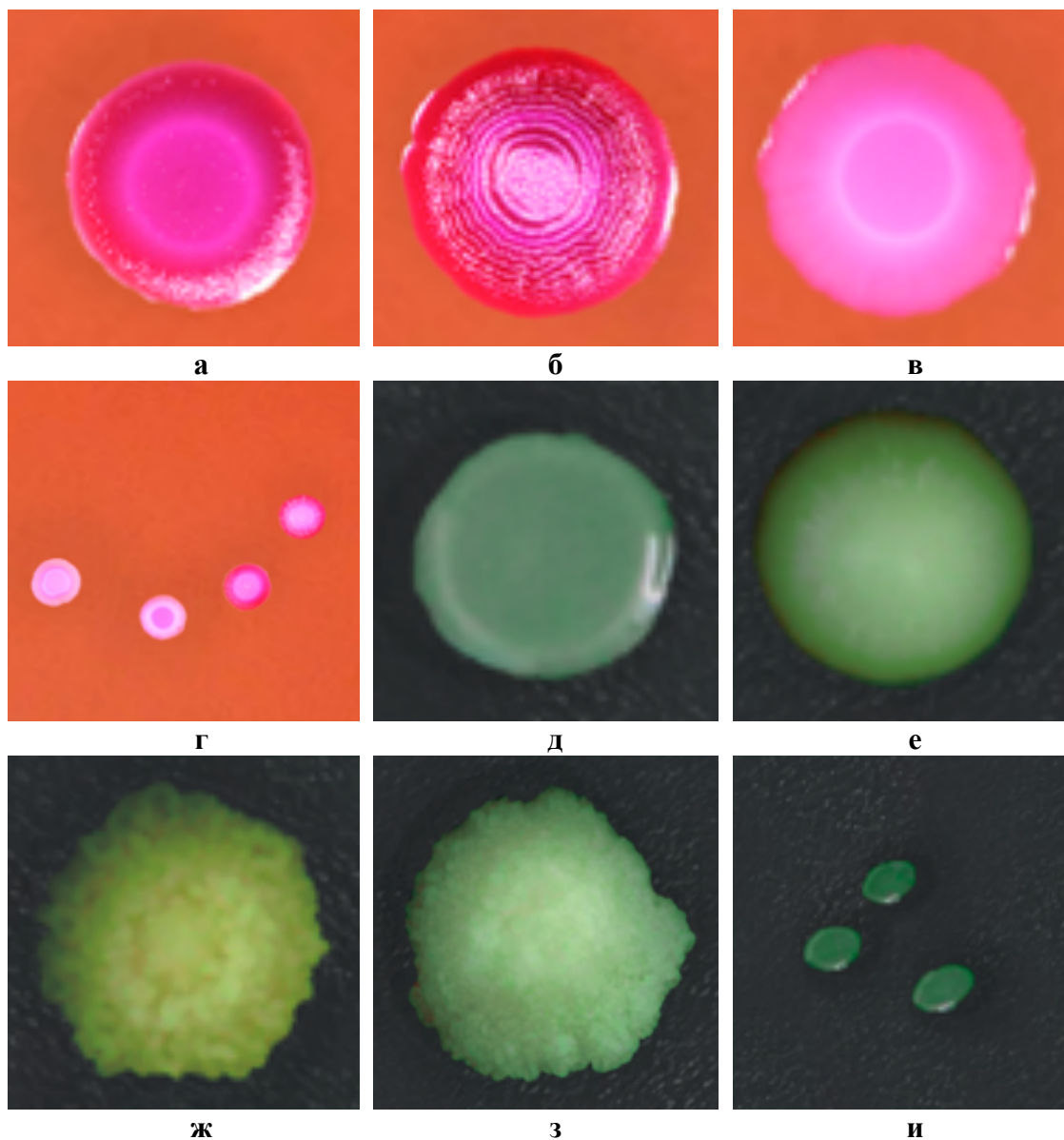
При воздействии различных концентраций изученных препаратов частота встречаемости кластеров – агрегации микроорганизмов, объединенных тонким слоем межклеточного матрикса, достоверно снижалась. Результаты изучения оптической плотности культур микроорганизмов представлены в таблице 25.

**Результаты изучения оптической плотности бактерий *E.coli* при  
воздействии антибактериальных препаратов**

Концентрация, мкг	Оптическая плотность (OD)				$t_d$
	OD <sub>c</sub>	OD <sub>s</sub>	$\Delta$ (OD <sub>s</sub> -OD <sub>c</sub> )	IOD	
<b>«Триметоприм»</b>					
<b>64</b>	0,096±0,02	0,335±0,01	0,239±0,03	IOD ≥ 0,2–0,3	4,6
<b>32</b>	0,098±0,09	0,194±0,05	0,201±0,14	IOD ≥ 0,2–0,3	4,1
<b>16</b>	0,099±0,08	0,371±0,09	0,272±0,17	IOD ≥ 0,2–0,3	4,2
<b>8</b>	0,096±0,02	0,335±0,01	0,239±0,03	IOD ≥ 0,2–0,3	4,6
<b>«Сульфаметаксазол»</b>					
<b>512</b>	0,099±0,05	0,281±0,09	0,182±0,14	IOD ≥ 0,1–0,2	4,8
<b>256</b>	0,098±0,03	0,204±0,12	0,106±0,15	IOD ≥ 0,1–0,2	4,4
<b>128</b>	0,096±0,03	0,383±0,10	0,287±0,13	IOD ≥ 0,2–0,3	4,3
<b>64</b>	0,099±0,05	0,281±0,09	0,182±0,14	IOD ≥ 0,1–0,2	4,8
<i>Примечание: OD<sub>c</sub> – OD контроль; OD<sub>s</sub> – OD исследуемый образец; IOD – интенсивность: разность OD исследуемого образца (OD<sub>s</sub>) и контроля (OD<sub>c</sub>); t<sub>d</sub> – коэффициент достоверности; p≤0,05</i>					

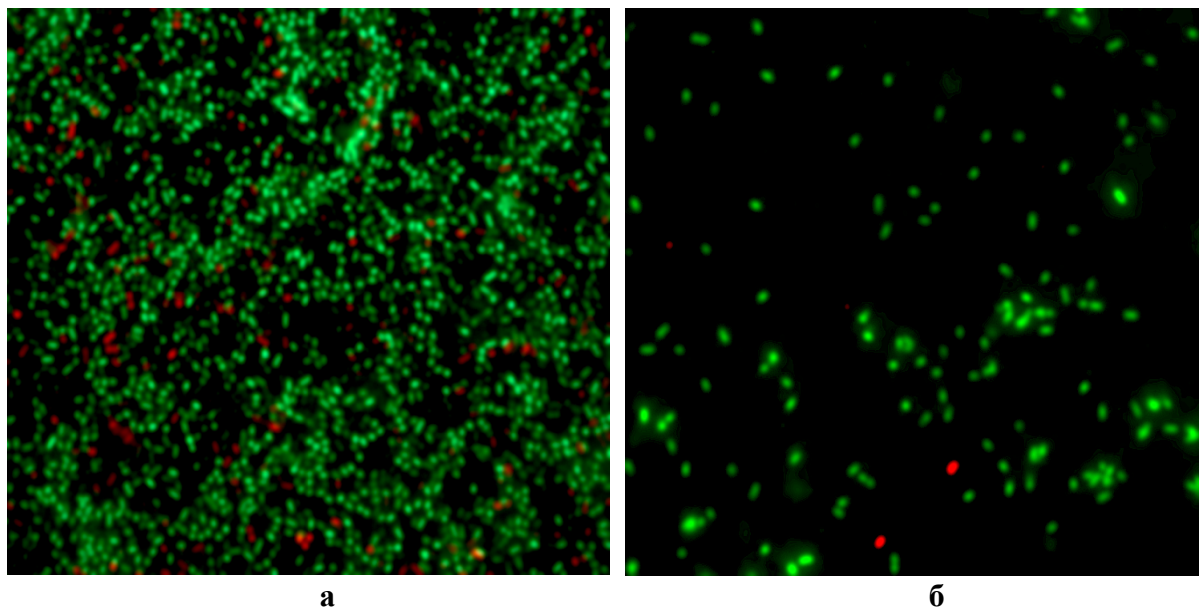
Бактерицидный эффект к химиотерапевтическим препаратам наблюдался при концентрациях в 2-3 раза превышавших бактериостатический. При учёте количества микроорганизмов (КОЕ/мл), сохранивших способность к формированию биоплёнок после воздействия препаратов наблюдалось возрастание числа диссоциированных колоний, составлявших от 1,6 до 87,9 % КОЕ.

Наряду с колониями S-формы (*Smooth* – гладкие), d=2,0 – 5,0 мм были выявлены R-формы (*Rought* – шероховатые), d≥3,0 мм; M-формы (*Mucose* – слизистые), d=1,5 – 3,0 мм; C-формы (*Crepe* – складчатые) d=5,5–6,5 мм; D-формы (*Dwarf* – карликовые), d=0,2 – 0,5 мм, интенсивность формирования биоплёнок (ID): S-формы – ID=0,203±0,04–0,216±0,12, R-формы – ID=0,107±0,02–0,121±0,11. При бактериостатическом воздействии изученных препаратов на биопленки микроорганизмов в концентрации 1:100 и экспозиции 24 часа было установлено, что часть клеток является нежизнеспособной, в отдельных фрагментах биопленки выявлялись скопления измененных клеток, сферопластного типа, способных к формированию стабильных и нестабильных L-форм (рис. 30).



**Рис. 30.** Морфология колоний *K.pneumoniae* при стереоскопической микроскопии: а – S-формы,  $d=1,5-5,0$  мм; б – R-формы,  $d=3,0-6,5$  мм; в – M-формы,  $d=1,5-3,0$  мм; г – D-формы,  $d=0,3-0,5$  мм.  $37^{\circ}$  C, 72 ч, «Эндо»; Морфология колоний *C. albicans* при стереоскопической микроскопии: д – S-формы,  $d=2,5-5,0$  мм; е – M-формы,  $d=3,0-5,7$  мм; ж – S-формы,  $d=5,5-6,5$  мм; з – R-формы,  $d=6,0-7,0$  мм; и – D-формы,  $d=1,2-2,2$  мм,  $37^{\circ}$  C, 144 ч, «HiCrome Candida Agar»

За счет взаимодействия с полисахаридами клеточной стенки – маркеры биоплёнок и флуоресцентных красителей в составе биопленок дифференцировали: зеленый спектр флуоресценции (495–515 нм) – метаболически активные клетки – жизнеспособные формы; красный спектр флуоресценции (620–650 нм) – нежизнеспособные клетки; оранжевый спектр флуоресценции (516–619 нм) – покоящиеся формы клеток (рис. 31).



**Рис. 31.** Интенсивность формирования биопленок микроорганизмов *K.pneumoniae* при воздействии препарата «Триметоприм», 1024 мкг: а – 37 °С, 24 ч; б – 37 °С, 48 ч. Спектр флюоресценции: жизнеспособные клетки – зеленый цвет; нежизнеспособные клетки – красный; персистирующие клетки – оранжевый, «Live/Dead». Ок. 10, об. 100, 200, иммерсия

За счёт формирования различных диссоциативных вариантов, получающих преимущество при формировании архитектоники биоплёнок, динамика изменений жизнеспособных структур характеризовалась сменой периодов интенсивности роста микроорганизмов. Использование флуоресцентного красителя «Live/Dead» позволяет дифференцировать физиологическую пластичность популяции микроорганизмов.

### 2.2.6. Обсуждение результатов исследований

В общей структуре патологии животных раннего постнатального периода существенное место занимают болезни органов пищеварения бактериальной этиологии. Воздействие возбудителей, наряду с бесконтрольным использованием химиотерапевтических средств, сопровождается снижением колонизационной резистентности слизистой оболочки полостных органов и уменьшением облигатной микрофлоры. Что обуславливает колонизацию свободной экологической ниши факультативно-анаэробными бактериями, в том числе патогенными и потенциально-патогенными энтеробактериями (Панин А.Н. и соавт., 1996, 2006; Субботин В.В., 1999; Сидоров М.А., 1994,

1999, 2000; Воробьев А.А., 1999; Пирожков М.К., 2016; Джавадов Э.Д., Новикова О.Б., 2016; Светоч Э.А., 2017; Ленченко Е.М., 2017; Пименов Н.В., 2019; Шкиль Н.Н. и соавт., 2019; Макаров В.В., 2021; Сидорчук А.А. и соавт., 2021).

В условиях промышленного овцеводства, как правило, регистрируют низкий иммунный статус животных и, соответственно, восприимчивость к заболеваниям, в том числе бактериальной этиологии. Расстройства системы органов пищеварения животных 14-ти суточного возраста характеризовалось достоверным снижением количества лейкоцитов  $7,32 \pm 0,30 - 6,99 \pm 0,20$   $10^9$ /л, резервной щелочности сыворотки крови на 5,79 об.%  $CO_2$ , фагоцитарной активности клеток крови на 12,16 %, бактерицидной активности сыворотки крови на 6,05 усл.%, а так же угнетение образования печеночных белков на 8,40 г/л, что свидетельствовало об угнетении гуморальных факторов естественной резистентности организма больных животных (Ковалёв С.П., Киселенко П.С., 2019). В этой связи одной из актуальных проблем промышленного овцеводства является разработка средств, методов и технологий, обеспечивающих высокую резистентность животных и, соответственно, устойчивость к болезням, в том числе инфекционной природы. Из числа маркеров стабильности гомеостаза иммунологические показатели наиболее полно отражают механизмы инициации, развития и исхода инфекционного процесса, опосредованных взаимодействием адгезивными молекулами многоклеточных эукариот и адгезинами возбудителей инфекционных болезней (Ленченко Е.М., 1996). Процесс презентации антигена играет центральную роль в процессе иммунных реакций позвоночных животных, в том числе и рыб (Mei L.. et al., 2021).

Решающую роль в предотвращении возникновения вспышек инфекционных болезней играют иммуноглобулины, от концентрации которых в сыворотке крови зависят показатели заболеваемости и смертности животных на этапах раннего постнатального онтогенеза. Разработаны методологические основы оценки показателей гиперчувствительности замедленного типа и

исследования иммуноглобулинов, системы компонентов комплемента, лизоцима, С-реактивных белков, интерферона, лизинов, гемолизинов, гемагглютининов (Ленченко Е.М., 2014). Из числа иммунологических методов, наряду с гематологическими и биохимическими показателями, тесты определения лизосомального катионного белка, индуцированного фагоцитоза, динамики активизации нейтрофилов рекомендуются применять для селекционного отбора популяции повышенной неспецифической резистентности и высоким потенциалом продуктивности (Иванов А. А. и соавт., 2011).

К настоящему времени достаточно подробно изучено влияние патогенных бактерий на фагоцитарную активность клеток крови. (Yin W. et al., 2019). Известно, что при стимуляции антигеном главный ответ фагоцитов осуществляется через активацию НАДФ Н-оксидаз, трансмембранный перенос электронов и восстановление кислорода до супероксиданиона, возрастание количества перекисей водорода для осуществления функции фагоцитов. Фагоцитарную активность нейтрофилов и макрофагов снижают токсины бактерий. Установлена отрицательная корреляционная зависимость при увеличении популяционного числа энтеробактерий и лактозо-негативных микроорганизмов микробиоценозов кишечника ягнят и показателей спонтанного НСТ-теста, индуцированного НСТ-теста, индекса стимуляции нейтрофилов и концентрации С-реактивного белка.

Основные этапы развития дисбактериоза на ранних этапах постэмбрионального развития обуславливаются динамическим изменением рН среды и включают в себя снижение численности облигатных анаэробов на 20,0–25,0 %; колонизация слизистой оболочки тонкого кишечника микроскопическими грибами; доминирование аэробной микрофлоры, замещение бактерий группы кишечной палочки кокковидной и гемолитической микрофлорой; полное нарушение микробиоценозов кишечника и развитие энтерита микозной этиологии (Яшин А.В. и соавт., 2019).

Из общего числа инфекционных болезней бактериальной этиологии, вызываемых патогенными энтеробактериями, в ветеринарной практике регистрируют сальмонеллез и эшерихиоз. Установлено, что при нарушении баланса эволюционно-сложившихся микробиоценозов слизистой оболочки органов пищеварения в качестве этиологического фактора могут выступать и другие энтеробактерии: *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, *Morganella spp.*, *Providencia spp.*, *Yersinia spp.*, что сопровождается сочетанным течением инфекционного процесса, обуславливая длительность дифференциальной диагностики (Каврук Л.С., 1994, Ленченко Е.М., 2017; Плешакова В.И. и соавт., 2020; Карташова О.Л., 2020; Sushma V. et al., 2018; Ball T. et al., 2020). При моделировании инфекционного процесса, обусловленного *Salmonella Dublin* отмечали катаральный энтерит, сопровождающийся некрозом апикальных частей энтероцитов ворсинок подвздошного отдела тонкого кишечника животных; отек, макрофагальная и лимфоцитарная инфильтрация собственной пластинки слизистой оболочки органа; лимфаденит регионарных лимфатических узлов, наличие микроорганизмов в субкапсулярной, фолликулярной и синусоидальной зоне, формирование гранулём (Laureano F. et al., 2012).

Гранулемы были образованы 20 – 100 гомогенными макрофагами и небольшим количеством лимфоцитов интерфолликулярной области, наблюдали гранулематозный лимфангит серозной оболочки илеоцекального клапана (Delgado L. et al., 2013). Гистохимические исследования при гипресекреции муцина высота микроворсинок эпителиального слоя слизистой оболочки кишечника увеличены, складки слизистой оболочки были более глубокими и сглаженными (Meng X. et al., 2021). Увеличение количества лимфобластов – 31,40 %, проплазматитов – 6990,0 %, пролимфоцитов – 36,80 %, макрофагов – 750,0 % и нейтрофилов – 3110,0 %, снижение числа лимфоцитов – 49,40 %, ретикулярных клеток – 68,50 % средостенного лимфатического узла установлено при остром течении инфекционного процесса (Сулейманов С.М. и соавт., 2017).

При развитии инфекционного процесса через 10 и 15 суток наблюдалось значительное повышение уровней креатинина –  $23,1 \pm 0,3$  и  $25,9 \pm 0,3$  ммоль/л; АЛТ –  $2,7 \pm 0,1$  и  $2,5 \pm 0,4$  Ед/л; АСТ –  $0,17 \pm 0,03$  и  $0,18 \pm 0,02$  Ед/л, соответственно (Sachivkina N. et. al., 2022). Следует отметить, что илеоцекальный клапан, разделяющий биотопы тонкого и толстого отдела кишечника обеспечивает однонаправленного пассаж кишечного содержимого, развитие дисплазии с последующим воспалением и дилатацией клапана обуславливает колонизацию тонкой кишки атипичными микроорганизмами, развитием гнилостных и бродильных процессов, хронической аутоинтоксикации организма. Граница слепой и подвздошной кишок представлена илеоцекальным клапаном, является зоной риска развития патологических процессов (Ленченко Е.М. и соавт., 2017, 2019, 2021; Салимов В.А., 2016; Слесаренко Н.А., 2014). Илеоцекальный клапан обладает сфинктерными и антирефлюксными свойствами, обеспечивает одностороннее поступление химуса из тонкой в толстую кишку, препятствует забросу толстокишечного содержимого в подвздошный отдел тонкого кишечника при давлении в просвете толстой кишки животных 150-170 мм рт.ст. (Савин Д.В., 2011).

Осуществление эпизоотологического мониторинга инфекционных болезней, вызываемых патогенными энтеробактериями, проводят в соответствии «Лабораторная диагностика сальмонеллезов человека и животных, обнаружение сальмонелл в кормах, продуктах питания и объектах внешней среды», 1990, «Методические указания по бактериологической диагностике колибактериоза (эшерихиоза) животных», 2000 и «Методические указания по бактериологической диагностике смешанной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемой патогенными энтеробактериями», 1999.

При проведении анализа первичных данных ветеринарной отчетности (форма №2 Вет) в Забайкальском крае в период с 2016 по 2021 гг. было установлено, что основная доля болезней приходится на болезни органов пищеварения – 26,76–36,75 %, клинически проявляющиеся диареей. При этом

большая часть приходится на молодняк животных в возрасте до 3 месяцев – 12,22–18,49 %. Установлена положительная корреляционная зависимость ( $r=0,96$ ) между показателями распространенности болезней органов размножения овцематок – 6,77–13,84 % и болезнями органов пищеварения ягнят, составляющими 13,09–14,29 %.

У животных с признаками болезней органов пищеварения в микробиоценозах кишечника наблюдалось достоверное ( $p \leq 0,05$ ) увеличение популяционного числа энтеробактерий, а также возрастала доля лактозонегативных микроорганизмов.

Развитие клинических признаков диареи, дегидратации и токсемии характеризовалось достоверным ( $p \leq 0,05$ ) увеличением общего количества микроорганизмов, индекс колонизации –  $0,942 \pm 0,08$  %. Динамика изменений количественного состава микроорганизмов микробиоценозов кишечника больных ягнят характеризовалась снижением популяционного уровня микроорганизмов на средах «*MRS agar*» и «*Bifidum agar*», индекс колонизации –  $0,307 \pm 0,03$  %.

Увеличение количественного состава бактерий наблюдали на дифференциально-диагностических средах: «Эндо», «*Chromocult coliform agar*», «*HiCrome agar*», «*Cetrimide agar*», «*Yolk salt agar*», «*HiCrome Candida agar*», индекс колонизации –  $0,807 \pm 0,08$  %.

На среде Chromocult® Coliform Agar за счет наличия в составе среды додецилсульфата натрия подавлялся рост грамположительных бактерий, наблюдался рост грамотрицательных бактерий: опыт –  $7,15 \pm 0,12$  –  $9,33 \pm 0,26$ ; контроль –  $3,13 \pm 0,12$  –  $7,13 \pm 0,10$ ; индекс колонизации составил 0,831%. При дифференциации микроорганизмов учитывали, что на указанной дифференциально-диагностической среде эшерихии, в связи с наличием ферментов  $\beta$ -галактозидазы и  $\beta$ -глюкуронидазы, расщепляющих одновременно два хромогенных субстрата, формировали фиолетового цвета колонии. Протеи и энтеробактерии, не имеющие указанных ферментов, формировали на среде бесцветные колонии.

Клебсиеллы за счет расщепления ферментом  $\beta$ -галактозидазы хромогенного субстрата формировали колонии темно-розового цвета. Наличие триптофана в составе среды позволяло провести тест на образование индола, для этого на фиолетовые колонии наносили каплю реактива Ковача. При изменении цвета колоний до розово-красного в течение 3–5 сек тест считали положительным, что позволило дифференцировать эшерихии от таксономически сходных видов энтеробактерий в течение 24 ч.

При идентификации изолятов, из общего числа 118 идентифицированных микроорганизмов 32 (27,11 %) штамма выделено из патматериала ягнят (кровь, сердце, селезёнка, лимфатические узлы, легкие, терминальный отдел подвздошного кишечника, илеоцекальный сфинктер, печень, почки); 49 (41,5 %) – содержимое кишечника; 20 (16,9 %) – пробы кормов; 17 (14,4 %) – смывы помещений. Установлено доминирование грамотрицательных факультативно-анаэробных бактерий семейства *Enterobacteriaceae* – 70,1 %. Из 46 культур микроорганизмов *E.coli* 18,0 % продуцировали адгезивные антигены: O78:K88 – 8,6 %; O86:F41 – 7,3 %; O33:F41 – 6,6 %; O78:K99 – 4,8 %; O2:K99 – 4,8 %; O9:A20 – 4,8 %; O86:A20 – 4,8 %; O26:A20 – 3,1 %; O111:A20 – 3,1 %; O2:A20 – 2,4 %; O20:K99 – 0,60 %; O26:F41 – 0,60 %; O119:A20 – 0,60 %, что согласуется с данными литературы (Пирожков М.К., 2002, 2016; Ленченко Е.М. и соавт., 2017). Наряду с эшерихиями, из патологического материала и *feces* ягнят были выделены другие микроорганизмы семейства *Enterobacteriaceae*: *K. pneumoniae* K1 – 17 (19,8 %); *K. pneumoniae* K2 – 10 (11,6 %); *K. oxytoca* – 17 (7,4 %); *P. vulgaris* – 13 (6,8 %); *E. cloacae* – 10 (5,4 %).

Для оптимизации подготовки образцов к исследованию при микробиологическом контроле критических точек технологии животноводства в соответствии с требованиями «*Good Laboratory Practice*» (GLP), перспективными являются микробиологические анализаторы «БакТрак 4300» («*SY-LAB Gerate GmbH*», Австрия); «*Trek Diagnostic System Sensititre*» («*Thermo Fisher Scientific*», США), значительно увеличивающие число проводимых анализов, позволяющих экономить время исследований и

материальные затраты (Ленченко Е.М., Степанов Д.В., 2020). Применение технологии «*MALDI-TOF*», основанной на сопоставлении масс-спектров рибосомальных белков, позволяет провести видовую идентификацию микроорганизмов в течение 30 мин (Sandle T. Et al., 2020).

При идентификации рибосомальных белков микроорганизмов,  $\geq 5,0 \times 10^6$  КОЕ/мл из 118 изолятов из патматериала ягнят (кровь, сердце, селезёнка, лимфатические узлы, легкие, терминальный отдел подвздошного кишечника, илеоцекальный клапан, печень, почки) были выделены 32 (27,11 %) изолята, «*Score*» –  $2,003 \pm 0,02 - 2,018 \pm 0,01$ ; 49 (41,5 %) изолятов были выделены из содержимого кишечника, «*Score*» –  $2,003 \pm 0,02 - 2,022 \pm 0,01$ ; 20 (16,9 %) – пробы кормов, «*Score*» –  $2,006 \pm 0,03 - 2,018 \pm 0,02$ ; 17 (14,4 %) – смывы помещений, «*Score*» –  $1,975 \pm 0,01 - 2,019 \pm 0,02$ .

На основании результатов комплексного изучения биологических свойств энтеробактерий выявлены критерии их дифференциации по фенотипическим свойствам от таксономически родственных видов бактерий.

Разработан и осуществлен новый подход в изучении экологии и биологии энтеробактерий – использование комплекса электронно-микроскопических и морфометрических методов в сочетании с бактериологическими и гистологическими исследованиями – для выявления факторов патогенности (адгезивности, инвазивности, цитотоксичности), внутрипопуляционной изменчивости энтеробактерий *in vivo*, *ex vivo* и *in vitro*, пределов адаптации бактерий к изменяющимся условиям среды обитания (Ленченко Е.М., 1996; Ленченко Е.М., 2000; Ленченко, Е. М. и соавт., 2014).

Общеизвестно, что инфекционный процесс начинается с адгезии возбудителя на клетках-мишенях. При снижении иммунобиологических показателей патогенез синдрома избыточного роста микроорганизмов опосредован факторами вирулентности микроорганизмов, прежде всего адгезивными свойствами. Адгезия – основной элемент колонизации, происходящий за счет взаимодействия чувствительных клеток макроорганизма и специализированных органелл бактериальной клетки.

Сравнительное изучение адгезии энтеробактерий выявило, что наиболее выраженные адгезивные свойства присущи штаммам микроорганизмов, выделенным из feces ягнят с клиническими признаками болезней органов пищеварения.

Считается, что адгезия бактерий к клеткам эукариот происходит путем лиганд-рецепторного связывания, например, у патогенных штаммов эшерихий функцию прикрепления выполняют специализированные фибриллы: K88, K99, 987P, F41, A20 и др. Не исключена возможность того, что в адгезии на фагоцитах участвует тот же полимер, который обуславливает прикрепление к эпителиальным клеткам слизистых оболочек организма хозяина. В частности, поверхностные структуры многих бактерий содержат гиалуроновую кислоту, которая не распознается фагоцитами как чужеродная, так как по химическому составу не отличается от таковой организма хозяина. Адгезия является пусковым механизмом реализации патогенности, считается: ни один возбудитель не может реализовать патогенность, не прикрепившись (не адгезировавших) к клетке. Соответственно токсины, пока не свяжутся с рецепторами мембран клеток-мишеней, также не реализуют токсические свойства (Павлова И. Б., Ленченко Е.М., 2007; Карабанов С.Ю., 2018; Морозова Н.В., 2020).

При исследовании референтных штаммов и изолятов, выделенных при септицемии, острых и хронических инфекциях животных, из пищевого сырья и смывов технологического оборудования пищевых и биотехнологических производств, а также из проб воды сточных вод выявили общие закономерности развития формирования трехмерной многослойной гетерогенной структуры биопленок *in vitro*, *ex vivo*, *in vivo*. Статические и динамические модели *in vitro* позволили учитывать массовую долю состава биопленок без нарушения естественной архитектоники и при воздействии различных факторов. При переходе от единичных подвижных планктонных клеток к прикрепленному этапу развития в составе биопленок выявлялись микроорганизмы и межклеточный матрикс.

Динамика объединения общим межклеточным матриксом трехмерной объемной гетероморфной структуры биопленок – популяции (лат. *populatio* — население) сопровождалась увеличением массовой доли клеток, 86,8–91,4% и межклеточного матрикса – 8,9–13,2%. Прямые коррелятивные зависимости ( $r=0,92$ ) установлены между показателями агрегации и наличием жгутиков бактерий, вместе с тем, клетки мутантов без жгутиков не были способны к подобной агрегации.

При дифференциации грамотрицательных и грамположительных бактерий, а также микроскопических грибов на границе кластеров, выявляли поры и каналцы округлой формы, содержащие жидкость и окруженные мембранными структурами. Прикрепившиеся к поверхности микроорганизмы способствовали адгезии последующих клеток, межклеточный матрикс «удерживал» микроколонию, формируя кластеры (англ. *cluster* – скопление, пучок, блок, группа).

Дифференцировали многослойные мембраны, везикулы, клетки с дефектной клеточной стенкой, сферопласты, протопласты, игольчатые и гигантские структуры, L-формы, кольцевые структуры ДНК. Многоэтапный процесс формирования трехмерной структуры поливидовых биопленок выявлялся в виде плотной сети, состоящей из бактериальных и дрожжевых клеток, гифальных и псевдогифальных форм, окружённых межклеточным полимерным матриксом. Наличие бластоспор обуславливало увеличение количества адгезированных к субстрату гетероморфных структур бактерий, удерживающихся на дрожжевых клетках микроскопических грибов.

В режиме реального времени без фиксации и окрашивания микроорганизмов исследовали препараты при лазерной модуляционной интерференционной микроскопии. Лабораторные модели *ex vivo* в режиме реального времени обеспечивали детекцию некультивируемых жизнеспособных клеток микроорганизмов при лазерной модуляционной интерференционной и люминесцентной микроскопии.

Положительная корреляция, 0,630–0,941 ( $p < 0,01$ ) установлена между объемом жизнеспособных клеток, белков и  $\beta$ -полисахаридов, являющихся маркерами формирования биопленок. За счет сканирования различных слоёв биопленок при фазово-контрастной микроскопии выявили механизмы внутрипопуляционных и межпопуляционных взаимодействий гетероморфных структур. При коагрегации наблюдалось бинарное деление клеток, за счет межклеточной адгезии наблюдалась колонизация тканей. Прямые коррелятивные зависимости ( $r=0,89$ ) выявили между показателями оптической плотности биопленок и степени адгезивности, инвазивности и устойчивости к фагоцитозу микроорганизмов.

Экспериментальные микросистемы *in vivo* позволили исследовать внутрипопуляционные и межпопуляционные взаимодействия в зависимости от изменения рН среды, содержания кислорода и других факторов. Патогенетические механизмы дисперсии (лат. *dispersio* – рассеивание) обусловлены рассеиванием планктонных форм микроорганизмов. Указанные формы за счет наличия фимбрий и афимбриальных адгезинов реализуют адгезивный потенциал при взаимодействии с рецепторами эпителиальных клеток слизистых оболочек полостных органов дыхательной, пищеварительной, выделительной и половой системы. Применение модифицированной окраски по Граму, использование раствора «*Crocus sativus*» позволило дифференцировать грамотрицательные и грамположительные микроорганизмы и оценить факторы вирулентности микроорганизмов, а также степень репарации тканей при применении лекарственных препаратов.

Преимущества разработанных нами способов исследований – визуализация и количественная оценка химического состава межклеточного матрикса биопленок, а также диаметра, периметра, высоты, площади, объема гетероморфных структур при оптической и электронной микроскопии. Разработанный новый методологический подход позволил научно обосновать и экспериментально подтвердить эффективность применения питательных

сред, содержащих компоненты для репарации клеточной стенки микроорганизмов. Разработаны композиционные препараты, снижающие степень адгезии и синтез межклеточного матрикса биопленок. Как правило, биоплёнки гидратированы, обладают гетерогенностью внутренней среды, локализуя метаболически дифференцированные клетки по всему трехмерному матриксу, экзоцеллюлярный матрикс выполняет защитную функцию (Schilcher K. eal., 2015; Vilela S. F. et al., 2015; Ленченко Е.М., Сачивкина Н.П., 2020).

Патогенез синдрома избыточного роста микроорганизмов при персистенции и степень распространения в объектах окружающей среды обусловлены наличием диссоциативных вариантов, дисперсией некультивируемых клеток микроорганизмов, получающих преимущества при гиперагрегации архитектоники гетерогенных биопленок (Lenchenko, E. et al., 2019).

Эволюционно сложившийся механизм адаптации за счет проявления и закрепления мутаций, межклеточная коммуникация, сорбция и агрегация гетерогенных биопленок, циклические режимы роста обуславливают персистенцию некультивируемых микроорганизмов в межэпидемические и межэпизоотические периоды (Ленченко Е.М., 1996; Ленченко Е.М. и соавт., 2014; Lenchenko E.M. et al., 2018, 2019).

## 2.3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### 2.3.1. Итоги выполненного исследования

Итоги выполненного исследования клинических особенностей, гематологических, биохимических, морфологических изменений индикации патогенных энтеробактерий при болезнях органов пищеварения ягнят позволили нам сделать следующие выводы:

1. При развитии синдрома желудочно-кишечных болезней установлено увеличение показателей гематокрита –  $0,412 \pm 0,03$  Ед крови; концентрации общего билирубина –  $1,56$  ммоль/л; холестерина –  $4,14 \pm 0,03$  ммоль/л; фосфора –  $3,5$  ммоль/л; снижение бактерицидной активности сыворотки крови –  $37,98 \pm 0,18$  %, фагоцитарной активности клеток –  $60,22 \pm 1,24$  %.

2. Установлены прямые коррелятивные зависимости ( $r \leq 0,96$ ) между изменениями показателей 1,0 г содержимого кишечника ягнят: увеличение концентрации уксусной –  $3,21 \pm 0,37$  мг/г, пропионовой –  $0,19 \pm 0,34$  мг/г, масляной –  $0,41 \pm 0,89$  мг/г кислоты, активности энтерокиназы –  $12018,0 \pm 0,53$  Ед/г; снижение рН среды –  $4,8 \pm 0,2$ ; концентрации химотрипсина –  $17,10 \pm 0,89$  мг/г; сахарозы –  $2,65 \pm 0,38$  мг/г; активности эластазы –  $3,12 \pm 0,32$  Ед/г; щелочной фосфатазы –  $256,21 \pm 4,54$  Ед/г и достоверного увеличения ( $p \leq 0,05$ ) индекса колонизации энтеробактерий –  $0,892 \pm 2,37$ .

3. При остром течении болезней органов пищеварения ягнят периода новорождённости до 7 суточного возраста установлена достоверная частота индикации  $\geq 90,0$  % поля зрения микроскопа – грамотрицательные палочковидные бактерии; подострое и хроническое течение, 7-90 суток – грамотрицательные, грамположительные бактерии, хламидоспоры, бластоспоры, гифы и псевдогифы дрожжеподобных грибов.

4. Динамика развития патологических процессов характеризовалась гиперплазией лимфатических узлов, селезенки, лимфоидных фолликулов терминального отдела подвздошного кишечника, слепого отдела толстого кишечника, увеличением количества межэпителиальных лимфоцитов,

скоплением плазматических клеток, экссудативно-инфильтративными процессами, сочетанием общей сосудистой реакции, дистрофическими и некротическими изменениями паренхиматозных органов.

5. При доминировании в микробиоценозах кишечника ягнят бактерий семейства *Enterobacteriaceae* идентифицированы изоляты *E. coli* O78:K88, O86:F41, O33:F41, O78:K99, O2:K99, O9:A20, O86:A20, O26:A20, O111:A20, O2:A20, O20:K99, O26:F41, O119:A20 – 69,3 %; *K. pneumoniae* K1, K2 – 24,5 %; *K. oxytoca* – 18,5 %; *P. vulgaris* – 7,9 %; *E. cloacae* – 3,3 %, продуцирующие адгезивные антигены, бактериоцины, гемолизины,  $\beta$ -лактамазы и экзополисахариды – маркеры биоплёнок.

6. Из общего числа 63 изолятов энтеробактерий *E. coli* – 78,0 %, *K. pneumoniae* – 73,3 % устойчивы к ампициллину, канамицину, ципрофлоксацину, норфлоксацину; *P. vulgaris* – 55,8 %, *E. cloacae* – 60,1 % проявляли резистентность к меропенему, канамицину, цефтазидиму, гентамицину, норфлоксацину.

### 2.3.2. Рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы

1. В составе комплекса дифференциальной диагностики болезней органов пищеварения целесообразно определять биохимические показатели 1,0 г содержимого кишечника ягнят: уровень рН среды; концентрации уксусной, пропионовой, масляной кислот; химотрипсина; сахарозы; активность энтерокиназы; эластазы; щелочной фосфатазы, учитывая показатель колонизационной резистентности слизистой оболочки кишечника – индекс колонизации.

2. Для индикации капсульных полисахаридов гипермукоидных изолятов *K. pneumoniae* K1, K2 рекомендуется применение иммунохроматографической тест-системы «*Immunochromatographic colloidal strip*» («*KeMyth Biotech*», Китай), основанной на реакции аглютинации поликлональных антител, чувствительность –  $1 \times 10^5$  м-ов./мл в течение 20–25 мин.

### 2.3.3. Практические предложения

На основании апробации и подбора эффективных способов идентификации изолятов энтеробактерий, циркулирующих в овцеводческих хозяйствах при массовых болезнях органов пищеварения ягнят разработано учебное пособие «Этиологическая структура, диагностика, лечение и профилактика болезней органов пищеварения овец и коз»: «Рекомендовано» УМО РАЕ по классическому университетскому и техническому образованию по дисциплине: «Клиническая диагностика», 36.05.01 – «Ветеринария»; профиль: «Ветеринарная медицина и экспертиза», протокол № 1198 от «22» апреля 2024 г.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Аблов, А.М. Бактериозы мелкого рогатого скота в Иркутской области / А.М. Аблов, А.С. Батомункуев, Е.В. Анганова, И.Г. Трофимов, А.А. Плиски // Вет. науки, вестник Омского Государственного Аграрного университета. – 2016. – с. 34-36.
2. Аблов, А.М. Эпизоотологический мониторинг бактериальных инфекционных болезней животных и птиц в Иркутской области: дис. ... канд. вет. наук.: 06.02.02 / А.М. Аблов – Омск, 2015. – 125 С.
3. Агарков, Н.В. Макро- и микроморфология слепой кишки и её кровеносного русла овец северокавказской породы в постнатальном онтогенезе: дис. ... канд. биол. наук: 06.02.01 // Ставрополь: «СтГАУ», 2018. – 234 С.
4. Акаевский, А.И. Анатомия домашних животных: учебник для высш. учеб. завед. по спец «Ветеринария» / А. И. Акаевский – М.: Колос, 1975. – С. 268-272
5. Андреева, С.В. Чувствительность к антисептикам биоплёночных форм *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных из ожоговых ран / С.В. Андреева, Л.И. Бахарева, Д.Ю. Нохрин, М.В. Титова, Н.Э. Хайдаршина, А.Л. Бурмистрова // «Клиническая микробиология и антимикробная терапия». – 2018. – №3 (Том 20). – С. 249 – 255.
6. Архипов, У.Х. Овцеводство и козоводство / У.Х. Архипов. – Москва: Агропромиздат, 1990. – 312 с.
7. Баймухамбетов, К. Развитие желудочно-кишечного тракта овец в эмбриогенезе: автореф. дисс. ... д-ра вет. наук: 16.00.02 / Баймухамбетов К. – Алма-Ата: ФГО ВП «Ставропольский государственный аграрный университет», 1958. – 147 С.
8. Белоусов В.И. Молекулярно-биологические исследования при диагностике заразных болезней животных и контроле безопасности

- пищевых продуктов и кормов в Российской Федерации / В.И. Белоусов, А.А. Варенцова, З.С. Девришова, Ю.С. Пантаз, Г.Г. Немков // Материалы Международной научно-практической конференции «Молекулярно-генетические технологии для анализа экспрессии генов продуктивности и устойчивости к заболеваниям животных. – Москва, 2019 – С. 175–178.
9. Вениаминов, А.А. Породы овец мира / А. А. Вениаминов // Москва: Колос, 1984. – 207 с.
  10. Вершинин, А.С. Овцеводство в Забайкалье – важный фактор рационального землепользования // Овцы, козы, шерстяное дело. – 2014. – № 2. – С. 5-7.
  11. Вечерковская, М.Ф. Действие антисептического препарата на биоплёнки бактерий, вызывающих одонтогенные инфекции у собак / М.Ф. Вечерковская, Н.К. Артеменко // Ветеринария. –2017. – № 7. – С. 24–27.
  12. Воробьев, П.А. Овцеводство и козоводство / П.А. Воробьев. – Москва: ВО «Агропроиздат», 1990. – 335 с.
  13. Гаджиев, З.К. Гематологические показатели крови и естественная резистентность у горских пород овец / З.К. Гаджиев // Овцы, козы, шерстяное дело. – 2010. – № 4. – С. 43-45.
  14. Ганин, М.Д. Особенности гистологического строения слизистой оболочки тонкого кишечника у крупного рогатого скота и овец / М.Д. Ганин, В.П. Романишин // Физиология и патология тонкой кишки: материалы Всесоюзной конференции гастроэнтерологов. – Рига, 1970. – С. 14-15.
  15. Глаголев, П. А. Анатомия с.-х. животных с основами гистологии и эмбриологии / П. А. Глаголев, В. И. Ипполитова; под ред. проф. И. А. Спирихова и В. Ф. Вракина. – Москва: Колос, 1977. – 480 с.
  16. Гнездилова, Л.А. Эпизоотологическая характеристика, диагностика и профилактика смешанных инфекций овец с синдромом поражения

репродуктивных органов: автореф. ... дис. д-ра вет. наук: 16.00.03, 16.00.07 – Москва: ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина». – 2005. – 32 с.

17. Гнездилова, Л.А. Научные основы повышения конкурентоспособности производства продукции овцеводства / Л.А. Гнездилова, В.В. Абонеев, В.В. Марченко, Е.В. Абонеева // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2017. – № 1. – С. 103-107.
18. Гомбоев, Б.Н. Микробиологический мониторинг неспецифических маститов у лактирующих овцематок Забайкалья, разработка и совершенствование методов терапии и профилактики: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.03. – Благовещенск: ГНУ НИИ ветеринарии Восточной Сибири СО РАСХН., 2006 – 24 с.
19. Горковенко, Н.А. Мониторинг антибиотикорезистентности энтеробактерий / Н.А. Горковенко, Ю.А. Макаров // Научный журнал КубГАУ. – 2018. – № 3 (137). – С. 197-206 // DOI: 10.21515/1990-4665-137-032.
20. Груздев, П.В. Артериальная васкуляризация сосочков рубца желудка мелких жвачных животных / П.В. Груздев, Г.Н. Губанова // Тезисы докладов X Всесоюзного съезда АГЭ. – Полтава, 1986. – С. 94.
21. Джамбулатов, З.М. Сальмонеллез овец в южных регионах России: автореф. дис. ... д-ра вет. наук: 16.00.03 / Москва: МГАВМиБ им. К.И. Скрябина, 2004. – 36 с.
22. Джупина, С.И. Различия контроля над эпизоотическим процессом пастереллёза и геморрагической септицемией / С.И. Джупина // Ветеринария сегодня. – 2015. – № 1 (12). – С. 53-58.
23. Джупина, С.И. Эпизоотический процесс и его контроль при факторных инфекционных болезнях / С. И. Джупина. – М.: РУДН, 2002. – 267 с.

24. Джупина, С.И. Роль L-Формы бактерий в эпизоотическом процессе болезней продуктивных животных / С.И. Джупина // Ветеринарная патология. – 2016. – № 57(3). – С. 5-11.
25. Забровская, А.В. Пространственная визуализация данных по выделению и чувствительности к антимикробным препаратам штаммов сальмонелл / А.В. Забровская, И.А. Хахаев, В.А. Кузьмин, Л.А. Кафтырева // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2018. – №1. – С. 43–45.
26. Забровская, А.В. Эпизоотологический анализ распространения антибиотикорезистентных штаммов возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных в Северо-Западном федеральном округе Российской Федерации: автореферат дис. ... д-ра вет. наук: 06.02.02. – С.–Петерб. гос. акад. вет. медицины. – Санкт-Петербург, 2019. – 41 с.
27. Забровская, А.В. Чувствительность к антимикробным препаратам микроорганизмов, выделенных от сельскохозяйственных животных и из продукции животноводства / А.В. Забровская // Farm Animals. – 2013. – № – 1. – С. 78-83.
28. Зеленевский, Н. В. Международная ветеринарная анатомическая номенклатура на латинском и русском языках (пятая редакция) / Н. В. Зеленевский; пер. и рус. терминология Н.В. Зеленевского. – Санкт-Петербург: Лань, 2013. – 400 с.
29. Зубрицкий, А.В. Изучение молекулярных механизмов резистентности к аминогликозидным антибиотикам возбудителей сальмонеллеза / А.В. Зубрицкий, Е.Н. Ильина, С.А. Стрельченко, М.В. Малахова, С.В. Ленев, О.Д. Складов, А.Н. Панин, В.М. Говорун // Антибиотики и химиотерапия. – 2011. – №9 (10) – С. 7-12.
30. Каврук, Л.С. Тесты, критерии и методы ускоренной санитарно-бактериологической оценки репродукторных помещений

- животноводческих ферм и пути оптимизации в них микробиоценоза: автореф. ... дис. д-ра вет. наук: 16.00.03. – М.: ВНИИВСГЭ, 1994. – 43 с.
31. Каврук, Л.С. Профилактика и ликвидация колибактериоза (эшерихиоза) телят, поросят, ягнят / Л.С. Каврук, Н.И. Попов // Ветер. Консультант. – 2016. – №14. – С. 3-8.
  32. Каничева, И.В. Микробиоценоз содержимого толстого отдела кишечника ягнят раннего возраста // «Вестник ОрелГАУ». – 2012. – №4 (12). – С. 107 – 109.
  33. Каничева, И.В. Особенности формирования микробиоценоза слизистой оболочки и содержимого ободочной кишки у ягнят раннего возраста / И.В. Каничева, И.И. Усачев, В.Ф. Поляков // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова. – 2016. – № 4 (45). – С. 59-65.
  34. Капустин, А.В. Разработка метода контроля иммуногенной активности ассоциированной вакцины против клостридиозов крупного рогатого скота / А.В. Капустин, А.И. Лаишевцев, О.Д. Скляр, Н.С. Абросимова // Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences. – 2017. – №3 (63). – С. 170-175.
  35. Карабанов, С.Ю. Исследование интенсивности образования и морфологических изменений биопленок бактерий, выделенных у собак с отитами, при различных схемах лечения / С.Ю. Карабанов // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные. – 2015. – №5. – С. 27-30.
  36. Карташова, О.Л. Факторы персистенции условно-патогенных микроорганизмов, выделенных от животных, и прикладные аспекты их использования (обзор) / О.Л. Карташова, О.А.Пашинина // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. – 2020. – № 4. – С. 2.
  37. Клеменов, А.В. Первичная недостаточность баугиниевой заслонки как висцеральный фенотипический маркер дисплазии соединительной

- ткани / А.В. Клеменов, В.Л. Мартынов, Н.С. Торгушина // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2008. – №2. – С. 83-86.
38. Ковалев, С.П. Анемия новорожденных телят: Этиология, патогенез, диагностика и профилактика: дисс. ... д-ра вет. наук: 16.00.01 // Санкт-Петербург: ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины». – 1999. – 276 с.
39. Ковалёв, С.П. Динамика показателей крови при диспепсии телят / С.П. Ковалёв, П.С. Киселенко // Международный вестник ветеринарии. – 2019. – № 2. – С. 119-122.
40. Колосов, А.А. Классификация хронических инфекционных болезней животных / А.А. Колосов, Н.А. Донченко // В сборнике: Актуальные вопросы ветеринарной медицины Сибири. Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию со дня основания Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока. – 2010. – С. 9-13.
41. Коник, Н.В. Гистологическая оценка мышечной ткани овец Эдильбаевской породы Астраханской области / Н.В. Коник, О.А. Шутова, В.В. Салаутин, Р.В. Ульянов // Вестник АПК Ставрополя. – 2018. – № 4 (34). – С. 70-74. // DOI: 10.31279/2222-9345-2018-7-32-70-74.
42. Кулиев, Б. Этиология, патоморфология и лечение пневмоний ягнят каракульской породы в специализированных хозяйствах Узбекистана: автореферат дис. ... канд. вет. наук: 16.00.02. – Самарканд: Самаркандский орден Почета сельскохозяйственного института, 1990. – 26 с.
43. Курятова, Е.В. Этиология возникновения гастроэнтеритов молодняка сельскохозяйственных животных в условиях Амурской области / Е.В. Курятова, М.В. Герасимова, О.Н. Тюкавкина, Ю.А. Гаврилов, Г.А. Гаврилова // Дальневосточный аграрный вестник. – Благовещенск, 2018. – №1 (45). – С. 60-65.

44. Лаишевцев, А.И. Клинико-эпизоотологическое обоснование вакцинопрофилактики и разработка вакцины против маншеймиоза крупного и мелкого рогатого скота: дисс. ... канд. биол. наук.: 06.02.02, 03.01.06. – Москва: ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук», 2018. – 138 с.
45. Латышев, С.Н. Особенности эпизоотического процесса сальмонеллеза и эшерихиоза ягнят: автореф. ... дис. канд. вет. наук: 16.00.03. – Ставрополь: ФГОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет». – 2009. – 24 с.
46. Ленёв С.В. Антибиотикорезистентность музейных штаммов бактерий рода *Klebsiella spp.* // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2016. – № 5. – С. 38-45.
47. Ленёв, С.В. Совершенствование выделения и идентификации бактерий *Salmonella enteritica* подвида *Arizonae* / А.И. Лаишевцев, Н.В. Пименов // Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences. – 2016. – №50 (2) – С. 14. // DOI: <http://dx.doi.org/10.18551/rjoas.2016-02.02>.
48. Ковалев, С.П. Анемия новорожденных телят: Этиология, патогенез, диагностика и профилактика: дисс. ... д-ра вет. наук: 16.00.01 // Санкт-Петербург: ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины». – 1999. – 276 с.
49. Ковалёв, С.П. Динамика показателей крови при диспепсии телят / С.П. Ковалёв, П.С. Киселенко // Международный вестник ветеринарии. – 2019. – № 2. – С. 119-122.
50. Ленченко, Е.М. Антигенная структура и патогенные свойства штаммов *E.coli*, выделенных при желудочно-кишечных болезнях животных / Е.М. Ленченко, А.В. Моторыгин, Е.М. Плотникова // Ветеринария. – 2013. – №2. – С. 21-25.

51. Ленченко, Е.М. Биология и экология иерсиний – возбудителей пищевых токсикоинфекций: дисс. д-ра вет. наук: 16.00.03. – М: МГУПБ, 2000. – 239 с.
52. Ленченко, Е.М. Гистохимическая характеристика органов иммунитета птиц при эшерихиозе / Е.М. Ленченко, Е.М. Плотникова // Ветеринария. – 2014. – № 8. – С. 25-28.
53. Ленченко, Е.М. Индикация факторов вирулентности энтеробактерий / Е.М. Ленченко, А.Н. Антонова // Ветеринария. – 2015. – № 10. – С. 26-30.
54. Ленченко, Е.М. Исследование биопленок и фенотипических признаков бактерий / Е.М. Ленченко, А.Н. Антонова // Ветеринария. – 2017. – № 5. – С. 31-35.
55. Ленченко Е.М. Исследование формирования биопленок и популяционной изменчивости патогенных бактерий для разработки мероприятий, обеспечивающих биологическую безопасность пищевого сырья / Е.М. Ленченко // Развитие пищевой и перерабатывающей промышленности России: кадры и наука. – М.: МГУПП. – 2017. – С. 143-144.
56. Ленченко, Е.М. Морфологическая характеристика органов иммунитета птиц при заражении токсигенным штаммом *Yersinia pseudotuberculosis* / Е.М. Ленченко, К.А. Ибрагимова // Аграрная наука. – 2013. – №6. – С. 30-32.
57. Ленченко, Е.М. Морфология органов пищеварения и микрофлора кишечника цыплят при заражении *Escherichia coli* / Е.М. Ленченко, Н.Н. Ванина // Сельскохозяйственная биология. – 2005. – № 4. – С. 69-73.
58. Ленченко, Е.М. Морфофункциональные свойства и популяционная изменчивость иерсиний, поражающих сельскохозяйственных животных, в зависимости от температурного фактора / Е.М. Ленченко // Сельскохозяйственная биология. – 1996. – № 6. – С. 88-95.

59. Ленченко, Е.М. Оценка эффективности схем бактериологического исследования на наличие сальмонелл / Е.М. Ленченко, Ф.В. Кхай, Ю.А. Ватников // Российский ветеринарный журнал. – 2017. – № 4. – С. 13-15.
60. Ленченко, Е.М. Сравнительная оценка методов контроля производства и выделения патогенных бактерий из мяса птицы / Е.М. Ленченко, С.С. Козак, Д.И. Скородумов, О.Д. Скляр, Д. Диксон, Б. Шелдон // Материалы IV Международного ветеринарного конгресса по птицеводству. Москва, 8-11 апреля 2008. – С. 76-83.
61. Ленченко, Е.М. Сравнительная характеристика дифференциально-диагностических сред для индикации возбудителей сальмонеллеза птиц / Е.М. Ленченко, И.С. Плитов // Аграрная наука. – 2011. – № 3. – С. 26-28.
62. Ленченко, Е.М. Характеристика токсигенности энтеробактерий, выделенных при желудочно-кишечных болезнях сельскохозяйственных животных / Е.М. Ленченко, Е.А. Мансурова, А.В. Моторыгин // Сельскохозяйственная биология. – 2014. – № 2. – С. 94-104.
63. Ленченко, Е.М. Этиологическая структура и дифференциальная диагностика бактериальных болезней телят / Е.М. Ленченко, И.А. Кондакова, Ю.В. Ломова // Аграрная наука. – 2017. – № 5. – С. 27-31.
64. Ленченко, Е.М. Оценка эффективности схем бактериологического исследования на наличие сальмонелл / Е.М. Ленченко, Фан Ван Кхай, Ю.А. Ватников // Российский ветеринарный журнал. – 2017. – № 4. – С. 13-15.
65. Ленькова, В.А. Эпизоотологическое проявление колибактериоза ягнят в промышленных комплексах / В.А. Ленькова, А.А. Гутковский, Л.Е. Кутузов // Сборник научных трудов. – 2016. – Выпуск 25: Ветеринарная наука – производству. – С. 46-48.
66. Макаров, В.В. Факторные болезни / В.В. Макаров // Российский ветеринарный журнал. – 2017. – №4. – С. 22-27.

67. Макаров, В.В. Эпизоотологический метод исследования / В.В. Макаров, А.В. Святковский, В.А. Кузьмин, О.И. Сухарев // – СПб.: Лань, – 2013. – 221 с.
68. Макаров, В.В. Доказательная эпизоотология (*Evidence based epizootology*) / В.В. Макаров, В.В. Недосеков // Ветеринарна биотехнология. – 2010. – № 17. – С. 143-150.
69. Марданова, А.М. Биопленки: основные методы исследования: учебно-методическое пособие / А.М. Марданова, Д.А. Кабанов, Н.Л. Рудакова, М.Р. Шарипова // К(П)ФУ. – 2016. – 42 с.
70. Мартынов, В.Л. Недостаточность баугиниевой заслонки, как причина синдрома избыточного бактериального роста тонкой кишки / В.Л. Мартынов, А.Х. Хайрдинов, Н.В. Казарина // Медицинский альманах. – 2015. – №1 (36). – С. 46-50.
71. Матросова, Л.Е. Влияние препарата на основе ионизированного серебра на биоплёнокообразование микроорганизмов / Л.Е. Матросова, Ю.В. Чередниченко, А.В. Тухтаманов // Международный научно-исследовательский журнал. — 2017. — №1(55) Часть 2. – С. 27-29 // DOI: 10.23670/IRJ.2017.55.102.
72. Методические рекомендации Методы комплексной оценки функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов в норме и патологии: / И.В. Нестерова, Г.А. Чудилова, С.В. Ковалева, Л.В. Ломтатидзе, Н.В. Колесникова, А.А. Евглевский // Краснодар: ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, 2017. – 51 с.
73. Мещеряков, В.А. Макро- и микроморфология венозной системы желудка овец, коз и сайгаков: монография / В. А. Мещеряков // – Ставрополь: АГРУС, 2009. – 176 с.
74. Мозжухин, Ю.П. Инфекционные болезни молодняка сельскохозяйственных животных, профилактика и ликвидация / Ю.П. Мозжухин // Сборник научных трудов – 2014. – №12. – С. 58-60.

75. Моисеева, Н.В. Роль бактерий семейства *Enterobacter spp.* в этиологии острых кишечных заболеваний у сельскохозяйственных животных / Моисеева, Н.В., Якимова Э.А. // Биотика. – №6 (7) – 2015. – С. 13-28.
76. Моторыгин, А.В. Этиологическая структура и морфофункциональная характеристика эшерихиоза телят: автореф. ... дис. канд. вет. наук: 06.02.02. – Москва: ФГБУ ВО «МГУПБ». – 2011. – 24 с.
77. Нечаева, О.В. Особенности формирования микробных биоплёнок условно–патогенными штаммами *Escherichia coli* и разработка способов борьбы с ними / О.В. Нечаева, Б.М. Аль-Баяти, Е.В. Глинская, В.Ю. Ульянов, М.М. Вакараева, Д.А. Заярский, Е.И. Тихомирова, Н.В. Беспалова // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2016. – Т.18, №2 (3). – С. 776-782.
78. Новопашина, С.И. Состояние и перспективные направления улучшения генетического потенциала мелкого рогатого скота: научно-аналитический обзор / С.И. Новопашина, М.Ю. Санников, С.А. Хататаев, Т.Н. Кузьмина, Г.Н. Хмелевская, Н.Г. Степанова, А.И. Тихомиров, Т.Е. Маринченко // М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2019. – 80 с.
79. Павлова, И.Б. Атлас морфологии популяций патогенных бактерий / И.Б. Павлова, Е.М. Ленченко, Д.А. Банникова // Москва: Колос, 2007. – 178 с.
80. Панин, А.Н. Пробиотики в животноводстве – состояние и перспективы / А.Н. Панин, Н.И. Малик, О.С. Илаев // Ветеринария. – 2012 – № 3. – С. 3-8.
81. Панин, А.Н. Мониторинг распространения зоонозов и антимикробной устойчивости их возбудителей в странах ЕС / А.Н. Панин, А.В. Куликовский // Ветеринария. – 2014. – № 2. – с. 3-5.
82. Паршин, П.А. Ветеринарно-санитарные аспекты этиологии и профилактики факторных болезней животных / П.А. Паршин, С.М. Сулейманов, С.С. Першин // В сб.: Материалы Международной научно-

практической конференции, посвященной 90-летию факультета ветеринарной медицины и технологии животноводства, проводимой на базе ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени Императора Петра I». – 2021. – С. 181-183.

83. Патент РФ № 2016116177, 25.04.2016. Средство для селективного влияния на биоплёнообразование микроорганизмами / О.В. Бухарин, Б.А. Фролов, И.Н. Чайникова, Н.Б. Перунова, Е.В. Иванова, Ю.В. Филиппова, Т.А. Бондаренко, О.И. Сидорова, Т.В. Панфилова, А.Д. Железнова, Ю.А. Сарычева // Патент России № 2646488. 2017. Бюл. №31.
84. Петров, А.К. Профилактика йодной недостаточности у овец путём применения препаратов органической и неорганической форм йода: дисс. ... канд. вет. наук: 06.02.01 // М.: ФГАОУ ВО «РУДН», 2017. – 128 с.
85. Пименов, Н.В. Методические рекомендации по профилактике и ликвидации сальмонеллезов сельскохозяйственных животных, в том числе птиц / Н.В. Пименов, Е.А. Тинаева, А.И. Лаишевцев, Ю.Н. Колесникова // М.: ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина. – 2016. – 155 с.
86. Пименов, Н.В. Профилактика сальмонеллеза сельскохозяйственных животных и птиц: основные направления и средства / Н.В. Пименов, А.И. Лаишевцев, Ю.Н. Колесникова // Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences. – 2016. – № 12(60). – С. 247-254.
87. Пименов, Н.В. Сравнительные испытания бактериофага против сальмонелл полученных различными способами культивирования / Н.В. Пименов, А.В. Капустин, В.А. Петров // В сборнике: Актуальные вопросы биологии, биотехнологии, ветеринарии, зоотехнии, товароведения и переработки сырья животного и растительного происхождения. Материалы национальной научно-практической конференции. – 2019. – С. 58-59.

88. Пирожков, М.К. Иммунобиологические лекарственные для лечения и профилактики эшерихиоза животных / М.К. Пирожков, Е.В. Сусский, С.Н. Ярцев // Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов для АПК. – 2016. – С. 199-204.
89. Пирожков, М.К. Диагностика, специфическая профилактика и лечение при бактериальных болезнях животных / М.К. Пирожков, С.В. Ленев, Е.В. Викторова, С.А. Стрельченко, Л.И. Тихонов, О.Д. Складов // Ветеринария. – 2011. – № 1. – С. 24-28.
90. Пирожков, М.К. Биологические препараты для специфической профилактики и терапии эшерихиоза животных: автореф. дис. ... д-ра вет. наук: 16.00.03 // М.: ФГБУ «ВГНКИ», 2002. – 50 с.
91. Порублев, В.А. Возрастные изменения морфометрических показателей тощей кишки овец ставропольской породы в постнатальном онтогенезе / В.А. Порублев, С.А. Позов, С.В. Порублева // Инновации и современные технологии в производстве и переработке сельскохозяйственной продукции: материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 80-летию профессора Исмаилова И.С. / СтГАУ. – Ставрополь, 2016. – С. 622–628.
92. Порублев, В.А. Морфология и экстраорганные артерии двенадцатиперстной кишки новорожденных ягнят ставропольской породы / В.А. Порублев // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2010. – № 4 (66). – С. 67-68.
93. Порублев, В.А. Варианты и типы ветвления краниальной и каудальной брыжеечных артерий овец Ставропольской породы 18-месячного возраста / В.А. Порублев // Вавиловские чтения – 2009: материалы Международной научно-практической конференции / СГАУ им. Вавилова. – Саратов, 2009. – Ч. 1. – С. 283.
94. Прунтова О.В. Современные методы определения микробиологической порчи пищевых продуктов и сырья / О.В. Прунтова, Н.Б. Шадрова // Ветеринария сегодня. – 2017. – № 2. – С. 27-33.

95. Прунтова, О.В. Современное представление о механизмах антимикробной резистентности бактерий (аналитический обзор) / О.В. Прунтова, В.С. Русалеев, Н.Б. Шадрова // Ветеринария сегодня. – 2022. – №1. – С. 7-13 // DOI: <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2022-11-1-7-13>.
96. Прунтова, О.В. Антигенная активность бактерий *Salmonella choleraesuis* и *Pasteurella multocida* в ассоциированной вакцине при инаktivации димером этиленimina / О.В. Прунтова, В.С. Русалеев, В.М. Гневашев, В.В. Селиверстов, А.В. Потехин, Т.Г. Колотилова // Сельскохозяйственная биология. – 2003. – № 6 (38). – С. 94-99.
97. Раднатаров, В.Д. Профилактика энзоотической атаксии ягнят с помощью полиминеральной кормовой добавки "Полимикс" / В.Д. Раднатаров, Ш.С. Салчак, С.П. Ковалев // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова. – 2019. – № 3 (56). – С. 103-107.
98. Салаутин, В.В. Патоморфология и дифференциальная диагностика сальмонеллеза птиц, вызванного различными серовариантами возбудителя: дисс. ... д-ра вет. наук: 16.00.02 – Саратов: ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ». – 2004. – 443 с.
99. Салаутин, В.В. Изменения некоторых показателей крови подсвинков под влиянием микроэлементов в кормах / В.В. Салаутин, И.В. Зирук // В сборнике: Приоритетные и инновационные технологии в животноводстве – основа модернизации комплекса. Ставропольский государственный аграрный университет. – 2016. – С. 396-398.
100. Салаутин, В.В. Морфометрия кишечника свиней при добавлении в корма аспарагинатов / В. А. Салаутин, И. В. Зирук, Д. В. Козина // В сборнике: Аграрная наука – сельскому хозяйству. Материалы XIII Международной научно-практической конференции: в 2 кн.. ФГБОУ ВО «Алтайский государственный аграрный университет». – 2018. – С. 429-430.

101. Салаутин, В.В. Морфометрия экзокриноцитов толстой кишки подсвинков под влиянием хелатов / В.В. Салаутин, И.В. Зирук // Морфология. – 2019. – Т. 155, № 2. – С. 248-249.
102. Салимов, В.А. Практикум по патологической анатомии животных: учебное пособие. 2-е изд., перераб. и доп. // Санкт-Петербург: Лань, 2013. – 352 с. – ISBN 978-5-8114-1418-5.
103. Салимов, В.А. Патоморфологические изменения у сельскохозяйственных животных при ассоциативном воздействии *S. typhimurium* и *P. multocida* / В.А. Салимов, А.Ю. Шарафутдинова // В книге: Тезисы докладов XI Самарской областной студенческой научной конференции. Посвящается 80-летию первого космонавта Земли Юрия Алексеевича Гагарина. – Самара: Самарская государственная сельскохозяйственная академия. – 2016. – С. 286-287.
104. Сачивкина, Н.П. Исследование биопленок *Candida albicans* и *Escherichia coli*. / Н.П. Сачивкина, Е.М. Ленченко, А.И. Марахова // Фармация. – 2019. – № 68 (7). – С. 26-30 // [https:// DOI: 10.29296/25419218-2019-07-05](https://doi.org/10.29296/25419218-2019-07-05)
105. Сачивкина, Н.П. Диагностика кандидоза у свиней / Н.П. Сачивкина, Е.М. Ленченко, А.В. Лисейцев // Ветеринария. – 2018. – № 1. – С. 26-30 // DOI: <http://dx.doi.org/10.30896/0042-4846.2018.21.11.26-30>.
106. Сачивкина, Н.П. Эффективные способы идентификации дрожжеподобных грибов *Candida* / Н.П. Сачивкина, Е.М. Ленченко // Ветеринария. – 2019. – № 2. – С. 25-28 // DOI: <http://dx.doi.org/10.30896/0042-4846.2019.22.2.25-28>.
107. Сачивкина, Н.П. Изучение фермента литиказы как нового антимикотического препарата / Сачивкина Н.П., Э.Г. Кравцов, Е.А. Васильева // Вестник РУДН, серия Агрономия и животноводство. – 2008. – № 3. – С. 37-43.
108. Сачивкина, Н.П. Эффективные способы идентификации дрожжеподобных грибов *Candida* / Н.П. Сачивкина, Е.М. Ленченко // Ветеринария. – 2019. – № 2. – С. 25-28.

109. Семченко, В.В. Гистологическая техника: учебное пособие / В.В. Семченко, С.А. Барашкова, В.Н. Ноздрин, В.Н. Артемьев. – Омск: Омская медицинская академия, 2006. – 290 с.
110. Сидоров, М.А. Определитель зоопатогенных микроорганизмов / М.А. Сидоров, Д.И. Скородумов, В.Б. Федотов // М.: Колос. – 1995. – 319 с.
111. Сидорчук, А.А. Современные представления о зоонозах / А.А. Сидорчук // Российский ветеринарный журнал Сельскохозяйственные животные. – 2012. – № 4. – С. 7-11.
112. Сидорчук, А.А. Общая эпизоотология: учебник для вузов / А.А. Сидорчук, Е.С. Воронин, А.А. Глушков // Санкт-Петербург: Лань. – 2021.
113. Симонова, И.Р. Методы культивирования и изучения бактериальных биопленок / И.Р. Симонова, С.Н. Головин, Л.М. Веркина, Е.А. Березняк, С.В. Титова // Известия ВУЗов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. – 2017. – № 1. – С. 73-79.
114. Скородумов, Д.И. Микробиологическая диагностика бактериальных болезней животных / Д.И. Скородумов, В.В. Субботин, М.А. Сидоров, Т.С. Костенко. – М.: ИзографЪ, 2005. – 656 с.
115. Скородумов, Д.И. Роль бактериальных биопленок в инфекционной патологии животных и пищевых производствах / Д.И. Скородумов, Е.В. Павлова, Р.П. Корнелаева // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2012. – №4. – С. 4-7.
116. Слесаренко, Н.А. Сердечно-сосудистая и эндокринная системы животных (анатомия и гистология): учебное пособие / Н.А. Слесаренко, Г.А. Ветошкина, С.Б. Селезнев. – М.: ООО «АртСервис Лтд». – 2016. – 152 с.
117. Субботин, В.В. Биотехнология пробиотика лактобифадола (бифицидобактерина) и его лечебно-профилактическая эффективность: дисс. ... д-ра вет. наук: 16.00.03 // Москва: ФГБУ «ВГНКИ», 1999. – 315 с.

118. Субботин, В.В. Сальмонеллёзы – актуальная проблема ветеринарной медицины / В.В. Субботин, М.Н. Лощинин, Н.А. Соколова, С.А. Коломьцев // Журнал Ветеринария и кормление. – 2013. – № 4. – С. 59-61.
119. Сулейманов, С.М. Ультраструктурная характеристика естественной гибели клеток при иммунодефицитном состоянии животных / С.М. Сулейманов, П.А. Паршин, В.С. Слободяник, О.Б. Павленко, О.А. Сапожкова, Ю.В. Шапошникова // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – Санкт–Петербург, 2016. – №4 (32). – С. 28-32.
120. Третьяков, А.М. Особенности краевой эпизоотологии доминирующих бактериальных инфекций сельскохозяйственных животных в республике Бурятия: автореф. ... канд. вет. наук: 06.02.02 // Барнаул: ФГОУ ВПО «Алтайский государственный аграрный университет», 2011. – 42 С.
121. Ургуев, К.Р. Болезни овец / К.Р. Ургуев, А.М. Атаев // Диагностика и меры борьбы с болезнями овец: справочник. – Махачкала, 2004 – С. 178-208.
122. Усачев, И.И. Микробиоценоз кишечника, его оценка и контроль у овец, целенаправленное формирование у новорожденных ягнят: дис. ... канд. вет. наук: 06.02.02 // – М: ВНИИ экспериментальной ветеринарии им. Я. Коваленко, 2014. – 359 с.
123. Уша, Б.В. Морфофункциональные показатели при болезнях органов пищеварения телят / Б.В. Уша, Е.М. Ленченко // Российская сельскохозяйственная наука. – 2018. – №. 3. – С. 36-39.
124. Уша, Б.В. Внутренние болезни животных [Текст]: учебник для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлению подготовки 36.03.01 «Ветеринарно-санитарная экспертиза» и направлению подготовки бакалавров / Б.В. Уша // Москва: Инфра-М, 2015. – 311 с. // ISBN 978-5-16-010643-4.

125. Уша, Б.В. Клиническая диагностика внутренних незаразных болезней животных [Текст]: учебник для студентов высших учебных заведений по специальности 310800 «Ветеринария» / Б.В. Уша // Санкт-Петербург: Квадро, 2013. – 486 с. // ISBN 978-5-906371-03-4.
126. Филипьева, Ю.А. О вкладе агрегации клеток и экстраклеточной ДНК в формирование и стабилизацию биопленок бактерий *Azospirillum brasilense* / Ю.А. Филипьева, Е.М. Телешева, С.С. Евстигнеева, А.В. Шелудько, Е.Г. Пономарева, Л.П. Петрова, Е.И. Кацы // Известия Саратовского университета: «Химия. Биология. Экология». – 2018. – № 4 (том 18). – С. 399–406 // DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2018-18-4-399-406>.
127. Фисенко, Ю.Н. Морфофункциональные особенности маточных труб у самок овец западно-сибирской мясной породы в раннем постнатальном онтогенезе / Ю.Н. Фисенко // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2017. – № 12 (158). – С. 108-113.
128. Фисинин, В.И. Биопрепарат на основе штамма *Lactobacillus plantarum* L-211 для животноводства / В.И. Фисинин, Е.Н. Андрианова, И.И. Чеботарев, Г.Ю. Лаптев, И.Н. Никонов, Л.А. Ильина, А.В. Савинов, Н.Г. Машенцева, Д.Л. Клабукова, Е.А. Ёылдырым, Н.И. Новикова // Сельскохозяйственная биология. – 2017. – № 2. – С. 418-424.
129. Фисинин, В.И. Микробиологические риски в промышленном птицеводстве и животноводстве / В.И. Фисинин, В.И. Трухачев, И.П. Салеева, В.Ю. Морозов, Е.В. Журавчук, Р.О. Колесников, А.В. Иванов // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – № 1, Т. 53. – С. 1120-1130 // DOI: [10.15389/agrobiology.2018.6.1120rus](https://doi.org/10.15389/agrobiology.2018.6.1120rus).
130. Чеботарь, И.В. Новый метод исследования антибиотикорезистентности бактериальных биоплёнок / И. В. Чеботарь, Н.А. Маянский, Е.Д. Кончакова // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2012. – № 14(4). – с. 303-308.

131. Чередниченко, Ю.В. Влияние антибактериального препарата «Сульфатилан» на формирование биопленок патогенных микроорганизмов / Ю.В. Чередниченко, Л.Е. Матросова, А.В. Софронова, М.Я. Тремасов, В.Ю. Титова // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2016. – №29 (1). – С. 66-68.
132. Чугунова, Е.О. Характеристика серологических вариантов сальмонелл, выделенных из патологического материала от животных и мясных продуктов // Е.О. Чугунова, Н.А. Татарникова // Агротехнологии XXI века. Сборник материалов международной научной конференции. – Пермь. – 2018. – С. 258-263.
133. Шабунин, С.В. Фундаментальные основы диагностики, профилактики и терапии акушерско-гинекологических заболеваний и мастита у коров / С.В. Шабунин // Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко. – 2021. – Т. 82. – С. 189-192.
134. Шахов, А.Г. Состояние клеточного иммунитета и цитокиновый профиль у поросят при кишечных инфекциях / А.Г. Шахов, Л.Ю. Сашнина, М.И. Адодина, К.В. Тараканова, М.Ю. Жейнес // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2019. – Т. 55. № 4. – С. 146-150.
135. Шевченко, А.А. Эпизоотическая ситуация по эшерихиозу в Ростовской области / А.А. Шевченко, А.В. Торопыно // Ветеринарная патология. – 2017. – №3 (61). – С. 3-8.
136. Шкиль, Н.Н. Экспериментальное и практическое обоснование применения препаратов, содержащих наночастицы серебра и висмута при гастроэнтеритах телят: дисс. ... д-ра вет. наук: 06.02.03, 06.02.02 // Новосибирск: Сибирский федеральный научный центр агrobiотехнологий РАН, 2019. – 340 с.
137. Эльмурадов, А.Э. Макро- и микроморфология тонкого отдела кишечника каракульских ягнят / А. Э. Эльмурадов, Н. С. Шодиев // Морфология, физиология и биохимия сельскохозяйственных животных:

- труды Самаркандского СХИ. – Самарканд, 1979. – Т. 41. – С. 74–76.
138. Ярец, Ю.И. Новый метод анализа бактериальной биопленки / Ю.И. Ярец, Н.И. Шевченко // Наука и инновации. – 2016. – №164. – С. 64-68.
139. Яшин, А.В. Дисбактериоз у животных: теоретические и прикладные аспекты / А.В. Яшин, Г.Г. Щербаков, С.П. Ковалев, В.А. Гусева, Г.В. Куляков, Д.А. Ключко // Иппология и ветеринария. – 2019. – № 4 (34). – С. 159-162.
140. Aban, A.S. Sonographic Fetal Death in Goats in Khartoum State, Sudan: A Cross-Sectional Study. / A.S. Aban, A.M. Almubarak, N.A. Abass, M.E. Badawi, M.T. Ibrahim, R.M. Abdelghafar // Vet Med Int. – 2019 // 10;2019:1278389. DOI: 10.1155/2019/1278389.
141. Aban, A.S. Subsequent Fertility of Goats with Prenatal Mortality Diagnosed by Ultrasound and Treated by PGF $2\alpha$  and Oxytetracycline / A.S. Aban, R.M. Abdelghafar, M.E. Badawi, A.M. Almubarak // Vet Med Int. – 2017. – № 2 // DOI: 10.1155/2017/7890183.
142. Abdullahi, U.F. Intrigues of biofilm: A perspective in veterinary medicine / U.F. Abdullahi., E. Igwenagu., A. Muazu, S. Aliyu., M.I. Umar // «Veterinary World». – 2016. – № 1 (9). – P.12-18.
143. Almubarak, A.M. Pseudopregnancy in goats: Sonographic prevalence and associated risk factors in Khartoum State, Sudan. / A.M. Almubarak, N. Abass, M.E. Badawi, M.T. Ibrahim, A.A. Elfadil, R.M. Abdelghafar // Veterinary world. – 2018. – № 11(4). – P. 525-529 // DOI: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.525-529>.
144. Amar jeet, B. Ultrasonographic Diagnosis and Clinical Management of Pseudopregnancy in Goats. / B. Amar jeet, K. Brijesh, Y. Dushyant, K. Rohit, K. Javid, N. Athanas, R. Rupali, K. Harendra // Theriogenology Insight: An International Journal of Reproduction in all Animals. – 2019. – № 9. – P. 13-18 // DOI: 10.30954/2277-3371.01.2019.3.
145. Ana, M. Transrectal ultrasound evaluation in tropical dairy goats: an indispensable tool for the diagnosis of reproductive disorders / M. Ana, B.

- Felipe, S. Joanna, B. Mario, F. Olivardo, F. Jeferson // *Tropical Animal Health and Production*. – 2018. – P. 50-54 // DOI: 10.1007/s11250-017-1496-0.
146. Anisimova, N.Y. Influence of fucoidans and their derivatives on antitumor and phagocytic activity of human blood leucocytes / N.Y. Anisimova, N.E. Ustyuzhanina, F.V. Donenko, M.I. Bilan, N.A. Ushakova, A.I. Usov, N.E. Nifantiev, M.V. Kiselevskiy // *Biochemistry*. – 2015. – № 80 (7). – P. 925-933 // DOI: 10.1134/S0006297915070111.
147. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. 2022. РЕЖИМ ДОСТУПА: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(21\)02724-0/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(21)02724-0/fulltext).
148. Armbruster, C.R. New insight into the early stages of biofilm formation / C.R. Armbruster, M.R. Parsek // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2018. – P. 4317-4319 // DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1804084115>.
149. Balamurugan, B. Successful Therapeutic Management of Hydrometra in a Doe- A Case Report / A. Kumar, M. Ramamoorthy, A. Ali // *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. – 2018. – №7. – P. 2044-2047.
150. Barna, T. Incidence of hydrometra in goats and therapeutic effects / T. Barna, J. Apić, D. Bugarski // *Animal Referral Hospital Essendon Fields* – 2017. – Vol.10 (1). – P. 13-24.
151. Barrett, D. Australian Sheep Flock: Breed and Age Composition / D. Barrett// *Australian Farm Surveys Report: Financial Performance of Australian Farms*. – 2003. – P. 15-18.
152. Bergey, D.H. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* // Springer Science & Business Media, 2001. – Vol. 2. – 1456 p.
153. Borges, K.A. Biofilm formation by *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium isolated from avian sources is partially related with their in vivo pathogenicity // K.A. Borges, T.Q. Furian, S.N. Souza, R. Menezes, D.A. Lima, F.B. Fortes, C.T. Salle, H.L. Moraes, V.P. Nascimento / *Microbial*

- Pathogenesis. – 2018. – №118. – P. 238-241 // DOI: 10.1016/j.micpath.2018.03.039.
154. Boujenane, I. Lamb production and its components from purebred and crossbred mating types / I. Boujenane, J. Kansari // Small Ruminant Research. – 2002. – Vol. 43.– 1.2. P. 115-12.
155. Brandenburg, K.S. Formation of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms in Full-thickness Scald Burn Wounds in Rats / K.S. Brandenburg, A.J. Weaver, S.L. Rajasekhar, T. You, P. Chen, S.V. Stryk, L. Qian, U. Pineda, J.J. Abercrombie, K.P. Leungcorresponding // Scientific reports. – 2019. – №9 (1) // DOI:10.1038/s41598-019-50003-8.
156. Brauna, J.P. Clinical biochemistry in sheep: A selected review / J.P. Brauna, C. Trumel, P. Bezille // Small Ruminant Research. – 2010. – Vol. 92. – P. 10-18.
157. Brigadirov, Y.N. The role of genital tract microflora correction and metabolic status of sows in the reproductive potential implementation / Y.N. Brigadirov, S.V. Engashev, N.P. Sachivkina, E.V. Kulikov, E.O. Rystsova, E. Notina, M.V. Bolshakova // International Journal of Pharmaceutical Research. – № 12(2). – P. 416-423.
158. Cadavid, E. Induction of Biofilm Formation in *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13884 by Several Drugs: The Possible Role of Quorum Sensing Modulation / E. Cadavid, S.M. Robledo, W. Quiñones, F. Echeverri // Antibiotics. – Basel, 2018. – №7 (4). – P. 103.
159. Cadavid, E. The Search for Natural Inhibitors of Biofilm Formation and the Activity of the Autoinductor C6-AHL in *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13884 / E. Cadavid, F. Echeverri // Biomolecules. – 2019. – №2 (9). – 12 P. // DOI: <https://doi.org/10.3390/biom9020049>.
160. Camino, G.M. Visualization and quantification of the cellular and extracellular components of *Salmonella Agona* biofilms at different stages of development / G.M. Camino, C. Rosa, R.P. Felix, A.C. Carlos // PLoS ONE.

– 2018. – №7 (13). – P. 1 – 14 // DOI:  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200011>.

161. Chakraborty, A. Characterization of Escherichia coli Phylogenetic Groups Associated with Extraintestinal Infections in South Indian Population / Chakraborty A, Saralaya V1, Adhikari P2, Shenoy S1, Baliga S1, Hegde A // Karnataka – 2015. – 241-246 p.
162. Chigerwe, M. Seizure Disorders in Goats and Sheep / M. Chigerwe, M. Aleman // Journal of Veterinary Internal Medicine. – 2016. – № 30 (5). – P. 1752-1757 // DOI: 10.1111/jvim.14566.
163. Costerton, J.W. How Bacteria Stick / J.W. Costerton, G. Geesey, K.J. Cheng // Scientific American. – 1978. – № 238. – P. 86-95.
164. Costerton, J.W. Microbial Biofilms / J.W. Costerton, Z. Lewandowski, D.E. Caldwell, D.R. Korber // Annual Review of Microbiology. – 1995. – № 49(1). – p. 711-745 // DOI:10.1146/annurev.mi.49.100195.003431.
165. Cronin, N. Suspected hereditary cervicothoracic vertebral subluxation with cervical myopathy in Poll Merino sheep / N. Cronin, P. Loukopoulos, D. Brown, B.A. O'Rourke, G. Morrice, P.A. Windsor // Australian Veterinary Journal. – 2019. – № 97 (12). – P. 499-504 // DOI: 10.1111/avj.12877.
166. Dai, T. Photodynamic therapy for methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection in a mouse skin abrasion model / G.P. Tegos, T. Zhiyentayev, E. Mylonakis, M.R. Hamblin // Lasers in Surgery and Medicine. – 2010. – № 1 (42). – P. 38–44 // DOI:10.1002/lsm.20887.
167. Davenport, K.M. Genetic structure and admixture in sheep from terminal breeds in the United States / K.M. Davenport, C. Hiemke, S.D. McKay, J.W. Thorne, R.M. Lewis, T. Taylor, B.M. Murdoch // Animal Genetics. – 2020. V.51. – I.2. – P. 284-291.
168. Dawson, L.E.R. Effects of crossbred ewe genotype and ram genotype on ewe prolificacy, lamb viability and lamb output in the lowland sector / L.E.R. Dawson, A.F. Carson // The Journal of Agricultural Science. – 2002. – Vol. 139. – Issue. 2. – P. 169-181.

169. Delgado, L. Pathological Findings in Young and Adult Sheep Following Experimental Infection With 2 Different Doses of *Mycobacterium avium* Subspecies *paratuberculosis* / Marín J.F., Muñoz M., Benavides J., Juste R.A., García-Pariente C., Fuertes M., González J., Ferreras M.C., Pérez V. // *Veterinary Pathology*. – 2013. – № 50 (5). – P. 857-866. // DOI:10.1177/0300985813476066.
170. Deng, K.D. Energy requirements for maintenance and growth of Dorper crossbred ram lambs / K.-D. Deng, Q.-Y. Diao, C.-G. Jiang, Y. Tu, N.-F. Zhanga, J. Liu, T. Ma, Y.G. Zhao, G.-S. Xu // *Livestock Science*. – 2012. – Vol. 150. – Issue 1-3. – P. 102-110.
171. Desire, S. Pseudopregnancy and aseasonal breeding in dairy goats: genetic basis of fertility and impact on lifetime productivity / S. Desire, S. Mucha, M. Coffey, R. Mrode, J. Broadbent, J. Conington // *Animal*. – 2018. – № 12(9). – P. 1799-1806 // DOI: 10.1017/S1751731117003056.
172. Emikpe, B.O. Histological and immunohistochemical assessments of pneumonia in sheep slaughtered at Ibadan, Nigeria and Kumasi, Ghana / B.O. Emikpe, T.A. Jarikre, S.O. Akpavie, T. Opoku-Agyemang, D. Asare, R.D. Folitse // *Immunoassay Immunochemical*. – 2019. – № 40 (3). – P. 300-313 // DOI: 10.1080/15321819.2019.1589495.
173. Fangjun, C. Characterization of *Klebsiella pneumoniae* associated with cattle infections in southwest China using multi-locus sequence typing (MLST), antibiotic resistance and virulence-associated gene profile analysis / C. Fangjun, L. Zhangcheng, L. Shimei, L. Wei, L. Xiaoyan, Z. Zuoyong, S. Zhenhui, W. Juan, Z. Manli, S. Wenjie // *Brazilian Journal of Microbiology*. – 2018. – № 1 (49). – P. 93–100 // DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.06.004>.
174. Ferguson, D.M. Advances in sheep welfare / D.M. Ferguson, C. Lee, A. Fisher // *Woodhead publishing series in food science, technology and nutrition*. – 2017. – 302 p.

175. Fleet, M.R. Lamb production from Merino ewes mated to Merino or Damara rams / M.R. Fleet, M.J. Bennie, G.N. Dunsford, G.R. Cook, D.H. Smith // Australian Journal of Experimental Agriculture. – 2002. – Vol. 42(8). – P. 1027- 1032.
176. Fogarty, N.M. Genetic evaluation of crossbred lamb production. 1. Breed and fixed effects for birth and weaning weight of first-cross lambs, gestation length, and reproduction of base ewes / N.M. Fogarty, V.M. Ingham, A.R. Gilmour, L.J. Cummins, G.M. Gaunt, J. Stafford, J.E. Hocking Edwards, R.G. Banks // Australian Journal of Agricultural Research. – 2005. – Vol.56(5). – P. 443-453.
177. Gharrah, M.M. Association between Virulence Factors and Extended Spectrum Beta-Lactamase Producing Klebsiella pneumoniae Compared to Nonproducing Isolates / M.M. Gharrah, A.M. El-Mahdy, R.F. Barwa // Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases. – 2017. – 14 P. // DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/7279830>.
178. Giadinis, N.D. Acute coenurosis of dairy sheep from 11 flocks in Greece / N.D. Giadinis, V. Psychas, Z. Polizopoulou, E. Papadopoulos, N. Papaioannou, A.T. Komnenou, A.L. Thomas, E.J. Petridou, M. Kritsepi-Konstantinou, S.Q. Lafi, G.D. Brellou // Veterinary Journal. – 2012. – № 60 (4). – P. 247-53 // DOI: 10.1080/00480169.2012.665343.
179. Griebel, P.J. Characterization of B-cell phenotypic changes during ileal and jejunal Peyer's patch development in sheep / P.J. Griebel, L. Kennedy, T. Graham, W.C. Davis, J.D. Reynolds // Immunology. – 2018. – № 4 (77). – P. 564-570.
180. Groizeleau, J. The anti-cancerous drug doxorubicin decreases the c-di-GMP content in Pseudomonas aeruginosa but promotes biofilm formation / J. Groizeleau, M. Rybtke, J.B. Andersen, J. Berthelsen, Y. Liu, L. Yang, T.E. Nielsen // Microbiology. – 2016. – № 162. – P. 1797–1807 // DOI: 10.1099/mic.0.000354.

181. Gruel, G. Antimicrobial use and resistance in *Escherichia coli* from healthy food-producing animals in Guadeloupe / G. Gruel, A. Sellin, H. Riveiro, M. Pot, S. Breurec, S. Guyomard-Rabenirina, S. Ferdinand // *BMC Veterinary Research*. – 2021. – № 17(1). – p. 1-10.
182. Hashemnia, M. Pulmonary lesions in slaughtered sheep in Western Iran: gross and histopathological findings / M. Hashemnia, A. Chalechale, E. Malmir // *Veterinaria Italiana*. – 2019. – № 55 (1). – P. 47-56 // DOI: 10.12834/VetIt.785.3795.3.
183. Hassan, A.A. Detection of Biofilm Formed by *E.coli* Isolated from various animal diseases and evaluate its protective role / A.A. Hassan, N.N. Ban // *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* – 2014. – №3 (9). – P. 902-912.
184. Hassan, N. Isolation, Serotyping and In-vitro and In-vivo Antibacterial Sensitivity of *Escherichia coli* Strains Isolated from Diarrheic Lambs in Kashmir / N. Hassan, G.N. Sheikh // *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. – 2017. – № 2 (6). – P. 955-960.
185. Hayati, M. Molecular detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates of chicken origin from East Java, Indonesia / M. Hayati, A. Indrawati, L.P. Mayasari, I. Istiyaningsih, N. Atikah // *Veterinary World*. – 2019. – №12. – P. 578–583.
186. Holmoy, I.H. Early neonatal lamb mortality: postmortem findings / I.H. Holmoy, S. Waage, E.G. Granquist, T.M. L'Abée-Lund, C. Ersdal, L. Hektoen, R. Orby // *Animal*. – 2017. – № 11 (2). – P. 295-305 // DOI: 10.1017/S175173111600152X.
187. Ioannidi, K.S. Clinical, ultrasonographic, bacteriological, cytological and histological findings during uterine involution in ewes with pregnancy toxemia and subsequent reproductive efficiency / K.S. Ioannidi, N.G.C. Vasileiou, M.S. Barbagianni, D.C. Orfanou, T.M. Chouzouris, E. Dovolou, D.C. Chatzopoulos, Karavanis E., Papadopoulos N., G.C. Fthenakis, G.S. Amiridis, V.S. Mavrogianni // *Animal Reproduction Science*. – 2020. – №

- 218 // DOI: 10.1016/j.anireprosci.2020.106460.
188. Javvaji, P.K. An Efficient Nitroblue Tetrazolium Staining and Bright-Field Microscopy Based Method for Detecting and Quantifying Intracellular Reactive Oxygen Species in Oocytes, Cumulus Cells and Embryos / P.K. Javvaji, A. Dhali, J.R. Francis, A.P. Kolte, A. Mech, S.C. Roy, A. Mishra, R. Bhatta // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. – 2020. – № 8. – P. 764 // DOI: 10.3389/fcell.2020.00764.
189. Khan, A. Pathophysiology of peste des petits ruminants in sheep (Dorper & Kajli) and goats (Boer & Beetal) / A. Khan, M.K. Saleemi, F. Ali, M. Abubakar, R. Hussain, R.Z. Abbas, I.A. Khan // *Microbiology Pathogenes*. – 2018. – № 117. – P. 139-147 // DOI: 10.1016/j.micpath.2018.02.009.
190. Kong, Q. Biofilm formed by a hypervirulent (hypermucoviscous) variant of *Klebsiella pneumoniae* does not enhance serum resistance or survival in an in vivo abscess model / Q. Kong, J.M. Beanan, R. Olson, U. Macdonald, A.S. Shon, D.J. Metzger, A.O. Pomakov, T.A. Russo // *Virulence* – 2012. – №3 (3). – P. 309-318. // DOI: 10.4161/viru.20383.
191. Kumar, S. Pathomorphological and microbiological studies in sheep with special emphasis on gastrointestinal tract disorders / S. Kumar, K. K. Jakhar, V. Nehra, M. Pal // *Veterinary world*. – 2015. – №8 (8). – P. 1015-1020 // <https://doi.org/10.14202/vetworld.2015.1015-1020>.
192. Kumar, S. Phylogenetic group and serotype of *E. coli* isolates are important risk factors affecting intensity of colibacillosis in broilers / S. Kumar, R. Gupta, N. Jindal, Y.C. Bangar // *Indian Journal of Animal Research – Haryana* – 2018. – P. 1-7.
193. Kumar, S. Risk factors for antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from poultry in Haryana / S. Kumar, R. Gupta // *Indian Journal of Animal Research – Haryana* – 2019. – P. 1-8.
194. Laureano, F. Pathogen translocation and histopathological lesions in an experimental model of *Salmonella Dublin* infection in calves receiving lactic acid bacteria and lactose supplements / F. Laureano, Z. María, S. Lorena, E.

- Bertozzi, G. Sequeira, M. Luis, S. Marcelo, A. Roberto, R. Marcelo // *Journal of Veterinary Science*. – 2012. – 13. – P. 261-270 // DOI: 10.4142/jvs.2012.13.3.261.
195. Lebeaux, D. From in vitro to in vivo Models of Bacterial Biofilm-Related Infections / D. Lebeaux, A. Chauhan, O. Rendueles, C. Beloin // *Pathogens*. – 2013. – № 2 (2). – P. 288-356 // DOI: 10.3390/pathogens2020288.
196. Lenchenko E. Features of formation of *Yersinia enterocolitica* biofilms / E. Lenchenko, D. Lozovoy, A. Strizhakov, Yu Vatnikov, V. Byakhova, Eu Kulikov, N. Sturov, V. Kuznetsov, V. Avdotin and V. Grishin // *Veterinary World*. – 2019. – Vol. 12(1). – P. 136-140 // DOI: 10.14202/vetworld.2019.136-140.
197. Lenchenko E.M. Aspects of Salmonellosis pathogenesis using chicken models / E.M. Lenchenko, Y.A. Vatnikov, E.V. Kulikov, D.A. Lozovoy, V.A. Gavrilov, L.A. Gnezdilova, V.N. Zimina, V.L. Kuznetsov, V.V. Annikov, I.N. Medvedev, A.V. Petryaeva, T.I. Glagaleva // *Bali Medical journal*. – 2019. – Vol. 8(1). – P. 206-210 // DOI: <https://doi.org/10.15562/bmj.v8i1.920>
198. Lenchenko, E. Poultry Salmonella sensitivity to antibiotics / E. Lenchenko, D. Blumenkrants, Y. Vatnikov, E. Kulikov, V. Khi, N. Sachivkina, L. Gnezdilova, N. Sturov, N. Sakhno, V. Kuznetsov, A. Strizhakov, T. Mansur // *Systematic review pharmacy*. – 2020. – Vol. 11 (2). – P. 170-175 // DOI: [www.doi.org/10.5530/srp.2020.2.26](http://www.doi.org/10.5530/srp.2020.2.26).
199. Lenchenko, E.M. Experimental toxemia of chickens contaminated with *Yersinia enterocolitica* Bacteria / Vatnikov Y.A., Sotnikova E.D., Kulikov E.V. Gnezdilova., L.A., Seleznev S.B., Strizhakov A.A., Kuznetsov V.I. // *Asian Journal of Pharmaceutics*. – 2017. – Vol. 11 (1). – P. 91 – 96 // DOI: <http://dx.doi.org/10.22377/ajp.v11i01.1094>.
200. Lindström, L. Bronchopneumonia in Swedish lambs: a study of pathological changes and bacteriological agents / L. Lindström, F.A. Tauni, K. Vargmar // *Acta veterinaria Scandinavica*. – 2018. – № 60 (1). – P. 54 // DOI: <https://doi.org/10.1186/s13028-018-0409-1>.

201. Mahmoud, S.M. Antibiofilm activity of papain enzyme against pathogenic *Klebsiella pneumoniae* / S.M. Mahmoud, M.S. Khalil, S.M. Walaa, M. Mabrouk // *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. – 2018. – № 6 (8). – P. 163-168 // DOI: 10.7324/japs.2018.8621.
202. Mekibib, B. Prevalence of Pneumonia in Sheep and Goats Slaughtered at Elfora Bishoftu Export Abattoir, Ethiopia: A Pathological Investigation / B. Mekibib, T. Mikir, A. Fekadu, R. Abebe // *Journal of Veterinary Medicine*. – 2019. – № 18 // DOI: 10.1155/2019/5169040.
203. Meyer, B.K. Antimicrobial preservative use in parenteral products: past and present / B.K. Meyer, A. Ni, B. Hu, L. Shi // *Journal of pharmaceutical sciences*. – 2007. – № 96(12). – p. 3155-3167.
204. Monack, D.M. *Salmonella typhimurium* persists within macrophages in the mesenteric lymph nodes of chronically infected *Nramp1*<sup>+/+</sup> mice and can be reactivated by IFN $\gamma$  neutralization / D.M. Monack, D.M. Bouley, S. Falkow // *Journal of Experimental Medicine*. – 2004. – № 2 (199). – P. 231-241 // DOI:10.1084/jem.20031319.
205. Mouali, Y.E. Stand-Alone EAL Domain Proteins Form a Distinct Subclass of EAL Proteins Involved in Regulation of Cell Motility and Biofilm Formation in Enterobacteria / Y.E. Mouali, K. Hyunhee, A. Irfan, A. Brauner, L. Ying, M. Skurnik, M.Y. Galperin, U. Römlinga // *Journal of Bacteriology*. – 2017. – №18 (199). – 17 p. // DOI: <https://doi.org/10.1128/JB.00179-17>.
206. Nagata, T. Effect of erythromycin on chronic respiratory infection caused by *Pseudomonas aeruginosa* with biofilm formation in an experimental murine model / T. Nagata, H. Mukae, J. Kadota, T. Hayashi, T. Fujii, M. Kuroki, R. Shirai, K. Yanagihara, K. Tomono, T. Koji, S. Kohno // *Antimicrob Agents Chemother*. – 2004. – № 6 (48). – P. 2251-2259. // DOI:10.1128/AAC.48.6.2251-2259.2004.
207. Nawras, K.M. Clinical and immunological effects of experimental infection with *Klebsiella pneumoniae* in lambs in Iraq // K.M. Nawras, J. Radi, K. Hamdan, Z. Fouad // *Al-Qadisiyah Journal of Veterinary Medicine Sciences*.

- 2018. – № 1 (17) // DOI:10.29079/vol17iss1art471.
208. Newman, S.J. Meconium aspiration pneumonia and otitis media in two goat kids / S.J. Newman, O.O. Fasina // *Journal of Veterinary Diagnostic*. – 2019. – № 31 (3). – P. 463-466 // DOI: 10.1177/1040638719834602.
209. Nidaullah, H. Prevalence of *Salmonella* in poultry processing environments in wet markets in Penang and Perlis, Malaysia / H. Nidaullah, N. Abirami, A.K. Shamila-Syuhada, L.O. Chuah, H. Nurul, T.P. Tan, F.W. Abidin, G. Rusul // *Veterinary World* – № 10 (3). – P. 286-292 // DOI: 10.14202/vetworld.2017.286-292.
210. Ormsby, M.J. Propionic acid promotes the virulent phenotype of Crohn's disease-associated adherent-invasive *Escherichia coli* / M. J. Ormsby, S.A. Johnson, L.M. Meikle, R.J. Goldstone, A. McIntosh, H.M. Wessel, H.E. Hulme, C.C. McConnachie, J.P. Connolly, A.J. Roe, C. Hasson, J. Boyd, E. Fitzgerald, K. Gerasimidis, D. Morrison, G. Hold, R. Hansen, D.E. Smith, D.M. Wall // *bioRxiv*. – 2018. – P. 1-24. // DOI: <https://doi.org/10.1101/387647>.
211. Ostapska, H. Deacetylated microbial biofilm exopolysaccharides: It pays to be positive / H. Ostapska, P.H. Lynne, D.C. Sheppard // «*PLoS Pathogenes*». – 2018. – №12 (14). – P. 1-8 // DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007411>.
212. Sachivkina, N. The Evaluation of formation of biomembrane by microscopic Fungi of the *Candida* Genus / N. Sachivkina, E. Lenchenko, A. Strizakov, V. Zimina, L. Gnesdilov, V. Gavrilov, V. Byakhova, S. Germanova, A. Zharov, M. Molchanova // *International Journal of Pharmaceutical Research*. – 2018. – Vol. 10 (4). – P. 738-744. // DOI: [www.doi.org/10.31838/ijpr/2018.10.04.128](http://www.doi.org/10.31838/ijpr/2018.10.04.128).
213. Shi, C. Combination of berberine and ciprofloxacin reduces multi-resistant *Salmonella* strain biofilm formation by depressing Mrna expressions of *luxS*, *rpoE*, and *ompR* / C. Shi, M. Li, I. Muhammad, X. Ma, Y. Chang, R. Li, C. Li, J. He, F. Liu // *Journal of Veterinary Science*. – 2018. – Vol. 19(6). – P. 808-816.

214. Sukanta, K.S. Bacteriological and histopathological investigation of pneumonia in black bengal goat / K.S. Sukanta, R.C. Mohammed, M.E. Elahi, A.B. Siddique // Journal of Dairy & Veterinary Sciences. – 2018. – № 4 (6) // DOI: 10.19080/JDVS.2018.06.555695.
215. Sushma, V. Aetio-Pathological studies of digestive and respiratory affections in lambs / V. Sushma, V. Nehra, K. Jakhar // The Pharma Innovation Journal. – 2018. – № 5 (7). – P. 100-105.
216. Usha B. Cluster system of veterinary and sanitary education to ensure biological safety of the environment and animal products / B. Usha, E. Lenchenko, V. Lucay, S. Kontsevaya, E. Pavlova // Proceedings of edulearn. – 2018. – Vol. 18. – P. 10671-10676.
217. WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015. World Health Organization, 2015.
218. Xiaofan, J. Biofilm Lithography enables high-resolution cell patterning via optogenetic adhesin expression / J. Xiaofan, H.R. Ingmar // National Academy of Sciences. – 2018. – №14 (115). – P. 3698-3703 // DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1720676115>.
219. Yin, W. In vitro observation: the GFP-E. coli adhering to porcine erythrocytes can be removed by porcine alveolar macrophages / W. Yin, C. Wang, K. Fan, N. Sun, Y. Sun, H. Li // Peer Journal. – 2019. – № 7 // DOI: 10.7717/peerj.6439.