

На правах рукописи



**ЯКУШКИН
ИГОРЬ ВИКТОРОВИЧ**

**ДИНАМИКА ФОРМИРОВАНИЯ ЭНТЕРОБИОЦЕНОЗА
У НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ
ПРОБИОТИКА ВЕТОМ 1.1.**

**16.00.03 – ветеринарная микробиология, вирусология,
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология**

Автореферат

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук**

ОМСК 2003

Работа выполнена на кафедре эпизоотологии и инфекционных болезней сельскохозяйственных животных и кафедре гигиены и БЖД Института ветеринарной медицины Федерального государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Омский государственный аграрный университет».

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, профессор
Трофимов Игорь Георгиевич

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, профессор
Приступа Олег Алексеевич;
доктор ветеринарных наук
Шкиль Николай Алексеевич

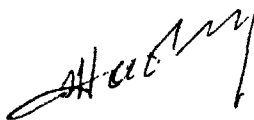
Ведущая организация: Алтайский государственный аграрный университет

Защита диссертации состоится «11» ноября 2003 года в 10 часов на заседании диссертационного совета Д.220.050.03 в Институте ветеринарной медицины Омского Государственного аграрного университета по адресу: 644007 г. Омск, ул. Октябрьская, 92.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ИВМ ОмГАУ.

Автореферат разослан «9» октября 2003 года.

Учёный секретарь
диссертационного совета
кандидат ветеринарных наук,
доцент



Н.П. Жабин

2003-A
16002

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В современном животноводстве важной и нерешенной проблемой является обеспечение высокой сохранности молодняка в ранний постнатальный период. Так, у молодняка до 10-дневного возраста 60-90% случаев гибели обусловлены желудочно-кишечными болезнями. В зимний стойловый период болезни с поражением органов пищеварения наблюдаются у 60-70 % телят, а гибель в первые дни жизни составляет от 14 до 60% (И.М. Карпуть с соавт., 1990; А.Г. Ноздрин, 2002).

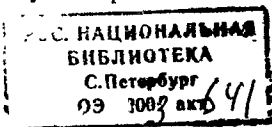
В возникновении болезней желудочно-кишечного тракта многие исследователи главную роль отводят нарушению кормления, ухода и содержания коров – матерей и новорожденных телят. С.И. Плященко (1990) и другие авторы указывают, что высокая заболеваемость связана с тем, что телята рождаются с низким уровнем иммунной защиты и не способны противостоять влиянию условно – патогенных микроорганизмов, разнообразные ассоциации которой способствуют развитию дисбактериоза желудочно-кишечного тракта.

Важную роль в обеспечении нормальной жизнедеятельности организма телят играет нормальная микрофлора кишечника, обладающая антагонистическими свойствами к патогенным и условнопатогенным микроорганизмам, способностью синтезировать витамины, участвовать в ферментативных процессах (В.А. Антипов, 1980, 1992; А.М. Бонилья, 1984; Ф.Н. Бухтилов, 1981).

Необходимо отметить, что, несмотря на различие мнений о природе дисбактериоза новорожденных телят, борьба с этим заболеванием сводится к организации общехозяйственных, ветеринарно-санитарных и специальных ветеринарных мероприятий с использованием антибиотиков и других химиотерапевтических препаратов. Вместе с тем, дисбактериоз представляет собой патологический процесс, который является дополнительным или ведущим звеном в патогенезе желудочно-кишечных болезней, поэтому при развитии последних, традиционно применяемые средства для лечения не всегда обеспечивают высокую терапевтическую эффективность, иногда снимая лишь симптомы болезни, а в некоторых случаях, даже усугубляют течение патологического процесса.

В этой связи весьма актуальны поиск и изучение препаратов, способных повысить эффективность профилактики и лечения болезней органов пищеварения у телят.

В настоящее время перспективным представляется использование препаратов, созданных на основе бактерий – антагонистов. Пробиотики используются для стимуляции неспецифического иммунитета и продуктивности животных, улучшения переваривания кормов, профилактики и лечения расстройств пищеварения алиментарной этиологии, в том числе дисбактериоза кишечника. В последние годы в этих целях с успехом используется пробиотик ветом 1.1. Этот



препарат представляет собой споровую биомассу рекомбинантного штамма *Bacillus subtilis*, продуцирующего интерферон. Препарат одобрен Ветфармбюроветом МСХ и П РФ 18.06.98. (протокол №3). Регистрационный номер ПВР 1.03.0735-98.

Цель и задачи исследований. Целью работы является изучение динамики энтеробиоценоза телят и его коррекция пробиотиком ветом 1.1 при дисбактериозе. Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

1. Изучить влияние санитарно-гигиенических условий содержания новорожденных телят на формирование энтеробиоценоза по сезонам года.

2. Провести сравнительное изучение энтеробиоценоза у новорожденных телят при применении пробиотика ветом 1.1.

3. Определить *in vitro* чувствительность некоторых условнопатогенных микроорганизмов, выделенных при дисбактериозе новорожденных телят к производственному штамму *Bacillus subtilis* ВКПМ-7092, входящему в состав пробиотика ветом 1.1.

4. Определить экономическую эффективность ветеринарных мероприятий в результате применения пробиотика ветом 1.1 при дисбактериозе новорожденных телят.

Научная новизна работы. Впервые показано влияние санитарно-гигиенических условий содержания телят раннего постнатального периода (1-30 сут.) на их энтеробиоценоз. Изучено антагонистическое действие пробиотика ветом 1.1 на некоторые потенциально патогенные микроорганизмы, выделенные у телят 1-30-суточного возраста при дисбактериозе. Экспериментально установлено корректирующее влияние пробиотика ветом 1.1 на количественные и качественные показатели кишечной микрофлоры телят раннего постнатального онтогенеза при дисбактериозе.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные данные расширяют и дополняют сведения об основных представителях энтеробиоценоза у телят в возрасте 1-30 суток. Результаты исследований, полученные при изучении микрофлоры кишечника здоровых телят, позволяют установить показатели энтеробиоценоза, соответствующие нормальному статусу животных и могут являться контролем при дисбактериозах. Установлено, что пробиотик ветом 1.1 является эффективным средством при коррекции энтеробиоценоза телят при дисбактериозе. Показано, что применение пробиотика ветом 1.1 оказывает положительное влияние на продуктивные показатели телят, в частности на среднесуточный привес. На основе полученных данных разработаны методические рекомендации «Бактериологическая диагностика дисбактериоза кишечника телят и его коррекция пробиотиком ветом 1.1» (утверждены учёным советом ИВМ ОмГАУ 25.06.2003; рассмотрены и одобрены НТС ГУСХ Омской области

6.08.2003). Кроме того, результаты исследований о влиянии пробиотика ветом 1.1 на энтеробиоценоз при дисбактериозе новорожденных телят внедрены в учебный процесс на кафедрах: эпизоотологии ИВМ ОмГАУ, микробиологии и вирусологии Уральской государственной академии ветеринарной медицины, Казанской государственной академии ветеринарной медицины, Новосибирского государственного аграрного университета, а также предложены к внедрению в хозяйствах Управлением ветеринарии администрации Томской области.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Влияние санитарно – гигиенических условий содержания новорожденных телят на их энтеробиоценоз.

2. Влияние пробиотика ветом 1.1 на качественный и количественный состав микрофлоры кишечника новорожденных телят.

Апробация работы: Основные положения диссертации доложены и обсуждены на седьмой и восьмой научных конференциях профессорско-преподавательского состава ИВМ ОмГАУ (2001, 2002, 2003), а также на шестой научно-практической конференции, посвященной перспективным направлениям научных исследований молодых ученых и специалистов Урала и Сибири (УГАВМ, 2002).

Публикация результатов исследований: По теме диссертации опубликовано три работы и методические рекомендации.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 149 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов исследований и их обсуждения, заключения, выводов, практических предложений. Библиографический список включает 205 источников, в том числе 24 зарубежных авторов.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материал и методы исследования

Работа по теме диссертации проводилась с 2000 по 2003 годы на базе научно-производственных лабораторий кафедры гигиены и безопасности жизнедеятельности и кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней Института ветеринарной медицины Омского государственного аграрного университета и в хозяйствах Омской области. Объектом исследования служили пробы фекалий новорожденных телят опытных и контрольных групп, смывы с конструкций клеток (кормушек, пола, стен), воздух профилактория и телятника.

Измерение гигиенических показателей микроклимата (температуры, относительной влажности, загазованности и бактериальной загрязнённости воздуха) проводили общепринятыми методами.

С целью изучения влияния пробиотика ветом 1.1 на формирование микробиоценоза кишечника новорожденных телят в 2000-2002 году проводили исследования в СПК «Пушкинский» и АО «Овощевод» Омской области. В каждом хозяйстве по принципу аналогов были сформированы опытные и контрольные группы телят по 5 животных в каждой (всего 20 – в опыте и 20 – в контроле). Телятам опытной группы, начиная с первого кормления, с молозивом выпаивали ветом 1.1, в дозе 50 мг/кг массы 1 раз в сутки через день. Препарат применяли в течение десяти дней. Телята контрольной группы пробиотик не получали.

Для изучения профилактической эффективности пробиотика ветом 1.1 учитывали физиологическое состояние телят, заболеваемость, наличие диареи, течение и исход болезни. Также учитывали показатели среднесуточного прироста массы тела телят.

Для изучения влияния пробиотика ветом 1.1 на формирование микробиоценоза кишечника на 1-е, 7, 14, 21, 30-е сутки жизни у телят обеих групп брали пробы фекалий. Бактериологические исследования проводили согласно Методическим указаниям по диагностике дисбактериоза, утвержденным МЗ СССР 03.02.1984. и Методическим указаниям по диагностике смешанных кишечных инфекций молодняка сельскохозяйственных животных, утверждённым ГУВ Минсельхозпрода СССР 12.11.1991.

Для индикации патогенных энтеробактерий пробы высевали на среды Левина и Плоскирева. Изучение культурально-биохимических свойств выделенных микроорганизмов проводили на среде Эндо, МПА, МПБ, МПЖ, средах Симмонса и Гисса. Определяли индолобразование и продукцию сероводорода.

Антибиотикочувствительность выделенных микроорганизмов изучали методом диффузии в агар с использованием стандартных дисков.

Антагонистическую активность рекомбинантного штамма *Bacillus subtilis*, входящего в состав пробиотика ветом 1.1, изучали методом перпендикулярных штрихов. Испытуемый штамм засеивали полоской по диаметру чашки Петри, а перпендикулярно к ней, на расстоянии 1-2 мм, засеивали полосками тест-штаммы микроорганизмов, выделенных из проб фекалий. После культивирования в термостате при +37⁰ С в течение 24-48 часов измеряли величину зон задержки роста тест-культур.

Расчёт экономической эффективности ветеринарных мероприятий при применении пробиотика ветом 1.1 проводили согласно Методике определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий, утвержденной Департаментом ветеринарии МСХ РФ (21.02.1997).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета анализа электронных таблиц Microsoft Excel 2000.

Результаты собственных исследований

Зооигиеническая и ветеринарно-санитарная характеристика условий содержания телят от рождения до 30-дневного возраста.

Исследования микроклимата профилактория и телятника показали, что в условиях производства средняя температура воздуха помещения зависит от сезонных изменений температуры наружного воздуха, а в зимний период первостепенное значение имеют системы отопления и вентиляции помещений, на что указывают многие авторы, в частности Г.К. Волков (1973), А. Аскеров, Т. Мамедов (1979), В.И. Баланин (1988) и многие другие.

Установлено, что в хозяйствах АО «Овощевод» и СПК «Пушкинский» в летний и зимний периоды температурно-влажностный режим в профилакториях соответствовал нормам. Однако в отдельные дни показатели температуры воздуха ($+20,2^{\circ}\text{C}$) и относительной влажности (88%) превышали допустимые нормы. При обработке данных графической записи с лент недельных гигрографов и термографов отмечены незначительные колебания температуры и относительной влажности воздуха в течение суток. Разность показателей температуры в профилактории составила в среднем $0,4 \dots 0,5^{\circ}\text{C}$, а относительной влажности $-1 \dots 2\%$.

Неэффективное использование систем вентиляции в обоих хозяйствах приводило к накоплению аммиака в воздухе профилакториев и телятников. Так, в профилактории СПК «Пушкинский» концентрация аммиака превышала норму в $1,2 \dots 1,4$ раза ($12,6 \dots 14,2 \text{ мг/м}^3$), а в телятнике в $1,7 \dots 2,0$ раза ($17,3 \dots 20,1 \text{ мг/м}^3$), в то же время концентрация углекислого газа лишь в отдельные дни превышала предельно-допустимые значения.

Необходимо отметить, что при переводе в телятник группового содержания телята периодически испытывали стресс, связанный в первую очередь со значительными колебаниями температуры воздуха в течение суток ($\pm 1 \dots 1,5^{\circ}\text{C}$).

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что в период выращивания телят в профилактории микробная загрязненность воздуха стабильно повышается. Уже на вторые сутки в зимний стойловый период в воздухе профилактория общее микробное число (ОМЧ) превышает норму в $2,3$ раза; на 7-е сутки в $5,0-6,5$ раз; на 14-е – в $6-7$ раз. В то же время, необходимо отметить, что динамика количественных показателей ОМЧ в летний и зимний стойловый период неодинакова. Так, в летний период на 30-е сутки ОМЧ в профилактории

лактории составило $75,8 \pm 2,6$ тыс. м. т./м³, тогда как в зимний период этот показатель составил $176,2 \pm 5,3$ тыс. м. т./м³ (таблица 1).

Таблица 1

Динамика микробной загрязнённости воздуха профилактория и телятника в АО «Овощевод» в летний период

Возраст животных	Количество микроорганизмов, тыс. м. т./м ³		
	ОМЧ	БГКП	Staphylococcus
1 сутки*	$20,1 \pm 0,7$	$5,1 \pm 0,5$	$10,3 \pm 0,5$
7 сутки*	$41,3 \pm 1,3$	$10,1 \pm 0,1$	$17,1 \pm 0,7$
14 сутки*	$47,8 \pm 0,3$	$15,3 \pm 1,7$	$19,3 \pm 0,5$
21 сутки**	$75,3 \pm 1,1$	$51,8 \pm 0,1$	$30,1 \pm 1,2$
30 сутки**	$77,2 \pm 0,4$	$39,8 \pm 0,7$	$33,5 \pm 0,9$

В целом, анализ результатов проведенных исследований показал, что во всех случаях микробная загрязнённость воздуха профилакториев и телятников СПК «Пушкинский» и АО «Овощевод» превышала нормы, предусмотренные ОНТП 1 – 89.

Результаты исследования микробного загрязнения поверхности клеток свидетельствуют о его значительной контаминации. Так, наименьшее количество микроорганизмов обнаружили в первые дни заполнения боксов профилактория. Спустя 7 дней общее микробное число возросло зимой в 3,5 раза, количество бактерий группы кишечной палочки (БГКП) – в 5,5 раз, стафилококков почти в 7 раз; летом – в 2,8, 6,7, и 7,2 раза соответственно.

К окончанию профилакторного периода 1 см² поверхности клеток содержали $315,5 \pm 16,7$ (СПК «Пушкинский») и $297,7 \pm 13,8$ микробных тел (АО «Овощевод») (таблица 2).

Таблица 2

Микробная загрязнённость поверхностей клеток профилактория и телятника СПК «Пушкинский» в зимний стойловый период

Возраст животных	Количество микроорганизмов, тыс. м. т./ м ²		
	ОМЧ	БГКП	Staphylococcus
1 сутки*	$35,1 \pm 2,2$	$10,2 \pm 2,1$	$15,6 \pm 5,7$
7 сутки*	$119,7 \pm 17,3$	$57,1 \pm 8,6$	$63,1 \pm 14,3$
14 сутки*	$315,5 \pm 16,7$	$201,6 \pm 5,7$	$128,3 \pm 23,7$
21 сутки**	$997,8 \pm 21,5$	$399,3 \pm 19,7$	$446,5 \pm 27,1$
30 сутки**	$1501,6 \pm 115,3$	$501,1 \pm 17,6$	$763,0 \pm 19,3$

Примечание. "*" - профилакторий; "**" - телятник.

Влияние микроклимата и применение ветома 1.1 на формирование энтеробиоценоза телят.

Результаты исследований санитарно-гигиенических условий содержания телят свидетельствуют о том, что при переводе животных из профилактория в телятник, особенно в зимний период, они подвергаются технологическому стрессу, сопровождающемуся колебаниями температуры воздуха, его влажности, содержания аммиака. Установлено, что нарушение зооигиенических условий содержания, в частности, понижение температуры в зимний период на 2...4°C приводило к резким изменениям количественного состава микрофлоры кишечного тракта. Снижалось количество бифидобактерий, лактозоположительных эшерихий при одновременном увеличении лактозоотрицательных и гемолитических эшерихий, а также микроорганизмов рода *Enterococcus*.

Статистическая обработка результатов проведенных исследований показала наличие корреляционных связей между показателями микроклимата и количественными характеристиками энтеробиоценоза новорожденных телят. Так, в АО «Овощевод» в зимний период выявлена стойкая отрицательная корреляция между количеством бифидобактерий, лактозоположительных эшерихий у телят контрольной группы и состоянием микроклимата помещения ($r = -0,32-0,61$).

В опытной группе животных такой тенденции обнаружено не было ($r = 0,01-0,3$). Количество лактозонегативных эшерихий, энтеро- и стафилококков в кишечнике телят, получавших пробиотик ветом 1.1, не зависело от условий микроклимата ($r = 0,15-0,26$), тогда как в контрольной группе животных обнаружена положительная корреляция ($r > 0,7$) (таблица 3).

Таблица 3

Корреляция количественных показателей энтеробиоценоза телят опытной группы и параметров микроклимата помещений в АО «Овощевод» в зимний период

	Bifidobacterium	Escherichia (lac+)	Escherichia (lac -)	Escherichia (hly)	Enterococcus	Staphylococcus
Температура воздуха	0,01	0,30	0,25	0,34	0,26	0,13
Относительная влажность воздуха	0,03	0,19	0,17	0,25	0,16	0,15
Скорость движения воздуха	0,09	0,12	0,15	0,23	0,19	0,09
Концентрация аммиака в воздухе	0,17	0,52	0,21	0,37	0,13	0,26
Концентрация углекислого газа в воздухе	0,03	0,21	0,16	0,19	0,12	0,15

В летний период года в АО «Овощевод» у телят, не получавших ветом 1.1, при неудовлетворительном микроклимате телятника, отмечалось уменьшение количества бифидобактерий и лактозоположительных ($r = -0,11-0,56$), а у животных опытной группы этого не происходило ($r = 0,02-0,30$).

В зимний период в СПК «Пушкинский» выявлена слабая коррелятивная зависимость между количеством бифидобактерий, лактозоположительных эшерихий в кишечнике телят опытной группы и основными показателями микроклимата ($r = 0,14-0,37$).

У животных, не получавших пробиотик, компенсаторного увеличения количества полезной микрофлоры не происходило, на что указывает коэффициент отрицательной корреляции между количеством лактозоположительных эшерихий, бифидобактерий и показателями микроклимата помещения ($r = -0,15-0,44$).

Прямая зависимость выявлена между количеством лактозоотрицательных эшерихий, стафилококков и энтерококков в кишечнике животных контрольной группы и концентрацией аммиака, углекислого газа в воздухе помещения, его относительной влажностью ($r = 0,59-0,99$).

В летний период года отмечено отсутствие корреляции между состоянием микроклимата телятника и количеством бифидобактерий, лактозоположительных эшерихий в кишечнике телят, получавших ветом 1.1 ($r = 0,09-0,34$).

Количественное содержание лактозонегативных эшерихий, стафилококков, энтерококков у телят контрольной группы находилось в прямой зависимости от условий содержания ($r = 0,29 - 0,73$).

В летний период года отмечено отсутствие корреляции между состоянием микроклимата телятника и количеством бифидобактерий в кишечнике телят. У телят, получавших ветом 1.1, происходило увеличение бифидобактерий, на что указывает больший, по сравнению с контрольной группой, коэффициент корреляции. Похожие результаты выявлены в отношении лактозопозитивных и негативных эшерихий, энтерококков и стафилококков. Количественное содержание этих микроорганизмов в кишечнике телят контрольной группы находилось в прямой зависимости от условий содержания, по сравнению с животными опытной группы.

Микробиоценоз желудочно-кишечного тракта телят при применении ветома 1.1.

Бифидобактерии. В зимний период года бифидобактерии в фекалиях телят АО «Овощевод» обнаружили в первые сутки жизни, в количестве 7,0-7,2 lg КОЕ в опытной и контрольной группах. На 7-е сутки жизни их количество у телят опытной группы увеличилось до 7,8 lg КОЕ, а у животных контрольной группы оставалось на прежнем уровне. На 14-е сутки обнаружили статистически достоверные различия в количественном содержании бифидобактерий: в

опыте – 8,6 lg КОЕ, а в контроле – 7,4 lg КОЕ ($P = 0,009$). На 21 и 30 сутки жизни количество бифидобактерий у телят, получавших ветом 1.1, практически не изменилось, (8,4 lg КОЕ), а у животных контрольной группы понизилось на 14,3% и 16,7% соответственно ($P < 0,05$).

В СПК «Пушкинский» в зимний период наблюдали более низкое содержание бифидобактерий в первые сутки жизни (6,6 lg КОЕ) в обеих группах, которое сменялось достаточно резким увеличением их количества: до 24,2% (8,2 lg КОЕ) у телят опытной группы и менее значительным увеличением – на 15,2% (7,2 lg КОЕ) у животных контрольной группы. К 14 суткам жизни, после перевода телят в клетки группового содержания, у животных опытной группы содержание бифидобактерий увеличилось на 2,5% (8,4 lg КОЕ), а затем постепенно снизилось до 7,4% (21-е сутки) и 2,5% (30-е сутки). У животных контрольной группы количество бифидобактерий резко снизилось до 5,6% (14-е сутки); на 21-е сутки – до 5,9% и на 30-е сутки – до 9,4% ($P < 0,05$).

В летний период состав бифидобактерий у телят обоих хозяйств был более схожий. В АО «Овощевод» в первые сутки жизни количество бифидобактерий у телят составило 7,6 lg КОЕ в опыте и контроле, что на 7,9% больше, по сравнению с показателями количества бифидобактерий в зимний период. На 7-е сутки жизни у телят опытной группы произошло резкое увеличение количества бифидобактерий, на 15,8% (до 8,8 lg КОЕ). На 14-е сутки количество микроорганизмов рода *Bifidobacterium* возросло ещё на 2,3% и сохранялось на уровне 9,0 lg КОЕ на 21-е и 30-е сутки жизни у телят опытной группы.

Статистически достоверные различия в количественном содержании бифидобактерий в опытной и контрольной группах телят отмечали уже начиная с 7-суточного возраста. В контрольной группе этот показатель был на 11,4% меньше, на 14-е сутки – на 11,1%, на 21 сутки – на 13,3% и на 30 сутки – на 15,6% , по сравнению с телятами опытной группы ($P < 0,008$).

У суточных телят опытной и контрольной групп СПК «Пушкинский» летом количество бифидобактерий составляло 7,0 lg КОЕ. На 7-е сутки жизни количество микроорганизмов увеличилось у животных опытных групп на 29,9% (8,6 lg КОЕ), тогда как у животных контрольных групп только на 11,4% (7,8 lg КОЕ) и оставалось на этом уровне до 14-суточного возраста ($P = 0,25$).

Количество бифидобактерий у телят опытной группы за 14 суток незначительно снизилось – на 2,3% и, оставаясь таким до 21суток, было выше, чем у контрольных животных, на 7,1% и 9,5% соответственно ($P < 0,05$).

На 30-е сутки бифидобактерии выделяли в количестве 8,0 и 7,4 lg КОЕ от животных опытных и контрольных групп соответственно.

Лактозоположительные эшерихии. У телят суточного возраста в АО «Овощевод» в зимний период года количественное содержание лактозоположительных эшерихий находилось в пределах от $1,52 \pm 0,52$ до $1,6 \pm 0,96 \times 10^9$ КОЕ в 1 г фекалий. На 7-е сутки жизни у телят опытной группы количество эшерихий увеличилось в 3,6 раза ($5,7 \times 10^9$ КОЕ/г), а у животных контрольной группы уменьшилось до $3,8 \times 10^8$ КОЕ/г ($P = 0,01$).

После перевода телят в клетки группового содержания количество лактозоположительных эшерихий снизилось у животных опытной группы в 11,4 раза и оставалось на уровне $5,0-4,2 \times 10^8$ КОЕ/г до конца исследований.

У телят в контрольной группе количество микроорганизмов продолжало снижаться ($2,2 \times 10^8$ КОЕ/г – на 14-е сутки; $1,6 \times 10^8$ КОЕ/г – на 21-е сутки и $6,6 \times 10^7$ КОЕ/г – на 30-е сутки жизни) ($P = 0,3...0,01$).

В СПК «Пушкинский» в зимний период года от суточных телят обеих групп выделяли лактозоположительные эшерихии, в количестве $4,6 - 5,0 \times 10^7$ КОЕ/г. С увеличением возраста животных наблюдали увеличение количества эшерихий в опытной группе, которое несколько снижалось к концу наблюдений (30-е сутки). Увеличение количества лактозоположительных эшерихий у телят контрольной группы происходило менее интенсивно: в 1,3-1,5 раза меньше, чем в опытной группе ($P = 0,7...0,04$).

В летний период в фекалиях телят СПК «Пушкинский» опытной и контрольной группы содержание лактозоположительных эшерихий было одинаковым – $8,34 \pm 0,03 \times 10^7$ КОЕ/г. С возрастом количество этих микроорганизмов у животных опытных групп стало в 3,7 раза больше – на 7-е сутки, в 2,1-2,2 раза – на 14-е и 21-е сутки, в 1,7 раза – на 30-е сутки и составило $2,96 \times 10^8$ КОЕ/г.

В летний период в АО «Овощевод» количество лактозоположительных эшерихий в первые сутки жизни телят составило $1,86 \times 10^9$ КОЕ в 1 г фекалий и постепенно снижалось у животных обеих групп. На 7 сутки жизни количество этих микроорганизмов уменьшилось у животных опытной группы до $1,78 \times 10^9$ КОЕ/г, что в 1,1 раза меньше, чем в суточном возрасте ($P = 0,07...0,05$).

Лактозоотрицательные эшерихии. Лактозоотрицательные эшерихии из фекалий суточных телят опытной и контрольной групп СПК «Пушкинский» в зимний период года выделяли в количестве $6,5-7,1 \times 10^6$ КОЕ/г. На 7-е сутки в фекалиях телят, получавших пробиотик ветом 1.1, неполноценных лактозоотрицательных эшерихий было меньше в 3,1 раза, на 14-е сутки – в 14,5 раз, на 21-е сутки – в 16,3 раза, а на 30-е сутки жизни – в 14,5 раза меньше, чем у телят контрольной группы.

Необходимо отметить, что после перевода животных в клетки группового содержания, с 14-суточного возраста у телят обеих групп количество лактозоотрицательных эшерихий колебалось, однако в опытной группе было всегда меньше: на 14-е сутки – в 2,9 раза, на 21-е сутки – в 1,7 раза, на 30-е сутки – в 8,4 раза ($P < 0,05$).

Летом в СПК «Пушкинский» лактозоотрицательные эшерихии выделяли из фекалий телят суточного возраста контрольной и опытной групп, в количестве $8,8-8,9 \times 10^6$ КОЕ/г. На 7-е сутки жизни животных количество микроорганизмов у контрольных телят было больше, чем у опытных в 1,8 раза ($2,7 \times 10^7$ КОЕ/г); на 14 сутки – в 1,7 раза ($3,1 \times 10^7$ КОЕ/г); на 21-е сутки – в 2,0 раза ($3,4 \times 10^7$ КОЕ/г), а на 30-е сутки – в 2,4 раза ($3,9 \times 10^7$ КОЕ/г) ($P < 0,05$). Количество лактозоотрицательных эшерихий, выделенных от телят суточного возраста

обеих групп в АО «Овощевод», летом составило $1,2 \times 10^7$ КОЕ/г. В каждый последующий период исследований – 7-е, 14, 21-е сутки жизни телят – этот показатель увеличивался в опытной группе в 1,2 раза, а на 30-е сутки снизился в 1,1 раза по сравнению с предыдущим исследованием. В контрольной группе увеличение количества лактозоотрицательных эшерихий произошло более интенсивно на 7-е сутки жизни – в 1,9 раза, а далее увеличивалось в 1,1-1,2 раза в каждый период исследования ($P = 0,2$).

Гемолитические эшерихии. В зимний период гемолитические эшерихии выделяли от телят опытной группы в СПК «Пушкинский» начиная с 7-дневного возраста в количестве $3,1 \times 10^3$ КОЕ/г. У контрольных животных данного возраста этот показатель был в 6,1 раза больше и составлял – $1,9 \times 10^4$ КОЕ/г; в 14-суточном возрасте увеличился в 2,1 раза и оставался на уровне $4,0-4,6 \times 10^4$ КОЕ/г до конца наблюдений ($P < 0,05$). Увеличение количества гемолитических эшерихий в кишечнике телят опытной группы происходило неравномерно: к моменту перевода телят в клетки группового содержания (10-14 сутки) количество микроорганизмов уменьшилось в 2,1 раза, по сравнению с показателями исследований в 7-е сутки. На 21-е сутки их количество возросло в 1,8 раза и составило $2,7 \times 10^3$ КОЕ/г, на 30-е сутки – $2,1 \times 10^3$ КОЕ/г.

В зимний период АО «Овощевод» гемолитические эшерихии выделяли от телят лишь на 14-е сутки. В контрольной группе их количество возросло в 3,8 раза на 21-е сутки; в 1,8 раза – на 30-е сутки жизни телят.

В опытной группе количество гемолитических эшерихий на 14-е сутки жизни телят было меньше в 2,0 раза ($2,0 \times 10^4$ КОЕ/г), на 21-е сутки – в 12,5 раз, а на 30-е сутки – в 8,8 раз меньше, чем в контрольной группе ($P = 0,1...0,001$).

В летний период в АО «Овощевод» гемолизирующие формы эшерихий выделяли из фекалий телят, начиная с 14-суточного возраста, в количествах, значительно меньших, по сравнению с зимним периодом года. Так, у 14-суточных телят опытной группы гемолитические эшерихии выделяли в количестве $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г; в контрольной группе – в 1,9 раза больше. Далее, количество этих микроорганизмов в содержимом кишечника телят, получавших пробиотик, стало резко повышаться в сравнении с животными, получавшими ветом 1.1. На 21-е сутки жизни у контрольных животных выделяли $5,0 \times 10^3$ КОЕ, а на 30-е сутки – $1,6 \times 10^4$ КОЕ гемолитических эшерихий из 1 г фекалий, что в 3,6 и 8,9 раза, соответственно, больше, по сравнению с телятами опытной группы того же возраста ($P < 0,005$).

Гемолитические формы эшерихий от телят, получавших ветом 1.1 в СПК «Пушкинский» в летний период выделяли только с 14-суточного возраста, тогда как от получавших этот пробиотик уже с 7-суточного возраста, в количестве $8,9 \times 10^2$ КОЕ/г. На протяжении всего периода исследований фекалии контрольных животных содержали больше гемолитических эшерихий: на 21-е сутки – в 2,6 раза, на 30-е сутки – в 15,5 раза, по сравнению с животными опытной группы ($P < 0,05$).

Энтерококки. В зимний период у телят суточного возраста в опытной и контрольной группах СПК «Пушкинский» количество энтерококков в 1 г содержимого толстого кишечника составляло $3,1-3,4 \times 10^4$ КОЕ. Далее, количество энтерококков у животных опытной группы увеличивалось и составило на 30-е сутки $5,3 \times 10^5$ КОЕ/г. В группе телят, не получавших ветом 1.1, накопление энтерококков в содержимом кишечника происходило более интенсивно. Так, на 7-е сутки их количество увеличилось в 5,6 раза, на 14-е сутки – в 3,6 раза, на 21-е сутки – в 1,3 раза, по сравнению с опытной группой.

К концу периода наблюдений – на 30 сутки жизни телят количество энтерококков у контрольных животных составило $1,8 \times 10^6$ КОЕ в 1 г фекалий, что в 3,5 раза больше, по сравнению с опытными животными ($P < 0,05$).

В летний период в первые сутки жизни телят СПК «Пушкинский» энтерококки выделяли в количестве $5,6-5,8 \times 10^4$ КОЕ/г у всех животных. Количество микроорганизмов рода *Enterococcus* у телят, получавших ветом 1.1, увеличилось в 2,5 раза ($1,4 \times 10^5$ КОЕ/г) на 14-е и 21-е сутки – в 1,5 раза (до 2,1 и $3,3 \times 10^5$ КОЕ/г) соответственно; а к концу периода наблюдений составило $4,7 \times 10^5$ КОЕ/г. У животных контрольной группы, не получавших пробиотик, количественное содержание энтерококков было значительно выше: на 7-е сутки – в 1,9 раза, на 14-е сутки – в 3,9 раза, на 21-е сутки – в 3,4 раза и на 30-е сутки – в 4,9 раза, по сравнению с животными, получавшими пробиотик ветом 1.1 ($P < 0,001$).

Стафилококки. В СПК «Пушкинский» в зимний период из фекалий суточных телят выделяли стафилококки в количестве $1,3-1,2 \times 10^4$ КОЕ/г. На 7-е сутки жизни количество этих микроорганизмов увеличилось в опытной группе до $1,4 \times 10^4$ КОЕ/г, что было в 4,2 раза меньше, по сравнению с показателями контрольной группы. Накопление стафилококков в кишечнике телят, не получавших пробиотик, шло более интенсивно, и на 14-е сутки жизни было в 12,3 раза больше, по сравнению с животными опытной группы; на 21-е сутки – в 11,6 раза, и на 30-е сутки – в 13,9 раза больше ($P < 0,05$).

В первые сутки жизни телят в АО «Овощевод» в зимний период стафилококки выделяли в количестве $2,4-2,5 \times 10^3$ КОЕ из 1 г фекалий. У телят 7-суточного возраста, не получавших ветом 1.1, количество стафилококков увеличилось в 4,8 раза; в 14-е и 21-е суточном возрасте – в 3,3 и 1,5 раза соответственно, по сравнению с предыдущим исследованием, а к концу наблюдений составило $7,5 \times 10^4$ КОЕ/г ($P = 0,08...0,004$).

Количество стафилококков у животных опытной группы было достоверно меньше: на 14-е сутки – в 8,5 раз, на 21-е сутки – в 10,9 раза, а на 3-е сутки жизни – в 15,6 раза ($P < 0,05$).

Чувствительность кишечной микрофлоры, выделенной от телят 1-30 суточного возраста к антибиотикам и пробиотикам ветом 1.1.

В результате исследований установлено, что большинство из исследованных антибиотиков оказывает подавляющее действие на облигатную микрофлору кишечного тракта телят 1-30-суточного возраста и не оказывает воздействия на условнопатогенные бактерии. Изолированные из проб фекалий 1-суточных телят микроорганизмы по чувствительности к антибиотикам (окситетрациклин, левомицетин, линкомицин, неомицин, тетрациклин, эритромицин) можно условно разделить на три группы. К первой группе относятся микроорганизмы, которые проявляли высокую чувствительность к исследуемым антибиотикам, а именно: лактозоположительные эшерихии и представители рода *Bifidobacterium* (диаметр зоны подавления роста микробов составляет 25 ... 27 мм).

Вторую группу формируют микроорганизмы, проявляющие среднюю степень чувствительности. Так, лактозонегативные, гемолитические эшерихии, энтерококки имели диаметр зоны подавления роста от 13 до 22 мм.

К третьей группе относятся резистентные микроорганизмы рода *Staphylococcus* (диаметр зоны подавления роста 8-16 мм). Указанная чувствительность микроорганизмов сохранилась и к 7-суточному возрасту телят.

Необходимо отметить, что к 14-суточному возрасту чувствительность микрофлоры из проб фекалий телят была несколько иной. Установлено увеличение количества родов микроорганизмов, относящихся к третьей группе. Кроме микроорганизмов рода *Staphylococcus*, высокую резистентность к испытываемым антибиотикам проявили гемолитические эшерихии, энтерококки (диаметр зоны подавления роста от 7 до 12 мм). В дальнейшем, к 21-м и 30-м суткам, указанная закономерность сохранялась.

Антагонистическую активность *Bacillus subtilis* ВКПМ -7092 изучали методом посева на плотной питательной среде с микроорганизмами лактозопозитивных и лактозонегативных эшерихий, гемолитических эшерихий, бифидобактерий, стафилококков, энтерококков. Угнетающее действие *Bacillus subtilis* ВКПМ - 7092 на гемолитические эшерихии и стафилококки проявилось через 36 часов взаимодействия в смешанных культурах и достигало максимума к 72 часам.

В дальнейшем – на 7-е, 14, 21 и 30-е сутки исследований, антагонистическая активность *Bacillus subtilis* ВКПМ - 7092 сохранилась на высоком уровне.

Таким образом, большинство используемых антибиотиков оказывало подавление роста микрофлоры кишечника телят 1-30-суточного возраста. Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что условнопатогенные микроорганизмы в большинстве случаев проявляют высокую резистентность к антибиотикам. Вместе с тем, установлено, что *Bacillus subtilis* ВКПМ - 7092, яв-

ляющийся основной составной частью ветом 1.1, характеризуется высокой антагонистической активностью к ряду условнопатогенных микроорганизмов.

Экономическая эффективность применения пробиотика ветом 1.1 для профилактики дисбактериоза телят.

При изучении профилактической эффективности пробиотика ветом 1.1 установлено положительное влияние препарата на рост и развитие телят. Так, у телят, содержащихся в СПК «Пушкинский», получавших пробиотик ветом 1.1 (опытная группа), по сравнению с животными контрольной группы, отмечалось увеличение среднесуточного привеса на 28,8% в зимний стойловый период и на 17,7% в летний. У телят, содержащихся в АО «Овощевод» показатели среднесуточного прироста были несколько ниже – 7,6% – в зимний и 9,5% – в летний периоды.

Анализ результатов исследований показал, что в СПК «Пушкинский» масса телят опытных групп к 30-суточному возрасту была большей на 6% в зимний и летний период и на 9% в зимний стойловый период в АО «Овощевод».

Результаты проведенных исследований показали, что экономическая эффективность применения пробиотика ветом 1.1 составила 1,92 и 1,95 рубля на 1 рубль производственных затрат (цены 2000 года) для телят, содержащихся в СПК «Пушкинский» и в АО «Овощевод», соответственно. Следовательно, средний показатель экономической эффективности при применении пробиотика ветом 1.1 составил 1,94 рубля на 1 рубль производственных затрат.

ВЫВОДЫ

1. На формирование энтеробиоценоза у телят от 1 до 30-суточного возраста оказывают влияние санитарно-гигиенические условия содержания молодняка (повышенное содержание аммиака, углекислого газа, увеличение микробного загрязнения воздуха и технологического оборудования), что подтверждено корреляцией между этими показателями и развитием дисбактериоза кишечника, как в летний, так и в зимний периоды года.

2. В фекалиях у телят от 1 до 30-дневного возраста, не получавших пробиотик ветом 1.1, отмечается уменьшение количества бифидобактерий и лактозоположительных эшерихий, при повышении количества лактозоотрицательных и гемолитических эшерихий, стафилококков, что свидетельствует о наличии у них субкомпенсированной формы дисбактериоза.

3. У телят, получавших пробиотик ветом 1.1, количество бифидобактерий увеличивается в 1,9-11,4 раза, а количество лактозоотрицательных эшерихий – в 1,3-6,4 раза при одновременном, более низком, по сравнению с контрольными животными, количестве условнопатогенных микроорганизмов: рода *Staphylococcus* – в 2,5-12,3 раза, гемолитических эшерихий – в 2,6-21,9 раз, энтерококков – в 3,5-4,2 раза. Сложившийся под влиянием пробиотика энтеробиоценоз сохраняется в течение 30 дней (срок наблюдений).

4. Установлено, что *Bacillus subtilis* ВКГМ 7092, являющийся основной составной частью ветом 1.1, *in vitro* проявляет угнетающее действие на гемолитические эшерихии и стафилококки. В то же время на микроорганизмы рода *Bifidobacterium* и лактозоположительные эшерихии такого действия не выявлено.

5. Применение пробиотика ветом 1.1 оказывает ростостимулирующее действие на организм телят, что отражается среднесуточном приросте массы тела на и позволяет получить экономическую эффективность 1,94 рубля на 1 рубль затрат.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Ветом 1.1 может применяться как для профилактики дисбактериоза кишечника в рекомендуемой изготовителем дозе (50 мг на 1 кг массы один раз в два дня), так для восстановления энтеробиоценоза телят.

2. Методические рекомендации «Бактериологическая диагностика дисбактериоза кишечника телят и его коррекция пробиотиком ветом 1.1» рассмотрены и одобрены учёным советом ИВМ ОмГАУ 25.05.2003 и НТС ГУСХ Омской области 6.08.2003).

3. Результаты исследований могут быть использованы в учебном процессе ряда дисциплин в соответствующих разделах курса эпизоотологии, ветеринарной микробиологии, зоогигиены, а также при написании учебной, справочной специальной литературы.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Якушкин И.В. Влияние пробиотика ветом 1.1 на формирование полноценного энтеробиоценоза у новорожденных телят // Перспективные направления научных исследований молодых ученых и специалистов Урала и Сибири. Материалы шестой научно-практической конференции: Сб. науч. тр. – Троицк: УГАВМ, 2002. – С. 55-57.

2. Якушкин И.В., Нагайцев Ф.С. Влияние пробиотика ветом 1.1 на формирование полноценного энтеробиоценоза у новорожденных телят // Проблемы и перспективы развития науки в институте ветеринарной медицины ОмГАУ. Материалы научно-практической конференции, посвященной 75-летию аспирантуры ИВМ ОмГАУ: Сб. научн. тр. – Омск: ИВМ ОмГАУ, 2002. – С. 231-236.

3. Якушкин И.В., Нагайцев Ф.С., Трофимов И.Г. Коррекция кишечного дисбактериоза у новорожденных телят // Проблемы и перспективы развития науки в институте ветеринарной медицины ОмГАУ. Материалы научно-практической конференции, посвященной 75-летию аспирантуры ИВМ ОмГАУ: Сб. научн. тр. – Омск: ИВМ ОмГАУ, 2002. – С. 236-241.

№ 16002

2003-A

16002

Рег. № 39. Сдано в набор 06.10.03. Подписано в печать 08.10.03.

Печать на ризографе. Бум. писчая. Формат 60x84 1/16.

Печ. л. 1,25 (1,2). Уч.-изд. л. 1,2. Тираж 100 экз. Заказ 169.

Типография филиала издательства ИВМ ОмГАУ, Омск-7, Октябрьская, 92