

На правах рукописи



**ТАТАРИНОВА Саргылана Степановна**

**ПРИМЕНЕНИЕ ШТАММОВ *BACILLUS SUBTILIS*  
В ПРОФИЛАКТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ ПОСЛЕРОДОВЫХ  
ЭНДОМЕТРИТОВ У КОРОВ**

16 00 03 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,  
микология с микотоксикологией и иммунология

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

Якутск 2007

Работа выполнена в ГНУ Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства Россельхозакадемии

Научный руководитель доктор ветеринарных наук, профессор  
**Неустров Михаил Петрович**

Научный консультант доктор ветеринарных наук,  
старший научный сотрудник  
**Тарабукина Надежда Петровна**

Официальные оппоненты доктор ветеринарных наук, профессор  
**Павлова Александра Иннокентьевна**

кандидат ветеринарных наук,  
старший научный сотрудник  
**Степанов Константин Максимович**

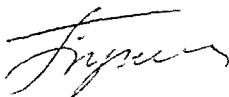
Ведущая организация ГНУ Институт экспериментальной  
ветеринарии Сибири и Дальнего Востока  
Россельхозакадемии

Защита состоится «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2007 г в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета К 220 071 01 при ФГОУ ВПО «Якутская государственная сельскохозяйственная академия» (677007, г Якутск, ул Красильникова, 15)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Якутская государственная сельскохозяйственная академия»

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2007 г

Ученый секретарь  
диссертационного совета



В Ф Бутковский

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Успешное развитие скотоводства во многом зависит от воспроизводительной функции коров и максимальной сохранности новорожденных телят. Основными причинами возникновения акушерских и гинекологических болезней у коров являются несбалансированное кормление (дефицит в рационах витаминов, макро- и микроэлементов, белка и углеводов), скармливание недоброкачественных кормов, пораженных грибами, содержащих афлатоксины, нитриты, соли тяжелых металлов, неправильное содержание (полное отсутствие или ограниченные моцион, недостаточность ультрафиолетового облучения, помещений для коров в сухостойный период, сменных родильных отделений, нарушение правил машинного доения, преждевременное использование молодых животных). Все эти неблагоприятные факторы вызывают нарушение обмена веществ, эндокринную недостаточность, гормональные расстройства. Вследствие этого снижается резистентность организма, что создает благоприятные условия для развития условно-патогенной и патогенной, а также неспецифической микрофлоры, которая в нормальных условиях не причиняет вреда (И. Ф. Заянчковский, 1964, В. С. Шипилов, 1977, Н. Н. Михайлов, И. Я. Чистяков, 1987, Т. Е. Григорьева, 1988, А. С. Терешенков и др., 1990, В. Ф. Воскобойник, Г. Г. Козлов, 1991, В. Т. Самохин, 1994, А. П. Студенцов с соавт., 2000).

Большинство применяемых в настоящее время способов и методов терапии и профилактики бесплодия, маститов предусматривают широкое использование антимикробных препаратов. Применение вышеперечисленных методов может привести к неблагоприятным последствиям: снижению качества животноводческой продукции (молока и мяса), появлению лекарственно устойчивых штаммов микроорганизмов, аллергических реакций и дисбактериозов у животных и человека. Поиску эффективных средств для лечения и профилактики гинекологических болезней животных, посвящены многочисленные исследования, но отдельные аспекты данной проблемы до конца не решены (А. Г. Нежданов, 1994, С. Н. Слипченко, Л. Д. Тимченко, 1994, А. И. Кузип и др., 2002, А. В. Андреева, 2003).

В последнее время в ветеринарии ведутся исследования по изысканию и разработке нового поколения экологически безопасных препаратов на основе зубоитических микроорганизмов, способных занять свое место в системе мероприятий по обеспечению сохранения здоровья и повышения продуктивности животных (П. И. Жданов, В. М. Мешков, А. И. Лепский, 2000, И. Н. Зюбин, 2001, А. И. Кузип, Г. В. Борисова, Д. В. Губанов, 2002, А. В. Андреева, 2002, О. Н. Преображенский, 2002, Г. А. Ноздрин с соавт., 2005).

В условиях Крайнего Севера экстремальные климатические условия ведения животноводства обуславливают частоту и тяжесть болезней органов воспроизводства, сдерживающих увеличение поголовья и способствующих

снижению качества продукции животноводства Поиск безопасных и эффективных средств, методов профилактики и лечения болезней органов воспроизводства остается актуальной задачей ветеринарной медицины

**Цель и задачи исследований.** Целью исследования является разработка мер профилактики послеродовых осложнений коров в условиях Республики Саха (Якутия) с использованием эубиотических микроорганизмов

Для достижения цели ставились следующие задачи

анализ акушерско-гинекологических болезней крупной орогатого скота в Республике Саха (Якутия) за последние 10 лет,

изучение микрофлоры влагалищно-цервикальной слизи коров с нормальным течением родов и с послеродовыми осложнениями,

изучение влияния пробиотика «Сахабактисубтил» и культуральной жидкости штамма бактерий *Bacillus subtilis* «ТНП-3» на течение послеродового периода коров в условиях Якутии,

разработка схемы применения пробиотика «Сахабактисубтил» и культуральной жидкости штамма бактерий *Bacillus subtilis* «ТНП-3» для нормализации микробиоценоза половых органов у коров

**Научная новизна.** Впервые в условиях Республики Саха (Якутия) изучен видовой состав микрофлоры влагалища коров при нормальном течении отела и послеродовых патологиях. Доказано, что парентеральное введение культуральной жидкости штамма бактерии *Bacillus subtilis* «ТНП-3» не только повышает иммунологическую реактивность, но и корректирует вагинальный и кишечный микробиоценоз, тем самым способствует профилактике послеродовых осложнений. Определены оптимальные дозы и схемы применения пробиотика «Сахабактисубтил» и культуральной жидкости штамма бактерий *Bacillus subtilis* «ТНП-3» для профилактики послеродовых патологий коров. Впервые предложен метод инфракрасной сушки для одновременного сочетания обезвоживания и сохранения концентрации микробных клеток в пробиотике «Сахабактисубтил» на сорбенте-носителе. Подготовлены и представлены в Федеральном институте промышленной собственности заявки на патент «Способ профилактики послеродовых осложнений коров» с приоритетом от 23.03.2006 за № 2006109303, «Способ профилактики эндометритов коров», «Способ лечения эндометритов коров»

**Практическая значимость.** Разработаны и опубликованы методические рекомендации «Штаммы *Bacillus subtilis* в профилактике послеродовых осложнений коров», утвержденные Ученым Советом ГНУ ЯНИИСХРАСХН. Предложены способы профилактики нарушений микробиоценоза у коров с применением пробиотика «Сахабактисубтил» и культуральной жидкости штамма бактерий *Bacillus subtilis* «ТНП-3», которые повышают иммунологическую реактивность организма, корректируют вагинальный и кишечный состав микрофлоры стельных коров, тем самым способствуют предотвращению послеродовых гинекологических осложнений

**Апробация работы.** Материалы диссертационной работы доложены на заседаниях Ученого Совета Якутского НИИСХ РАСХН (2003-2006), ежегодных аспирантских чтениях, совете молодых ученых и сотрудников института (2004-2006), научной конференции молодых ученых СО РАСХН «Новейшие направления развития аграрной науки в работах молодых ученых» (Новосибирск, 2004), Сибирском международном ветеринарном конгрессе «Актуальные вопросы ветеринарной медицины» (Новосибирск, 2005), на республиканской научно-практической конференции «Безопасность жизнедеятельности в Республике Саха (Якутия)» (Якутск, 2006)

**Публикация результатов исследований.** По теме диссертации опубликовано 5 работ в сборниках научных трудов ГНУ ЯНИИСХ РАСХН, материалах республиканских, российских и международных научных конференций, в журнале «Зоотехния»

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 136 страницах. Состоит из введения, обзора литературы, материалов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических предложений, списка литературы и приложения. Иллюстрирована 25 таблицами и 1 графиком. Список использованной литературы включает 227 источников, в том числе 33 – иностранной литературы

**Основные вопросы, выносимые на защиту:**

- результаты изучения вагинального микробиоценоза коров с нормальным течением отела и с послеродовыми осложнениями,
- результаты изучения влияния пробиотика «Сахабактисубтил» и культуральной жидкости штамма бактерий *Bacillus subtilis* «ГНП-3» на течение послеродового периода коров в условиях Якутии,
- материалы по разработке схемы применения культуральной жидкости штамма бактерий *Bacillus subtilis* и пробиотика «Сахабактисубтил» для коррекции микробиоценоза гениталий у коров в Республике Саха (Якутия)

## **СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **Материалы и методы**

Диссертационная работа выполнена в 2004-2006 гг. на базе лаборатории по разработке микробных препаратов Якутского научно-исследовательского института сельского хозяйства Россельхозакадемии. Опыты проведены на стельных коровах в опытно-производственном хозяйстве «Покровское», СХПК «Харасское». Животные были подобраны по принципу аналогов, содержались в типовых коровниках.

Анализ статистических данных по акушерско-гинекологическим болезням коров по Республике Саха (Якутия) составлен по отчетным данным

Департамента ветеринарии МСХ РС (Я) с 1995 по 2005 год

От отелившихся коров взяты пробы крови, влагалищно-цервикальная слизь и фекалии для гематологических и микробиологических исследований Слизь из влагалищно-цервикального канала коров для бактериологического исследования взята по методике Н Н Михайлова с соавт (1967) и доставлялась в лабораторию в течение 3-х часов

При микробиологическом исследовании использованы общепринятые методы Родовая и видовая идентификация выделенных микроорганизмов проводилась согласно «Справочнику по микробиологическим и вирусологическим методам исследований» (1982), «Определителю зоолагоденных микроорганизмов» (1995), «Определителю бактерий Берджи» (1997) Для вирусологических исследований материал доставлялся в Якутскую республиканскую ветеринарно-испытательную лабораторию При микологических исследованиях грибов, выделенных из влагалищно-цервикальной слизи, использованы «Методы исследования в ветеринарной микологии» (В В Курасова, Л С Малиповская, 1971), «Лабораторная диагностика микотоксикозов» (А Ф Кузнецов, М Г Ковальская, Е Н Софронов, 1989)

При исследовании вагинального микробиоценоза использованы питательные среды, приготовленные по общепринятому ГОСТ-у MRS для лактобактерий, ГМС для учета бифидобактерий, среда с азидом натрия для энтерококков, среда Байрд-Паркера для учета стафилококков, среда для псевдомонасов, среда с бромтимоловым синим для иерсиний, скопленный МПА для выделения протей по Щукевичу Выделение микроскопических грибов проведено методом непосредственного посева в агаровую среду, в качестве которой использованы среды Сабуро и Чапека Для спорообразующих бактерий (после прогрева до 80°С в течение 15 минут) использован МПА При посеве применен метод разведений Подсчет выросших колоний проводился в счетчике колоний, окраску мазков проводили по Граму Учет результатов посева проведен через 18 - 24 часа для бактерий, а для грибов до 5 суток

Для выделения чистых культур использован метод непосредственного посева

Определение количества гемоглобина, эритроцитов, бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови проводили согласно методическим рекомендациям, разработанными М П Неустроевым, В И Мальшевой (1995), а также использовали методики, разработанные П Н Никаноровым (1979), П А Емельяненко с соавт., (1980), П Н Смирновым с соавт., (1989)

Биохимические исследования на содержание общего белка и его фракции, каротина, кальция, фосфора, магния проводились в лаборатории биохимии и массового анализа ЯНИИСХ. Анализы проведены на спектральном анализаторе NIRSCANER model LCE 4250, производства США

В опытах использован пробиотический препарат «Сахабактисубтил», изготовленный на основе штаммов бактерий *Bac subtilis* «ТНП-3» и *Bac subtilis* «ТНП-5», согласно ТУ 9384-003-00670203-06

Культуральная жидкость из штамма бактерий *Bac subtilis* «ТНП-3» получена следующим путем культивирования на мясо-пептонном бульоне при температуре 37°C в течение 5-7 суток, затем центрифугирование при 7000 об/мин в течение 15 мин и фильтрация

Полирибонат применяли согласно «Наставлению по применению полирибоната в ветеринарии в качестве иммуномодулятора» (утвержден Департаментом ветеринарии Минсельхоза РФ № 13-4-03/0060 от 26.04.01 г.)

Изучение антагонистических свойств микроорганизмов проведено методом диффузии в агар, антибиотикоустойчивость – методом дисков

Экономическую эффективность предлагаемого способа профилактики послеродовых патологий рассчитывали по «Методике определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий», утвержденной Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода России 21 февраля 1997 г.

Экспериментальные данные подвергли статистической обработке с помощью критерия Стьюдента-Фишера (1988)

В экспериментальной работе использовано 786 коров, 950 проб влагалищно-цервикальной слизи от опытных и контрольных групп животных, 180 проб крови и 280 проб фекалий. Проведено 1410 бактериологических, микологических, микроскопических, гематологических и биохимических исследований

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

### **1. Анализ акушерско-гинекологических болезней коров в Республике Саха (Якутия)**

По отчетным данным Департамента ветеринарии МСХ РС(Я) с 1995–2005 гг. по акушерско-гинекологическим заболеваниям у коров регистрируются гипофункция, гипотрофия, атрофия, кисты яичников, задержание последа, эндометриты

Изучение эпизоотологических данных показывает, что из инфекционных болезней, проявляющихся поражением половых органов (абортами) крупного рогатого скота, sporadически регистрируются инфекционный ринотрахеит, респираторно-синцитиальная инфекция и хламидиоз

Заболеваемость крупного рогатого скота инфекционным ринотрахеитом с каждым годом идет к уменьшению, так как улучшаются лабораторная диагностика, ветеринарно-профилактические мероприятия. По результатам исследований Якутской ветеринарно-испытательной лаборатории, заболеваемость респираторно-синцитиальной инфекцией крупного рогатого скота имеет тенденцию к распространению. Положительно реагирующие животные регистрируются в количестве 0,09 - 9% от числа исследованных. Неблагополучная эпизоотологическая ситуация по республике была по

хламидиозному аборту коров, но в последние годы количество положительно реагирующих животных уменьшилось от 66,6% до 7,7%

В последнее десятилетие от общего маточного поголовья коров по республике отел составляет в среднем  $70,9 \pm 3,51\%$ , при этом гинекологической диспансеризацией охватывается только  $22,0 \pm 1,73\%$  коров. Ежегодно с гинекологическими заболеваниями в послеродовом периоде выявляется, в среднем 6498,1  $\pm$  36,9 больных коров, что составляет  $24,16 \pm 2,03\%$  от отела. От общего количества гинекологических больных самый высокий процент приходится на задержание последа с последующим развитием эндометрита —  $65,0 \pm 3,6\%$

Также, по данным Якутской ветеринарно-испытательной лаборатории в 2004–2005 гг. при микологическом исследовании 127 проб абортированных плодов выявлены токсигенные грибы родов *Aspergillus* (71,0%) и *Mucor* (39,0%)

Таким образом, анализ статистических данных по акушерско-гинекологическим заболеваниям коров по Республике Саха (Якутия) за последнее десятилетие показывает, что основное место среди акушерско-гинекологических заболеваний занимают послеродовые гинекологические осложнения, как задержание последа с последующим развитием эндометритов

## **2. Результаты изучения влагалищного микробиоценоза коров в условиях Якутии**

### **2.1. Микрофлора влагалищно-цервикальной слизи коров с нормальным течением отела**

В период массового отела нами проведены исследования вагинальной микрофлоры коров в ОПХ «Покровское», СХПК «Хатаское». Для исследований были отобраны коровы с нормальным течением родов в период инволюции.

Результаты проведенных исследований показали, что у клинически здоровых коров с нормальным течением родов, в основном, в количественном отношении преобладают спорообразующие аэробные бактерии рода *Bacillus* (до 33092,0  $\pm$  109,50 м.к. в 1 мл слизи), заметно уступают им лактобактерии (до 222,7  $\pm$  15,2 м.к.), также энтерококки (до 208,3  $\pm$  8,3 м.к.). С первых дней после отела в небольшом количестве регистрируются бифидобактерии. Отмечено постоянное присутствие представителей условно-патогенной микрофлоры протей и стафилококков (до 597,0  $\pm$  5,5 м.к.). В первые три дня после отела во влагалищной слизи коров регистрируются дрожжеподобные грибы, также следует указать, что с десятого дня во влагалищном секрете отмечено единичное присутствие колоний плесневых грибов рода *Aspergillus*.

Таким образом, в условиях Якутии у здоровых коров с нормальным течением родов в первые три дня после отела во влагалищном секрете преобладают бактерии рода *Bacillus*, заметно им уступают лакто- и бифидобактерии, отмечено



присутствие дрожжеподобных грибов рода *Candida* и представителей условно-патогенной микрофлоры (протеи, непатогенные стафилококки)

## **2.2. Микрофлора влагалищно-цервикальной слизи коров с послеродовыми осложнениями**

Изучение микрофлоры влагалищно-цервикальной слизи коров с послеродовыми осложнениями проводилось также в период массового отела в ОПХ «Покровское» и СХПК «Хатасское»

Животные содержались в типовых коровниках. Условия содержания и кормления были одинаковыми. Диагноз на эндометрит ставился на основании анамнестических данных и клинических симптомов болезни, которые проявлялись чаще всего на 5-7-ой день после отела

Во влагалищной микрофлоре коров с послеродовыми осложнениями, также доминируют спорообразующие аэробные бактерии (до  $3050,0 \pm 150,0$  м.к. в 1 мл слизи), хотя в количественном отношении их в 10 раз меньше, чем в микрофлоре здоровых коров. Отмечено очень малое количество бифидо- и лактобактерий ( $15,0 \pm 5,0$  м.к. в 1 мл слизи), эшерикококков ( $670,0 \pm 23,0$  м.к.), увеличение количества условно-патогенных микроорганизмов, особенно патогенных стафилококков (до  $3210,0 \pm 255,5$  м.к.), энтерихий ( $147,93 \pm 1,12$  м.к.), присутствие иерсиний и протей. Следует отметить, что в отличие от микрофлоры коров с нормальным отелом, у коров с послеродовыми осложнениями с первых дней присутствуют несколько видов токсигенных грибов рода *Aspergillus* и *Mucor*: *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *Mucor* и *Rhizopus*

Таким образом, при микробиологическом исследовании влагалищно-цервикального секрета коров с послеродовыми осложнениями установлено явление дисбактериоза: увеличение количества энтерихий, патогенных стафилококков, наличие токсигенных грибов *Aspergillus*, присутствие иерсиний, протей. В то же время наблюдается снижение содержания количества бифидобактерий, лактобактерий и спорообразующих аэробных бактерий

## **2.3. Микологические исследования влагалищно-цервикальной слизи коров с послеродовыми осложнениями**

В результате микологических исследований выделены микроскопические грибы, отнесенные к 2 типам *Ascomycota* и *Zygomycota*, 5 родам, 4 видам

От коров с нормальным течением послеродового периода были выделены грибы рода *Aspergillus*, *Mucor*, *Candida*, которые встречаются по одному виду: *A. flavus*, или *M. racemosus*, или *Candida albicans*. У коров с послеродовыми осложнениями встречаются ассоциация нескольких видов грибов – *M. racemosus*, *M. ramosissimus*, *Rhizopus microsporum var. rhizopodiformis*, *A. fumigatus* Fresenius, *A. nidulans*, *A. flavus* Link, *A. niger*. Полученные данные указывают на роль грибов как возбудителей вагинальных инфекций

#### **2.4. Идентификация видов бактерий рода *Bacillus*, выделенных из микрофлоры влагалища коров**

Нами проведена идентификация спорообразующих аэробных бактерий, которые доминируют в количественном отношении в микробиоценозе половых органов коров в условиях Якутии. Получены чистые культуры спорообразующих аэробных бактерий, выделенных из влагалищно-цервикальной слизи коров в норме и послеродовыми осложнениями. Всего выделено 19 штаммов. В основу схемы идентификационных признаков положены принципы, изложенные в работах R. Gordon (1973), автор систематики бактерий рода *Bacillus* в последних изданиях «Определителя бактерий Bergey».

Все 19 штаммов бактерий рода *Bacillus* – палочковидные бактерии, аэробы, которые образуют споры, положительно окрашиваются по Граму. Все штаммы подвижны, продуцируют каталазу, при росте на МПА почти все выдерживают присутствие хлористого натрия до 7%, не образуют лецитиназу и несколько отличаются по гидролизу крахмала, разложению казеина, образованию оксидазы и ацетилметилкарбинола и по разложению ряда сахаров. На основании результатов изучения физиолого-биохимических свойств определены до видов.

Известно, что виды бактерий рода *Bacillus* распределены в три морфологические группы. От коров с нормальным течением родового и послеродового периода выделены *Bac megaterium*, *Bac pumilus*, *Bac coagulans*, *Bac firmus*, *Bac laterosporus*, *Bac brevis*, *Bac alvei*. Из них 52,6% относятся к I группе, а 42,1% к II группе.

От коров с послеродовыми осложнениями выделены *Bac coagulans*, *Bac pumilus*, *Bac laterosporus*, *Bac alvei*, *Bac stearothermophilus*. Из них – 71,4% относятся к II группе, 14,2% к I группе.

Обобщение полученных данных показывает, что от здоровых коров выделены бактерии рода *Bacillus* (в количественном отношении) в основном относящиеся к I группе (52,6%), а от больных – к II группе (71,4%).

Следует отметить, что идентификация спорообразующих аэробных бактерий не показывает существенной разницы в видовом составе бактерий рода *Bacillus* в микрофлоре половых путей здоровых и больных эндометритами коров в условиях Якутии.

#### **2.5. Антибиотикоустойчивость бактерий рода *Bacillus*, выделенных из влагалищно-цервикальной слизи коров в норме и с послеродовыми осложнениями**

В опытах по изучению антибиотикоустойчивости испытали чувствительность 19 штаммов бактерий рода *Bacillus*, выделенных из влагалищно-цервикальной слизи коров, к разным видам антибиотиков, относящихся к группе полипептиды (полимиксин), аминогликозиды (канамицин, неомицин), цефалоспорины (цефоперазон, цефуроксим), нитрофураны (фурадонин), тетрациклины (тетрациклин).

Штаммы спорообразующих аэробных бактерий, выделенные из микрофлоры влагалища коров с нормальным течением отела и послеродового периода, в основном 72,7%-100% антибиотикоустойчивы, наиболее чувствительны к неомицину. Штаммы, выделенные от коров с послеродовыми осложнениями, более чувствительны к воздействию антибиотиков из группы аминогликозидов и цефалоспоринов.

Следует особо отметить устойчивость спорообразующих бактерий, выделенных из половых путей коров к тетрациклину и фурадонину, которые наиболее часто применяются при акушерско-гинекологических заболеваниях в скотоводческих хозяйствах Якутии. Таким образом, полученные результаты исследований необходимо учитывать при лечении послеродовых осложнений коров.

## **2.6. Антагонистические свойства спорообразующих аэробных бактерий рода *Bacillus*, выделенных из вагинальной микрофлоры**

Изучена антагонистическая активность спорообразующих аэробных бактерий *Bac megaterium*, *Bac pumilus*, *Bac brevis*, выделенных из вагинальной микрофлоры от здоровых коров, по отношению к токсигенным грибам рода *Aspergillus*, которые часто регистрируются в вагинальной микрофлоре коров с послеродовыми осложнениями.

Антагонистическую активность штаммов бактерий *Bacillus* определяли методом диффузии в агар на средах Чапека и МПА. В качестве тест-культур использованы плесневые грибы рода *Aspergillus*, выделенные из вагинальной микрофлоры коров. Для сравнения антагонистической активности вышеуказанных штаммов использованы паспортизированные в ВГНКИ ветпрепараты (2000) природные штаммы *Bac subtilis* «ТНП-3» и *Bac subtilis* «ТНП-5».

Как показали результаты проведенных опытов, штаммы *Bac megaterium*, *Bac pumilus*, *Bac brevis*, выделенные из вагинальной микрофлоры, обладают слабыми антагонистическими свойствами по отношению к токсигенным грибам *A niger*, *A flavus*, *A fumigatus*, по сравнению с паспортизированными штаммами бактерий *Bac subtilis* «ТНП-3» и *Bac subtilis* «ТНП-5».

На основании проведенных исследований при разработке мер профилактики и лечения послеродовых осложнений целесообразнее применение штаммов бактерий *Bac subtilis* «ТНП-3» и *Bac subtilis* «ТНП-5», как наиболее эффективных по отношению к токсигенным грибам, присутствующим в вагинальной микрофлоре коров с эндометритами.

## **3. Разработка способов профилактики послеродовых осложнений коров**

### **3.1. Испытание культуральной жидкости штамма бактерий *Bac. subtilis* «ТНП-3» и иммуностимулирующего препарата полирибоната стельных коровам в целях профилактики послеродовых осложнений**

С целью профилактики послеродовых осложнений стельных коров был

испытан штамм бактерий *Bac subtilis* «ТНП-3» (культуральная жидкость), для сравнения с пим-полирибонат

Производственный опыт проведен в СХПК «Хатасское» на стельных коровах за 40–60 дней до отела. Животных делили на 3 группы:

Первая группа состояла из 41 коровы, к которой вводили полирибонат внутримышечно по 1,5 мл, через каждые 10 дней, 3 раза в месяц.

Вторая группа – из 38 коров, которым вводили культуральную жидкость штамма бактерии *Bac subtilis* «ТНП-3» подкожно, по 2 мл через каждые 10 дней, 3 раза в месяц.

Контрольная группа – из 36 коров, которые пренараг не получали.

За животными установили ежедневное наблюдение, исследовали кровь, вагинально-цервикальная слизь на 2–4-ый день после отелов.

По результатам проведенных исследований, в первой опытной группе (41 гол), где внутримышечно вводился полирибонат, наблюдались единичные аборт – 1 гол (2,4%), задержание последа – 1 гол (2,4%), эндометриты – 1 гол (2,4%). У второй опытной группы животных (38 гол), получавшей культуральную жидкость штаммов бактерий *Bac subtilis* «ТНП-3», аборт и послеродовые осложнения не отмечены. В контрольной группе (36 гол) наблюдались аборт – 2 гол (5,5%), задержание последа – 3 гол (8,3%), эндометриты – 4 гол (11,0%).

Наиболее оптимальный вагинальный микробиоценоз отмечен во второй опытной группе животных, которым вводили культуральную жидкость штамма бактерий *Bacillus subtilis* «ТНП-3». Так, количество представителей нормальной микрофлоры бифидо-и, особенно, лактобактерий (3430 мк в 1 мл слизи) больше, чем в первой опытной группе – в 34,3 раза, а в сравнении с контрольной – в 80,5 раз. Также отмечено снижение содержания условно-патогенных микроорганизмов (эшерихий, стафилококков), отсутствие токсигенных грибов, наличие которых наблюдалось в первой опытной и контрольной группах животных.

Выраженный дисбактериоз вагинальной микрофлоры отмечается у контрольной группы животных – очень малое количество представителей нормофлоры, превалирование условно-патогенных микроорганизмов (протеи, эшерихии), патогенных стафилококков (до 10620 мк в 1 мл слизи), разновидностей токсигенных грибов рода *Aspergillus*. Резко увеличилось количество спорообразующих аэробных бактерий (до 26500 мк в 1 мл слизи), что в 4,07 раза больше, чем в горой и в 1,6 раз – чем в первой опытных группах.

По результатам гематологических исследований установлено, что у коров обработанных полирибонатом и во в горой опытной группе, обработанных культуральной жидкостью штамма бактерий *Bac subtilis* «ТНП-3» достоверно повысилось количество лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, а также бактерицидной и лизоцимной активности по сравнению с контрольной группой.

Анализируя результаты проведенных опытов, можно заключить, что

парентеральное введение культуральной жидкости штамма бактерии *Bacillus subtilis* «ТНП-3» стельным коровам не только способствует повышению резистентности организма, но и создает благоприятные условия для развития нормальной микрофлоры и предотвращает дисбактериоз половых путей, тем самым способствует профилактике абортот и послеродовых осложнений

Введение полирибонуклеотида стельным коровам показало, что его применение повышает иммунобиологический статус, но не корректно микрообцененоз животных и недостаточно эффективно в профилактике послеродовых патологий

На основании результатов проведенных опытов приходим к выводу, что наиболее эффективным для профилактики послеродовых осложнений у коров является парентеральное введение культуральной жидкости штамма бактерий *Bacillus subtilis* «ТНП-3»

### **3.2. Производственные испытания культуральной жидкости штамма бактерий *Bacillus subtilis* «ТНП-3» для профилактики послеродовых осложнений коров**

Проведены производственные испытания по применению культуральной жидкости штамма бактерий *Bacillus subtilis* «ТНП-3» в СХПК «Хатасское» за 1,5-3 месяца до отела на 250 стельных коров. Животных разделили на 2 группы: опытная (137 гол) и контрольная (113 гол). Коровам опытной группы до отела подкожно вводили культуральную жидкость штамма бактерий *Bacillus subtilis* «ТНП-3» по 2 мл 1 раз в 10 дней, трехкратно, 3 раза в месяц. Контрольной группе не вводили. Для исследования взяты кровь, влагалищно-цервикальный слизь, фекалии после отела.

При исследовании вагинального микрообцененоза после отела у коров опытной группы выявлено преобладание представителей нормальной микрофлоры: лактобактерии ( $53,03 \pm 0,51$  тыс. м.к.) в 3,87 раз, бифидобактерии на 3 порядка, спорообразующих аэробных бактерий ( $1,40 \pm 0,07$  тыс. м.к.) в 1,52 раза больше, в то же время потенциальных энтеропатогенов: лактозонегативных ( $7,31 \pm 0,36$  тыс. м.к.) в 1,49 раз, энтерококков ( $0,35 \pm 0,024$  тыс. м.к.) в 1,2 раза, стафилококков ( $0,17 \pm 0,025$  тыс. м.к.) – в 2 раза ниже по сравнению с контрольной группой. Также у коров опытной группы по сравнению с контрольной группой количество видов токсигенных грибов заметно меньше.

Следовательно, применение культуральной жидкости штамма бактерий *Bacillus subtilis* «ТНП-3» стельным коровам способствует нормализации вагинальной микрофлоры, повышает содержание лакто- и бифидобактерий, спорообразующих аэробных бактерий, снижает количество энтеробактерий, стафилококков, энтерококков и патогенных грибов.

Также, подкожное введение культуральной жидкости штамма бактерий *Bacillus subtilis* «ТНП-3» способствует устранению дисбактериоза кишечника, увеличению содержания лактобактерий ( $833,3$  м.к. в 1 мл слизи), когда как у контрольных они отсутствуют. Количество энтерихий у опытных животных ( $81,33 \pm 2,47$  м.к.) меньше в 1,81 раз, чем у контрольных, энтерококков

( $47,5 \pm 2,47$  мк) ниже в 2,49 раз, а спорообразующих аэробных бактерий у опытных коров ( $2913,5 \pm 65,32$  мк) в 2,83 раза больше, чем у контрольных. У контрольных животных присутствуют стафилококки ( $110,1 \pm 6,80$  мк), а у опытных они не обнаружены. Количество видов гоксигенных грибов меньше у опытных коров. Из этого можно сделать вывод, что применение культуральной жидкости штамма бактерий *Bacillus subtilis* «ТНП-3» коровам до отела положительно влияет на кишечный микробиоценоз.

Результаты производственных испытаний показали, что введение культуральной жидкости штамма бактерий *Bacillus subtilis* ТНП-3 предотвращает послеродовые осложнения у 95,7% обработанных животных.

Таким образом, проведенные производственные испытания подтвердили эффективность применения культуральной жидкости штамма бактерий *Bacillus subtilis* «ТНП-3» для профилактики послеродовых осложнений коров.

По результатам испытаний культуральной жидкости штамма бактерий *Bacillus subtilis* «ТНП-3» для профилактики послеродовых осложнений у коров подготовлена и представлена в Федеральный институт промышленной собственности заявка на патент «Способ профилактики послеродовых осложнений коров» с приоритетом от 23.03.2006 г. за № 2006109303.

### **3.3. Разработка способа инфракрасной сушки пробиотика на сорбентах-носителях**

В практике скотоводства довольно трудоемко пероральное применение животным жидких препаратов, поэтому одной из задач наших исследований являлась апробация инфракрасной сушки (ИК-с) для обезвоживания пробиотика «Сахабактисубтил», адсорбированного на носителях, с одновременным сохранением исходного количества микробных клеток.

В опытах использован пробиотический препарат «Сахабактисубтил». Препарат изготовлен на основе штаммов бактерии *Bac. subtilis* «ТНП-3» и *Bac. subtilis* «ТНП-5», выделенных из мерзлотных почв Якутии (ТУ 9384-003-00670203-06), инструкция по его применению для профилактики и лечения дисбактериозов новорожденных телят и поросят утверждена Россельхознадзором от 14.11.2006 г.

В опытах использовали ИК-смарки МИК-2 в качестве сорбентов-носителей пробиотика «Сахабактисубтил» испытали стерильный цеолит (фракция мука), высушенный сапропель, комбикорм. На первых же этапах исследований был исключен сапропель, как не обладающий адсорбирующими свойствами.

В ходе опыта установили, что 20 г цеолита адсорбирует 20 мл концентрированного препарата «Сахабактисубтил» (40 доз), а 20 г комбикорма адсорбирует 30 мл или 60 доз препарата.

В результате опытов установлено, что при ИК-с при температуре  $90^{\circ}\text{C}$  и экспозиции 15 минут сохранение микробных клеток в пробиотике – на цеолите только до 55,3%, а в комбикорме до 70,5% от исходного содержания.

Из этого следует, что наиболее предпочтительнее, в качестве сорбента-носителя, комбикорм. Проведены опыты по разработке режимов ИК-с, обеспечивающих обезвоживание пробиотика на комбикорме с максимальным сохранением исходного содержания микробных клеток в пробиотике.

ИК-с применяли при температурах  $-45^{\circ}$ ,  $60^{\circ}$ ,  $65^{\circ}$ ,  $75^{\circ}$ ,  $80^{\circ}$ С при экспозициях 15, 30 минут, но одновременное сочетание обезвоживания и сохранения содержания микробных клеток в пробиотике «Сахабактисубтил» на комбикорме достигнуто при ИК-с с температурой  $75^{\circ}$ С и экспозиции 30 минут.

Для бактерий рода *Bacillus* температура до  $80^{\circ}$ С не является губительной, а, наоборот, оптимальной и используется при предпосевной обработке для дифференциации от других микроорганизмов.

Полученный в результате ИК-с пробиотик «Сахабактисубтил» на комбикорме в 1 г содержит 150 млрд м.к (или 3 дозы препарата).

### **3.4. Результаты изучения перорального применения пробиотика «Сахабактисубтил» стельным коровам**

Опыт был проведен на 47 стельных коровах за 3-4 месяца до отела, принадлежащих ОПХ «Покровское», в период зимнего стойлового содержания с декабря по март месяц.

Пробиотик «Сахабактисубтил» для перорального применения стельным коровам использовали после ИК-сушки. Коровам опытной группы (25 гол.) индивидуально давали препарат (150 млрд м.к) перорально, с комбикормом по 5 г, 1 раз в день, в течение 10 дней каждого месяца. Применяли 3 месяца подряд до отела. Коровам контрольной группы (22 гол.) не давали препарат. За животными вели наблюдение. После отела у отелившихся коров опытной и контрольной групп брали влагалищно-цервикальную слизь, кровь, кал.

В опытной группе эндометрит регистрировался у 1 гол. (4%), в контрольной группе у 3 гол. (13,6%). В опытной группе сервис-период составил 67,8 дней, сократился на 8,4 дня по сравнению с контрольной группой - 76,2 дня.

При исследовании вагинально-цервикальной слизи у коров, не принимавших препарат, зарегистрированы явления дисбактериоза: отсутствие лакто- и бифидобактерий, присутствие токсигенных грибов, как *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. nidulans*, патогенных стафилококков ( $600,0 \pm 12,0$  тыс м.к в 1 мл слизи), увеличение количества энтерихий ( $14,02 \pm 0,67$  тыс м.к.) в 1,31 раз, энтерококков ( $3,65 \pm 0,33$  тыс м.к.) в 3,92 раза. У коров, принимавших препарат, зарегистрирован наиболее оптимальный микробиоценоз: отмечено отсутствие вышеперечисленных токсигенных грибов, кроме *Candida parapsilosis*, повышается количество споробразующих бактерий ( $19,37 \pm 0,93$  тыс м.к.) в 2,28 раз, появляются бифидо- и молочнокислые бактерии ( $1,6 \pm 0,03$  тыс м.к.), стафилококки отсутствуют.

У коров опытной группы при пероральном применении пробиотика «Сахабактисубтил» в кишечном микробиоценозе заметно увеличиваются

представители нормофлоры количество лактобактерий ( $2,59 \pm 0,005$  тыс мк в 1 г фекалий), что в 3 тысячи раз больше, бифидобактерий также – на 2 порядка выше, чем в контроле. Также повышается количество спорообразующих бактерий ( $35,33 \pm 2,15$  тыс мк) в 4 раза, лактозоположительных эшерихий ( $63,51 \pm 0,26$  тыс мк) в 6 раз выше, чем у контрольных. Токсигенных грибов меньше в опытной группе. Следует отметить значительное снижение потенциальных энтеропатогенов – лактозонегативных эшерихий ( $9,20 \pm 0,13$  тыс мк) в 1,5 раза.

По результатам гематологических исследований животных под влиянием препарата у коров опытной группы, получавших пробиотик «Сахабактисубтил», достоверно повышаются лейкоциты, эритроциты, гемоглобин, а также бактерицидная активность сыворотки крови, по сравнению с контрольной группой, что связано с влиянием препарата на неспецифические факторы иммунитета.

Также вели наблюдение за телятами, полученными от опытных и контрольных групп коров. Брели фекалии для исследования на кишечные микробиоценозы.

Результаты исследования кишечной микрофлоры новорожденных телят (12 гол.), полученных от опытных коров, принимавших до отела перорально препарат «Сахабактисубтил», показывают, что содержание лактобактерий ( $1875 \pm 4,71$  тыс мк в 1 г фекалий) выше в 101,35 раз, увеличивается количество бифидобактерий и спорообразующих бактерий ( $49,16 \pm 0,38$  тыс мк) в 9,83 раза, чем у телят контрольной группы (12 гол.). Отмечено снижение количества токсигенных грибов, эшерихий ( $150 \pm 5$  тыс мк) в 28,57 раза, энтерококков ( $1750 \pm 6,5$  тыс мк) 18,24 раза ниже, по сравнению с контрольной группой телят. Не были отмечены признаки желудочно-кишечных расстройств у телят, полученных от коров, принимавших до отела пробиотик «Сахабактисубтил», в отличие от телят контрольной группы, у которых наблюдалась диарея у 8 голов, что составляет 66,6%.

Следовательно, пероральное применение пробиотика «Сахабактисубтил» до отела с комбикормом повышает иммунобиологическую реактивность организма стельных коров, предотвращает дисбактериозы вагинальной и кишечного тракта, тем самым способствует профилактике послеродовых осложнений и получению здоровых телят. По результатам работы подана заявка на патент РФ «Способ профилактики эндометритов у коров».

Таким образом, с целью профилактики послеродовых осложнений коров в условиях Якутии научно обоснованы и разработаны эффективные способы с применением (пероральное или парентеральное) штаммов бактерий *Bacillus subtilis* «ТНП-3» и «ТНП-5», выделенных из мерзлых почв.

Разработанные методы профилактики послеродовых эндометритов коров с применением парентерального и перорального применения штаммов бактерий *Bacillus subtilis* «ТНП-3» и *Bacillus subtilis* «ТНП-5» (пробиотика «Сахабактисубтил» и культуральной жидкости) являются экономически обоснованными и составляют на 1 голову 372 и 286 руб. или на 1 рубль за грат 5,16 и 1,79 руб. (соответственно).



#### 4. Применение пробиотика «Сахабактисубтил» и культуральной жидкости штамма бактерий *Bacillus subtilis* «ГНП-3» в лечении послеродовых эндометритов коров

##### 4.1. Интравагинальное применение пробиотика «Сахабактисубтил» при лечении послеродовых эндометритов

С целью изучения терапевтической эффективности пробиотика «Сахабактисубтил» при лечении послеродовых эндометритов были поставлены производственные опыты в период массового отела с февраля по май в ОПХ «Покровское» и СХПК «Хатасское»

Всего в опыте было 48 коров с послеродовыми эндометритами. Диагноз послеродовый эндометрит ставился с учетом клинических признаков, данных вагинального и ректального исследования животных. Были созданы 3 группы: 2 опытные группы коров и 1 – контрольная, все животные в возрасте 3-8 лет. В контрольной группе (16 гол.) для лечения применяли схему, принятую в хозяйствах: антибиотик бициллин-3 (внутримышечно) и фуразолидоновые палочки (интравагинально) 1 раз в день в течение 5 дней. В первой опытной группе (16 гол.) интравагинально вводили пробиотик «Сахабактисубтил», предварительно удалив из полости рогов матки экссудат, в дозе 10 мл (50 млрд м.к.) в день один раз в течение 3 дней подряд. Во второй опытной группе (16 гол.) – в дозе 5 мл (25 млрд м.к.) в той же кратности. Исследован вагинальный микробиоценоз в динамике (на 1, 2, 3, 30 день после лечения). У животных опытных групп, в отличие от контрольной, в первые два дня отмечались обильные выделения. В течение срока наблюдения (15 дней) в группе коров, получавших пробиотик «Сахабактисубтил», сроки выздоровления сокращаются на 2-3 дня (5-6 дней) по сравнению с контрольной группой животных (8-9 дней). При изучении результатов осеменения коров установлено, что сервис-период (период до оплодотворения) в опытной группе коров составляет 68 дней, а в контрольной группе – 116 дней. Яловость соответственно составляет 3,4% и 21,4%.

После введения пробиотика «Сахабактисубтил» в дозе 10 мл (50 млрд м.к.) в вагинальной микрофлоре увеличивается содержание лакто- и бифидобактерий. Если в первый день введения количество лактобактерий составляло  $0,43 \pm 0,01$  тыс. м.к. в 1 мл слизи, на второй день их количество увеличилось до  $0,72 \pm 0,05$  тыс. м.к., на третий день до  $1,1 \pm 0,1$  тыс. м.к., через 30 дней содержание лактобактерий  $0,7 \pm 0,05$  тыс. м.к. Количество спорообразующих аэробных бактерий в первый день  $590,0 \pm 18,1$  тыс. м.к., на 2 день  $634,0 \pm 16,2$  тыс. м.к., на 3 день  $1000,0 \pm 20,1$  тыс. м.к. Установлено присутствие протей в первый день, затем, начиная со второго дня, постепенно исчезает. Количество стафилококков в первый день  $1,8 \pm 0,23$  тыс. м.к., на второй день количество уменьшается до  $0,6 \pm 0,02$  тыс. м.к. и не выявляется. Содержание токсигенных грибов в динамике уменьшается, вплоть до

исчезновения *У* коров опытной группы, в отличие от контрольной, псевдомонасы и иерсинии отсутствуют

Во второй опытной группе, где пробиотик «Сахабактисубтил» вводился интравагинально в дозе 5 мл (25 млрд мк), в первый день лактобактерии отсутствуют, появляются на второй день  $0,7 \pm 0,01$  тыс мк, на третий день количество увеличивается  $1,1 \pm 0,01$  тыс мк. Количество энтеробактерий в первый день составляет  $9,3 \pm 0,4$  тыс мк, затем на 2 день уменьшается  $1,98 \pm 0,2$  тыс мк, на 3 день до  $0,5 \pm 0,02$  тыс мк. Бифидобактерии регистрируются с первого дня, на 2-3 день их количество увеличивается. Количество спорообразующих аэробных бактерий в первый день  $41,0 \pm 1,2$  тыс мк, на 2 день  $43,0 \pm 1,4$  тыс мк, на 3 день  $55,0 \pm 3,2$  тыс мк. Количество стафилококков в первый день  $15,0 \pm 0,4$  тыс мк, на 2 день  $2,6 \pm 0,01$  тыс мк, на 3 день не выявляются. Псевдомонасы, иерсинии, протеи отсутствуют. Отмечено присутствие токсигенных грибов. Исходя из результатов исследований вагинальной микрофлоры, наиболее эффективно применение пробиотика «Сахабактисубтил» в дозе 10 мл (50 млрд мк).

Результаты исследований особенно заметны по сравнению с контрольной группой, при лечении которой применялся антибиотик бициллин-3 (внутримышечно) и фуразолидоновые палочки (внутриматочно). В контрольной группе после применения схемы лечения регистрируется явный дисбактериоз: угнетение, исчезновение из вагинальной микрофлоры представителей нормального биоценоза, преобладание условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, в том числе иерсиний и токсигенных грибов рода *Aspergillus*.

Так, в контрольной группе в динамике исследований количество молочнокислых бактерий в первый день  $2,7 \pm 0,3$  тыс мк, на 2-3 дни не выявлены. Количество энтеробактерий в первый день  $4,0 \pm 0,01$  тыс мк, на 2 день  $3,2 \pm 0,016$  тыс мк, на 3 день  $3,4 \pm 0,11$  тыс мк. Бифидобактерии присутствуют, но их количество заметно меньше, по сравнению с опытной группой. Присутствуют постоянно протеи и токсигенные грибы. Количество стафилококков в контрольной группе в первый день  $50,0 \pm 1,2$  тыс мк, на второй день  $21,2 \pm 1,03$  тыс мк, на 3 день  $11,2 \pm 0,4$  тыс мк. Спорообразующие аэробные бактерии на первый день  $570,0 \pm 14,3$  тыс мк, на 2 день  $500,0 \pm 15,1$  тыс мк, на 3 день уменьшается до  $45,0 \pm 0,12$  тыс мк.

Исследование вагинальной микрофлоры через 30 дней после введения пробиотика «Сахабактисубтил» показало, что у коров опытной группы при интравагинальном введении пробиотика «Сахабактисубтил» в дозе 10 мл (50 млрд мк), повысилось содержание лактобактерий ( $0,7 \pm 0,05$  тыс мк) в 2,12 раз, чем во второй опытной группе, где интравагинально вводили в дозе 5 мл (25 млрд мк), спорообразующих аэробных бактерий ( $2,0 \pm 0,086$  тыс мк) в 10,52 раза, энтеробактерий ( $4,56 \pm 0,10$  тыс мк) в 1,14 раз. Протеи, токсигенные грибы, иерсинии, псевдомонасы отсутствуют, стафилококки снижаются в двух опытных группах.

При исследовании через 30 дней в контрольной группе по-прежнему регистрируется стойкий дисбактериоз половых путей лакто- и бифидобактерии отсутствуют, количество спорообразующих аэробных бактерий составляет  $(3,75 \pm 0,12$  тыс мк в 1 мл слизи), высокое содержание условно-патогенных микроорганизмов, особенно эшерихий ( $150,4 \pm 1,4$  тыс мк), стафилококков до  $(8,0 \pm 0,32$  тыс мк), отмечено присутствие токсигенных грибов, которые определены до видов *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. nidulans*. Следовательно, полученные результаты исследований пока зывают эффективность лечения эндометритов пробиотиком «Сахабактисубтил» по сравнению с бициллином-3 и фуразолидоновыми палочками

Таким образом, интравагинальное введение пробиотика «Сахабактисубтил» в разовой дозе 10 мл (50 млрд мк) при послеродовых эндометритах способствует снижению сроков заболевания, нормальному течению послеродового периода, оптимизации микробиоценоза половых путей (повышение содержания лакто- и бифидобактерий, уменьшение количества условно-патогенных бактерий и токсигенных грибов). На основе полученных данных подана заявка на патент РФ «Способ лечения эндометритов»

#### **4.2. Сочетание парентерального применения культуральной жидкости штамма бактерий *Bac. subtilis* «ТНП-3» и интравагинального введения пробиотика «Сахабактисубтил» при лечении эндометритов**

Испытано сочетание парентерального введения культуральной жидкости штамма бактерии *Bac. subtilis* «ТНП-3» и интравагинального введения пробиотика «Сахабактисубтил» при лечении эндометритов у 17 коров, принадлежащих частному сектору с Модуль Намского улуса. По анамнезу лечение эндометритов с применением антибиотика бициллин-3 и фуразолидоновых палочек не улучшило состояние животных

Нами проведено исследование влажной микрофлоры. Полученные результаты исследований позволили предположить, что первопричиной эндометритов в хозяйстве являются токсигенные грибы рода *Aspergillus*. По наблюдениям ветеринарного врача хозяйства, в последние годы резко возросла пораженность кормов плесневыми грибами. У животных после лечения химиопрепаратами (бициллин-3, фуразолидоновые палочки) регистрируется дисбактериоз половых трактов отсутствуют лакто- и бифидобактерии

Рекомендовано лечение с применением пробиотика «Сахабактисубтил» в дозе 10 мл (50 млрд мк) интравагинально 1 раз в день до выздоровления, подкожное введение культуральной жидкости штамма бактерии *Bac. subtilis* «ТНП-3» по 2 мл. Лечение проводилось 5 дней. При осмотре через 11 дней, отмечено клиническое выздоровление животных. Взяты смывы влажной слизи для бактериологических исследований, при этом отмечено появление

бифидобактерий, отсутствие протей и уменьшение токсигенных грибов (присутствует *Mucor racemosus*)

Полученные результаты исследований еще раз доказывают эффективность при эндометритах антибиотиков широкого спектра действия, в данном случае бициллина-3, а также фуразолидоновых палочек, взятых без учета механизма действия, применение когорных явилось причиной развития дисбактериоза половых путей

Таким образом, установлена терапевтическая эффективность пробиотика «Сахабактисубтил» при интравагинальном применении в разовой дозе 10 мл (50 млрд мк) в сочетании с парентеральным введением культуральной жидкости штамма бактерии *Bac subtilis* «ТНП-3»

Проведенные опыты показали, в отличие от вышеуказанных препаратов, высокую терапевтическую эффективность препаратов из штаммов *Bac subtilis* (пробиотика и культуральной жидкости) при лечении послеродовых осложнений у коров, в основном эндометритов, вызванных токсигенными грибами рода *Aspergillus*. Штаммы *Bac subtilis* не только обладают выраженным антагонистическим действием в отношении грибов рода *Aspergillus* и условно-патогенных микроорганизмов, но и, устраняя дисбактериоз, корректируют вагинальный микробиоценоз и способствуют выздоровлению коров

## ВЫВОДЫ:

1 Установлено значительное распространение акушерско-гинекологических болезней крупного рогатого скота в Республике Саха (Якутия). Так, в среднем (1995-2005 гг.) ежегодно заболеваемость составляет 24,16%, из них 65,0% приходится на эндометриг.

2 Во влагалищно-маточной микрофлоре коров с нормальным течением родового акта с первых дней после отела выявлено преобладание бактерий рода *Bacillus* (до  $33092,0 \pm 109,5$  м.к. в 1 мл слизи), заметно уступают им лактобактерии (до  $222,7 \pm 15,2$  м.к. в 1 мл слизи), регистрируются в небольшом количестве бифидобактерии, также присутствуют условно-патогенные микроорганизмы (протей, стафилококки).

3 У коров с послеродовыми осложнениями регистрируется дисбактериоз половых путей: увеличение количества эшерихий, персиний, патогенных стафилококков, рост грибов рода *Aspergillus*. В то же время наблюдается заметное уменьшение представителей нормальной микрофлоры: спорообразующих аэробных бактерий, бифидобактерий и отсутствие лактобактерий.

4 Одной из причин эндометритов коров в условиях Якутии является развитие условно-патогенных бактерий и токсигенных грибов *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. nidulans*.

5 Из спорообразующих аэробных бактерий, доминирующих в влагалищной микрофлоре коров в условиях Якутии, выделены *Bac megaterium*, *Bac pumilis*, *Bac coagulans*, *Bac firmus*, *Bac laterosporus*, *Bac brevis*, *Bac alvei*, *Bac stearothermophilus*.

6 Парентеральное или пероральное введение штаммов бактерий *Bacillus subtilis* «ТНП-3» и *Bacillus subtilis* «ТНП-5» стельным коровам до отела повышает иммунобиологическую реактивность организма, предотвращает дисбактериоз, нормализует вагинальный и кишечный микробиоценоз, тем самым способствует профилактике послеродовых осложнений и получению здоровых телят.

7 У телят, полученных от коров, принимавших пробиотик «Сахабактисубтил», в кишечной микрофлоре повышается содержание представителей нормальной микрофлоры – лактобактерий в 10 раз, бифидобактерии на 2 порядка, не отмечаются желудочно-кишечные расстройства, по сравнению с контрольной группой.

8 Установлена терапевтическая эффективность интравагинального применения пробиотика «Сахабактисубтил» в разовой дозе 50 млрд м.к. при эндометригах в сочетании с парентеральным введением культуральной жидкости штамма бактерий *Bacillus subtilis* «ТНП-3».

9 Разработан эффективный режим инфракрасной сушки (при температуре  $75^{\circ}\text{C}$  и экспозиции 30 минут), обеспечивающий одновременное сочетание обезвоживания и сохранения содержания микробных клеток в пробиотике «Сахабактисубтил», адсорбированном на комбикорме.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Материалы диссертации вошли в методические рекомендации «Штаммы *Bacillus subtilis* в профилактике послеродовых осложнениях коров» (Якутск, 2006), которые утверждены Ученым советом ГНУ ЯНИИСХ (протокол №2 от 22 февраля 2006 г) и предложены для внедрения в производство

Заявка на патент РФ «Способ профилактики послеродовых осложнениях коров» с приоритетом от 23.03.2006 за № 2006109303

Заявка на патент РФ «Способ профилактики эндометритов коров»

Заявка на патент РФ «Способ лечения эндометритов коров»

## СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1 **Татарнинова, С.С.** Проблемы профилактики органов воспроизводства / **С.С. Татарнинова, М.П. Неустроев** // Новейшие направления развития аграрной науки в работах молодых ученых 3-го конф. молодых ученых СОРАСХН (15-16 ноября 2004 г., пос. Краснообск) — Новосибирск, 2004 — С. 270-271

2 **Татарнинова, С.С.** Изучение вагинального микробиоценоза коров в условиях Якутии / **С.С. Татарнинова, Н.П. Тарабукина, М.П. Неустроев, С.И. Парникова** // Актуальные вопросы ветеринарной медицины маг. Сиб. междунар. ветеринарного конгресса (3-4 марта 2005 г., Новосибирск) — Новосибирск, 2005 — С. 133-135

3 **Тарабукина, Н.П.** Знание микробной экологии – одна из основ безопасности жизни / **Н.П. Тарабукина, С.И. Парникова, М.П. Федорова, А.А. Былгаева, А.А. Ефимова, С.С. Татарнинова** // Безопасность жизнедеятельности в Республике Саха (Якутия) маг. регион. науч.-практ. конф. — Якутск: Изд-во ЯГУ, 2006 — С. 17-18

4 **Неустроев, М.П.** Применение пробиотика «Сахабактисубтил» стельным коровам / **М.П. Неустроев, С.С. Татарнинова** // Зоотехния — 2006 — № 12 — С. 21-23

5 **Тарабукина, Н.П.** Штаммы *Bacillus subtilis* в профилактике послеродовых осложнений коров: методические рекомендации / **Н.П. Тарабукина, М.П. Неустроев, С.И. Парникова, С.С. Татарнинова** / РАСХН, сиб. отд-ние ГНУ Якут. НИИСХ — Якутск, 2006 — 12 с.

Подписано к печати 20.04.2007 г. Формат 60x84 1/32. Гарнитура Times.  
Печать трафаретная. Усл. печ. л. 1,5. Тираж 100 экз. Заказ № 227.

---

Отпечатано в ППУЯИИИСХСОРАСХП  
г. Якутск, ул. Калай таргыннаны, 5 тел. 36-40-76