

На правах рукописи



АВЕРЕНКОВА МАЙЯ ГЕННАДЬЕВНА

ОПТИМИЗАЦИЯ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА
НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ И РЕПРОДУКТОРНЫХ ПОМЕЩЕНИЙ
МОЛОЧНЫХ ФЕРМ ПРОБИОТИКОМ ШИРОКОГО СПЕКТРА ДЕЙСТВИЯ

16. 00. 03. – Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,
микология с микотоксинологией и иммунология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Москва – 2007

Работа выполнена в лаборатории санитарной микробиологии Государственного научного учреждения Всероссийский научно – исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИВСГЭ Россельхозакадемии).

Научный руководитель:

доктор ветеринарных наук, профессор КАВРУК Леонид Сергеевич

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук МАЛИК Нина Ивановна (ФГУ ВГНКИ);

кандидат ветеринарных наук ШУРДУБА Николай Александрович (ГНУ ВНИИВСГЭ).

Ведущая организация:

ГНУ Всероссийский научно – исследовательский и технологический институт биологической промышленности (ВНИИТИБП).

00

Защита диссертации состоится «21» ~~февраля~~ 2007 г. в «19» часов на заседании диссертационного совета Д 006.008.01 при Всероссийском научно – исследовательском институте ветеринарной санитарии, гигиены и экологии (123022, Москва, Звенигородское шоссе, дом 5).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Государственного научного учреждения Всероссийский научно – исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИВСГЭ Россельхозакадемии).

Автореферат разослан «18» ~~января~~ 2007 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Е. С. Майстренко

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Массовые желудочно – кишечные заболевания новорожденных телят, сопровождающиеся высокой летальностью, продолжают оставаться проблемной болезнью молодняка для многих животноводческих хозяйств страны, особенно на крупных молочных фермах, нанося им значительный экономический ущерб (Н. А. Цареградская, 1976; О. А. Полякова, 1976; Ю. Е. Полоцкий, В. М. Бондаренко, 1986; С. В. Гриненко, 1987; Л. Я. Ставцева, Т. Н. Грязнева, 1991; В. Е. Белоусов и др., 1994; А. Н. Куриленко, 1996; М. А. Сидоров, 1996; Л. С. Каврук, 1994; Э. А. Шегидевич и др., 1998).

Среди наиболее частых возбудителей диарейных заболеваний новорожденных животных бактериальной этиологии первостепенную роль играют многие виды семейства Enterobacteriaceae (представители родов *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Yersinia*), а также других родов и видов – *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter jejuni*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* и др. Однако какая бы ни была структура возбудителей болезни (только бактерии или помимо них еще и вирусные агенты, криптоспоридии и пр.) постоянными из них являются *Escherichia coli* и почти всегда бактерии рода *Proteus*. В разные периоды года на одной и той же животноводческой ферме состав микробиоценоза может меняться: одни виды бактерий всегда циркулируют в помещении, другие исчезают, а взамен их появляются новые, которые заносятся с кормами, экскрементами маточного поголовья, грызунами, транспортом или через другие объекты. Известно, что основными источниками контаминации этих помещений указанными микроорганизмами являются больные и переболевшие диареей телята, выделяющие их с фекалиями в окружающую среду в огромных количествах. Накопление патогенных бактерий в помещениях профилактория приводит к заражению здоровых родившихся телят через разные предметы и возникновению вспышки диареи (Э. А. Светоч, 1972; Н. Ф. Бруснигина и др., 1988; Г. Г.

Вартанян, 1991; Л. С. Каврук, 1994; Е. С. Воронин и др., 1994; М. А. Сидоров, В. В. Субботин, 1999, D. S. Joon, Y. K. Kaura, 1993; S. P. McDonough et al., 1994), чему предрасполагают и способствуют анатомо – физиологические и иммунологические особенности организма телят первых дней жизни, а также различные факторы, снижающие естественную резистентность организма новорожденного молодняка.

Несмотря на проводимые в помещениях родильного отделения и профилактория ежедневную уборку и частичную дезинфекцию, в условиях постоянного нахождения животных не представляется возможным существенно снизить уровень этих микробов и избежать их попадания в пищеварительный тракт телят в первые часы и дни жизни во время рождения через контаминированные наружные половые органы коров и различные объекты окружающей среды.

Профилактика диарейных заболеваний молодняка специфическими иммунными препаратами часто не приносит желаемых результатов, поскольку существующие и изготавливаемые биопредприятиями вакцины и гипериммунные сыворотки направлены против весьма ограниченного числа болезней (эшерихиоза, анаэробной энтеротоксемии, сальмонеллеза, корона-, ротавирусной инфекции), тогда как заболевания могут вызывать многие другие микроорганизмы, в отношении которых специфических средств профилактики и лечения пока нет.

В последние десятилетия в ветеринарии нашей страны для профилактики и лечения диарейных заболеваний молодняка находят широкое применение различные пробиотические препараты, содержащие 1 – 2, реже 3 штамма микробов – антагонистов: бифидобактерин, лактобактерин, стрептобифид, субалин, ветом 1:1, споробактерин, ромакол, лактобифадол и др. (В. А. Антипов, Т. Е. Ермакова, 1990; Е. П. Наймытенко и др., 1990; В. В. Смирнов, С. В. Резник и др., 1993; А. Н. Панин, Н. И. Серых, 1992, 1996; А. Н. Панин, Н. И. Малик, 1999, 2006; Шегидевич и др., 1998; М. А. Сидоров, В. В. Субботин, 1999, 2004; В. В. Субботин, Н. В. Данилевская, 2003, 2004,

2005). Пробиотики, угнетая размножение или губительно действуя на патогенных бактерий в кишечнике животных, не оказывают отрицательного действия и побочных реакций на организм новорожденного молодняка и не приводят к развитию лекарственно устойчивых штаммов бактерий. Кроме того, они стимулируют иммунные механизмы организма, воздействуя на клетки лимфоидной системы. Недостатком многих коммерческих пробиотических препаратов является сравнительно узкий спектр антимикробного действия и необходимость их продолжительного применения родившемуся молодняку (в течение 10 – 15 и более дней), что в техническом отношении обременительно и не может устраивать работников животноводческих ферм.

Тем не менее, многие препараты, включающие микробы – антагонисты, зарекомендовали себя как неплохие средства профилактики и терапии дисбактериозов и диарейных заболеваний. Использование экологически безопасных и безвредных для животных микробных препаратов, оптимизирующих микробиоценоз кишечника и окружающей среды, приобретает особое значение в настоящее время, когда тяжелое экономическое состояние большинства хозяйств не позволяет покупать дорогостоящие лечебно – профилактические антибактериальные препараты.

На основании указанного большую актуальность приобретает вопрос изыскания штаммов микробов – антагонистов, способных обладать высокой активностью и широким антимикробным спектром действия, а также свойством продолжительного персистирования в кишечнике животных после однократного скармливания.

Цель и задачи исследований. Целью нашей работы являлось создание в кишечнике родившихся телят и окружающей среде благоприятного микробиоценоза, способного предотвращать возникновение вспышек кишечных инфекций и тем самым повышать сохранность молодняка в первые дни и недели его жизни.

Для осуществления намеченной цели перед нами были поставлены следующие задачи:

1. Изыскать высокоактивный штамм микроба – антагониста, обладающего широким антибактериальным спектром и пролонгированным действием в отношении наиболее частых возбудителей кишечных инфекций телят.
2. Определить безвредность перспективного штамма – антагониста для лабораторных животных и новорожденных телят.
3. Установить срок персистирования изысканного микроба – антагониста в кишечнике телят при однократном скармливании маркированного штамма бактерий и на основе этого определить оптимальный режим и схему применения суспензии этого штамма.
4. Определить видовую принадлежность изысканного штамма – антагониста *Streptococcus* СЛК – 92.
5. Провести испытание перспективного штамма – антагониста в молочных хозяйствах, неблагополучных по массовым желудочно – кишечным заболеваниям телят, с профилактической целью, а также изучить состав и биологические свойства микрофлоры репродукторных помещений молочных ферм до и после применения штамма – антагониста.

Научная новизна. Изучены антагонистическая активность, антибактериальный спектр, безвредность и продолжительность персистирования в кишечнике новорожденных телят нового штамма микроба – антагониста *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92.

На основании экспериментальных данных по определению сроков персистирования штамма *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92 в высокой концентрации в кишечнике телят после однократного скармливания маркированного штамма – пробионта предложен режим его применения

(дозы, кратность, интервал между введением), обеспечивающий высокую профилактическую эффективность препарата.

Практическая значимость работы. Для профилактики инфекционной диареи новорожденных телят бактериальной этиологии и оптимизации микробиоценоза помещений профилакториев молочных ферм рекомендован режим применения нового пробиотического препарата широкого антибактериального спектра и пролонгированного действия в отношении многих родов и видов патогенных бактерий – возбудителей инфекционной диареи молодняка, который вошел в «Методические рекомендации по неспецифической профилактике инфекционной диареи новорожденных телят на основе оптимизации микробиоценоза желудочно – кишечного тракта молодняка и репродукторных отделений молочных ферм», утвержденные Отделением ветеринарной медицины РАСХН 26. 12. 2006 г..

Апробация работы. Основные результаты исследований доложены на годовых отчетах лаборатории санитарной микробиологии по тематике НИР за 2004 – 2005 гг. и на межлабораторном совещании сотрудников ВНИИВСГЭ 26. 12. 2006. г.

Основные положения, выносимые на защиту:

- Данные, характеризующие антагонистическую активность и спектр антибактериального действия штамма *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92.
- Материалы по экспериментальному обоснованию оптимального режима применения нового штамма – антагониста для неспецифической профилактики кишечных инфекций новорожденных телят бактериальной этиологии и оптимизации микробиоценоза помещений профилакториев молочных ферм.
- Результаты производственного испытания штамма – *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92 на молочных фермах некоторых хозяйств Московской области.

Внедрение результатов исследований. Мероприятия по профилактике инфекционной диареи новорожденных телят и оптимизации микробиоценоза в профилакториях молочных ферм внедрены в двух хозяйствах Московской области.

Публикации. По теме диссертации опубликованы 4 научные статьи и подана заявка на предполагаемый патент от 11 мая 2006 г.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 140 стр. компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, предложений для практики, списка литературы, включающего 260 отечественных и 66 иностранных источников, приложения.

Работа иллюстрирована 8 таблицами и 10 фотоснимками.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы исследований

Работу выполняли в период 2003 – 2006 гг. в лаборатории санитарной микробиологии ВНИИВСТЭ, а также на базе трех молочных хозяйств Московской области: колхоза им. Владимира Ильича Ленинского района, ЗАО ПЗ «Петровское» Люберецкого района, ЗАО ПЗ «Барыбино» Домодедовского района.

Выделение и идентификацию культур энтеробактерий из проб указанных материалов осуществляли в соответствии с «Методическими указаниями по бактериологической диагностике колибактериоза (эшерихиоза) животных», а также «Методическими указаниями по бактериологической диагностике смешанной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемой патогенными энтеробактериями», утвержденными Департаментом ветеринарии МСХиП РФ, соответственно, 27 июля 2000 года и 11 октября 1999 года.

Определение патогенных штаммов эшерихий с адгезивными антигенами K88, K99, 987P, A20, F41 осуществляли согласно «Методическим указаниям по ускоренной индикации морганелл, сальмонелл и энтеропатогенных эшерихий с адгезивными антигенами в объектах внешней среды, кормах и патологическом материале при помощи реакции коагглютинации», утвержденными ГУВ Госагропрома СССР 18 января 1989 года.

При изучении антагонистической активности и спектра действия выделенных штаммов – антагонистов в качестве тест – микробов использовали 78 тест – культур разных родов и видов энтеробактерий: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, а также бактерии других видов – *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* и *Listeria monocytogenes*. Определение активности и антибактериального спектра микробов – антагонистов проводили по методикам Е. И. Басюк и соавт. (1994) и Р. П. Сотникова (Рационализаторское предложение ВНИИВСГЭ № 137 от 21 сентября 1998 г.).

Видовую идентификацию штамма *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92 осуществляли в соответствии с «Определителем бактерий Берджи» (1997) по морфологическим, культуральным свойствам, а также следующим тестам: рост штамма при pH среды 9,6, на среде с содержанием 6,5% NaCl, рост в присутствии 10 – 20% желчи, на питательных средах с углеводами (инулина, лактозы, маннита, раффинозы, салицина, трегалозы), в реакциях Фогэс – Проскауэра и с метилротом.

Безвредность штамма *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92 устанавливали в биопробе на белых мышах (внутрибрюшинное заражение в дозе 1,5 млрд м. к.) и клинически здоровых новорожденных телятах. Телятам суспензию штамма – пробионта вводили *per os* с первой выпойкой молозива в дозе 70 млрд. м. к., однократно.

Определение сроков персистирования в кишечнике телят штамма *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92 проводили на клинически здоровых новорожденных телятах, используя искусственно маркированный штамм по признаку устойчивости к рифампицину. Маркировку штамма по нашей просьбе осуществляли сотрудники лаборатории молекулярной микробиологии Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии (п. Оболенск Серпуховского р - на Московской обл.). До начала опытов исследовали пробы фекалий телят и соскобы с пола помещений профилактория с целью исключения возможности циркулирования на ферме естественно устойчивых к рифампицину штаммов микроорганизмов. Пробы фекалий у опытных телят брали спустя 24 часа после скармливания пробионта, а затем через сутки в течение 7 – 8 дней.

Производственные испытания суспензии штамма – антагониста проводили на молочных фермах в периоды массовых заболеваний новорожденных телят инфекционной диареей. В производственных опытах учитывали эпизоотическую обстановку на ферме в последние два года, уровень заболеваемости телят диареей, условия содержания и режим кормления новорожденных телят и рационы глубокостельных коров, технологию получения и выращивания новорожденных животных, а также ветеринарно – санитарные, зоогигиенические и противоэпизоотические мероприятия, проводимые в родильном отделении и профилактории.

До начала и после применения штамма – пробионта *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92 определяли видовой состав и биологические свойства микрофлоры, циркулирующей в репродукторных отделениях ферм.

В разных опытах нами было использовано 433 новорожденных теленка, бактериологическому исследованию подвергнуто 214 проб фекалий телят и соскобов с полов; изучены морфологические, тинкториальные и культурально – биохимические свойства у 48 культур бактерий, антигенные

свойства у 34 культур бактерий, антагонистическую активность определяли у 252 культур разных видов микробов.

2.2. Результаты исследований

2.2.1. Поиск штаммов – антагонистов, скрининг их антибактериальной активности и спектра действия

Для изыскания наиболее перспективного штамма – антагониста с целью профилактики бактериальных кишечных инфекций новорожденного молодняка и оптимизации микробиоценоза помещений профилакториев родильных отделений молочных ферм мы проводили скрининг антибактериальной активности и спектра антагонистического действия изолятов, относящихся к разным родам и видам.

Исследования по скринингу антагонистических свойств изолятов, относящихся к родам *Bacillus*, *Escherichia*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, проводили в отношении полевых и музейных штаммов энтеробактерий родов *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, а также *Listeria* и *Staphylococcus* (не менее 4 – 5 штаммов каждого рода). Изоляты были выделены из 111 проб различных материалов (фекалий и содержимого кишечника телят, поросят, кур, проб почвы и комбикормов). Из числа 111 изученных изолятов 48 обладали антагонистической активностью по отношению к тест – бактериям тех или других родов энтеробактерий, однако все они имели узкий спектр действия и ингибировали рост представителей одного – двух, в отдельных случаях трех родов перечисленных родов и видов энтеробактерий, при этом многие из этих изолятов имели весьма высокую активность, вызывая зону ингибирования тест – бактерий в радиусе 10 – 15 и более мм.

63 изолята, выделенные из тех же проб материалов, не проявляли никакой антагонистической активности в отношении использованных тест – бактерий.

Проводимые параллельно с нами сотрудниками ГНЦПМ и Б (Светочем Э. А., Левчуком В. П., Ковалевым Ю. Н.) скрининговые исследования позволили им выделить из кишечника трупа теленка высокоактивный по отношению к тест – бактериям родов *Escherichia* и *Salmonella* штамм стрептококка, обозначенный СЛК – 92, который по нашей просьбе был предоставлен нам для более глубокого изучения с целью возможного использования в качестве средства профилактики инфекционной диареи молодняка.

В проведенных 9 опытах по определению активности и спектра антагонистического действия штамма *Streptococcus* СЛК – 92 было использовано 78 тест – культур разных родов и видов энтеробактерий, в т. ч. 5 штаммов *Escherichia coli*, 12 штаммов *Proteus* (5 – *P. vulgaris* и 7 – *P. mirabilis*), 8 штаммов *Morganella morganii*, 5 штаммов *Citrobacter freundii*, 2 штамма *Enterobacter aerogenes*, 5 штаммов *Klebsiella pneumoniae*, 5 штаммов *Providencia rettgeri*, 10 штаммов *Yersinia* (5 – *Y. enterocolitica* и 5 – *Y. pseudotuberculosis*), 3 штамма *Bacillus*, 7 штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, 7 штаммов *Salmonella* (*Salm. infantis*, *Salm. choleraesuis*, *Salm. anatum*, *Salm. dublin*, *Salm. london*, *Salm. virchow*, *Salm. enteritidis*), 5 штаммов *Listeria monocytogenes*, 4 штамма *Staphylococcus aureus*.

Изучение антагонистической активности указанного штамма – пробионта показало, что он обладает выраженной антибактериальной активностью и имеет широкий спектр действия, ингибируя *in vitro* патогенные полевые и музейные штаммы бактерий родов *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Listeria*, *Staphylococcus*, но не задерживает роста бактерий видов *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis* и *Pseudomonas aeruginosa* (таблица 1).

Таблица 1

Антагонистическая активность штамма – антагониста

Streptococcus СЛК – 92

Тест – бактерии	Количество штаммов	Средний радиус зоны задержки роста тест – бактерий (мм)
<i>Escherichia coli</i>	5	8.6
<i>Citrobacter freundii</i>	5	7.5
<i>Morganella morganii</i>	8	11.4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	8.2
<i>Proteus vulgaris</i>	5	12
<i>Proteus mirabilis</i>	7	8.3
<i>Salmonella dublin</i>	1	11
<i>Salmonella enteritidis</i>	1	10
<i>Salmonella infantis</i>	1	5
<i>Salmonella choleraesuis</i>	1	5
<i>Salmonella london</i>	1	13
<i>Salmonella virchow</i>	1	10
<i>Providencia rettgeri</i>	5	12.6
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	10
<i>Yersinia enterocolitica</i>	5	-
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	5	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	5	8.8
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	7

2.2.2. Определение видовой принадлежности штамма *Streptococcus* СЛК – 92

При видовой идентификации штамма *Streptococcus* СЛК – 92, установлено, что по всем дифференциальным признакам (морфологическим, культуральным, биохимическим), согласно Определителю бактерий Берджи (1997), штамм принадлежит к виду *Streptococcus vestibularis* и характеризуется как непатогенный вид.

2.2.3. Определение безвредности штамма *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92

Безвредность штамма устанавливали в биопробе на белых мышцах и клинически здоровых новорожденных телятах. Доза микробов, вводимая мышам внутривентриально, составляла 1,5 млрд. м. к. Телятам суспензию пробионта искусственно скармливали с первой выпойкой молозива в дозе 70 млрд. м. к. по оптическому стандарту мутности ГИСК им. Л. А. Тарасевича. В результате определения безвредности штамма – антагониста *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92 видимых изменений в клиническом состоянии белых мышей и новорожденных телят не отмечалось при наблюдении за ними в течение 4 – х суток, все животные оставались живыми, сохраняли аппетит и не имели отклонений в поведении.

2.2.4. Определение срока персистирования штамма *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92 в кишечнике новорожденных телят после однократного скармливания разных доз бактерий

Опыты проводили на клинически здоровых новорожденных телятах в профилактории родильного отделения колхоза им. Владимира Ильича Ленинского района Московской области в период благополучия хозяйства по массовым желудочно – кишечным заболеваниям молодняка.

До начала опытов было установлено отсутствие циркулирования в помещении профилактория и кишечнике телят штаммов микробов, естественно устойчивых к рифампицину.

В опытах по определению сроков персистирования штамма *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92 в кишечнике на 17 новорожденных телятах при однократном скармливании искусственно маркированного штамма установлено, что при выпаивании его новорожденным животным с первой выпойкой молозива в дозе 50 млрд. м. к. высокая концентрация клеток пробионта в кишечнике сохранялась в течение 4 – х суток и существенно не отличалась от той, которая отмечалась через сутки после его

применения. К 6 суткам происходило значительное уменьшение числа клеток – пробионта. При скормливаниях дозы 70 млрд. м. к. бактерии штамма пробионта продолжали выделяться с фекалиями в высокой концентрации и на 6 сутки.

Полученные в этих опытах данные послужили основой для определения схемы применения суспензии препарата для профилактики инфекционной диареи: в первый и пятый дни жизни телят в дозе по 50 – 60 млрд. м. к. (в зависимости от массы тела) с молозивом, молоком или кипяченой водой.

Широкий спектр действия препарата в отношении многих родов и видов патогенных бактерий, способных вызывать диарею бактериальной этиологии, а также, возможность получения эффекта от двукратного скормливания суспензии препарата, отличает его от большинства применяемых коммерческих ветеринарных пробиотиков, рекомендуемых для профилактики и лечения кишечных инфекций молодняка животных.

2.2.5. Характеристика эпизоотической обстановки в животноводческих хозяйствах, условия получения и выращивания новорожденного молодняка, микробиоценоз репродукторных помещений молочных ферм

В ЗАО Госплемзаводе «Петровское» (Токаревском молочном комплексе) Люберецкого района Московской области при исследовании 10 проб фекалий больных диареей телят до 10 – дневного возраста и сборных проб соскобов с полов помещений профилактория на видовой состав микрофлоры до применения суспензии штамма – антагониста из 7 проб были выделены энтеропатогенные эшерихии с адгезивными антигенами K88, K99, F41, реже 987P. Бактерии рода *Proteus* содержались в высокой концентрации в 8 пробах.

После применения пробиотического препарата и существенного улучшения эпизоотической обстановки в хозяйстве нами было исследовано

11 проб фекалий новорожденных телят и сборных проб соскобов с полов помещений профилактория, результаты которых показали, что из числа 11 исследованных проб ни в одной из них не было обнаружено бактерий рода *Proteus*, из 9 проб были выделены *E. coli*, из 2^x проб – *Citrobacter diversus*.

В ЗАО Племенной завод «Барыбино» (отделение Лобаново) Домодедовского района в зимне – весенний период у новорожденных телят отмечалась энзоотическая вспышка острых кишечных инфекций, заболеваемость животных достигала 85– 90%, а падеж 40 – 45%. Заболевание телят протекало обычно в тяжелой форме с наличием профузного поноса, потерей аппетита, обезвоживанием организма, нарастающей слабостью. Вспышке заболевания способствовали грубые нарушения в содержании и выращивании родившихся животных, обусловленные отсутствием в родильном отделении родильных денников и изолированных секций профилактория, которые можно было бы подвергать периодической смене и санации, проводить отелы и выращивание телят в надлежащих санитарно – гигиенических условиях, а животные, родившиеся в ночное время, могли своевременно получать молозиво путем высасывания его из молочной железы коров – матерей. В весенне-летний период 2006 года, когда нами проводилось испытание штамма – антагониста, отелы коров проходили за пределами родильного отделения в открытых огороженных загонах, родившиеся телята находились на подсосе 3 суток, затем их размещали в отдельных клетках, расположенных вне профилактория. Кормление телят молозивом и молоком было 3 раза в сутки из сосковых поилок в течение 7 – 10 дней, затем их переводили на выпаивание из ведра.

Для изучения видового состава и биологических свойств микрофлоры кишечника телят 1 – 12 – дневного возраста нами было исследовано 11 проб фекалий новорожденных телят и сборных проб соскобов с клеток, взятых до начала скармливания штамма – пробионта.

При исследовании этих проб в РКОА в большинстве их были обнаружены энтеропатогенные эшерихии, содержащие адгезивные антигены: в 4 пробах - с K99, в 3 пробах – с F41, в 1 пробе – с K88, в 1 пробе – с 987P. Из числа 11 проб фекалий и соскобов с полов в 7 пробах (70%) отмечался сплошной или ограниченный рост протей, что свидетельствовало о высокой концентрации этих бактерий, циркулирующих на данной ферме. Помимо энтеропатогенных эшерихий в одной пробе содержались *Citrobacter freundii*, в трех пробах – *Citrobacter diversus*, 7 культур лактозотрицательных грамотрицательных бактерий не относились к семейству Enterobacteriaceae.

Из этих данных можно заключить, что на неблагополучной Лобановской ферме племенного завода «Барыбино» доминирующими представителями микробиоценоза кишечника новорожденных телят и окружающей среды являлись патогенные штаммы эшерихий, имеющие адгезивные антигены, штаммы протей и цитробактера.

2.2.6. Результаты производственного испытания штамма – антагониста *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92

Определение эффективности действия штамма – пробионта проводили в двух хозяйствах: профилактории родильного отделения ЗАО Госплемзавода «Петровское» (на Токаревском молочном комплексе) Люберецкого района и на молочной ферме ЗАО Племенной завод «Барыбино» отделении Лобаново Домодедовского района Московской области во время энзоотической вспышки инфекционной диареи, возникающей у телят обычно в первые 2 – 3 дня жизни.

До начала и после окончания испытания пробиотика проводили бактериологические исследования проб фекалий больных, клинически здоровых (ранее обработанных пробиотиком) новорожденных телят, а также соскобов с полов профилактория для определения видового состава и биологических свойств циркулирующей микрофлоры.

Суспензию пробиотика готовили в лаборатории санитарной микробиологии ВНИИВСГЭ и каждые 8 – 10 дней доставляли на фермы. Данные о сроках применения препарата каждому теленку и учет клинического состояния животных в первые 10 – 12 дней их жизни регистрировали ежедневно ветработники и телятницы ферм в отдельных журналах.

Всего в двух хозяйствах опытные группы телят, которые получали суспензию *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92, включали 222 головы. Контрольные группы телят, которые пробиотик не получали, насчитывали 117 голов.

В опытной группе телят молочной фермы ГПЗ «Петровское» из числа родившихся 148 телят 5 животных погибло по причинам, не связанным с поражением желудочно – кишечного тракта, а из 143 гол. телят – 110 гол. (77%) не болели диареей; у 33 гол. (23%) заболевание протекало в легкой форме и непродолжительное время. В контрольной группе из числа 89 гол. телят переболело диареей в тяжелой форме 41 гол. (46%), в легкой форме – 20 гол. (22%). В результате лечения больных животных сохранность телят в обеих группах составила 100% (таблица 2).

Таким образом, в результате применения штамма – антагониста отмечалось снижение заболеваемости телят диареей в 3 раза по сравнению с контролем. Следует отметить, что у тех телят, которые получали пробионт и заболевали диареей, болезнь проявлялась в легкой форме и непродолжительное время (1 – 2 дня). Все случаи заболевания диареей заканчивались выздоровлением телят после диет- и симптоматической терапии.

Данные о профилактическом действии штамма *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92 на молочной ферме ЗАО Племенной завод «Барыбино» представлены в таблице 3.

Таблица 2

Профилактическое действие штамма *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92 на
молочной ферме ГПЗ «Петровское» Люберецкого р – на

Опытная				Контрольная					
кол-во родив- шихся телят	заболело диареей			выздо- ровело	кол-во родив- шихся телят	заболело диареей			выздо- ровело
	всего	легкое течение	тяжелое течение			всего	легкое течение	тяжелое течение	
148*	33 (23%)	33 (23%)	-	33 (100%)	89	61 (68%)	20 (22%)	41 (46%)	61** (100%)

Примечание: * 3 теленка погибло от аспирационной бронхопневмонии, 2 теленка пало на 4 – 5 сутки после рождения от общей слабости в результате рождения гипотрофиками.

** полное выздоровление многих телят контрольной группы наступало на 6 – 9 и даже 11 день после интенсивного лечения.

Таблица 3

Профилактическое действие штамма *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92 на
молочной ферме отделения Лобаново ЗАО ПЗ «Барыбино»
Домодедовского р – на

Опытная группа				Контрольная группа					
Кол- во родив- шихся телят	Заболело диареей			Выздо- ровело	Кол-во родив- шихся телят	Заболело диареей			Выздо- ровело
	всего	легкое течение	тяжелое течение			всего	легкое течение	тяжелое течение	
74	46 (62%)	46 (62%)	-	46 (100%)	28	26 (75%)	5 (25%)	21 (75%)	26 (100%)

Как видно из данных таблицы 3, опытная группа насчитывала 74 гол. телят, из которых заболело диареей в легкой форме 46 гол. (62%), а 28 гол.

(38%) телят не болели желудочно – кишечными заболеваниями до 10 – 12 дневного возраста.

В контрольной группе из числа 28 гол. телят переболело диареей преимущественно в тяжелой форме 21 гол. (75%), в легкой форме 5 гол. (25%). При лечении больных телят, проводимого ветработниками фермы, использовали внутривенные инъекции байтрила, хлористого кальция, подкожное введение растворов глюкозы и кофеина, антибактериальные препараты, что обеспечивало 100% - ное выздоровление животных.

Следует отметить, что применение штамма – антагониста *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92 позволило на этой ферме также избежать проявление болезни в тяжелой форме и в 1,2 раза снизить заболеваемость новорожденных телят инфекционной диареей бактериальной этиологии.

2.2.7. Сравнительная оценка эффективности профилактического действия некоторых коммерческих пробиотиков со *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92

В ЗАО Госплемзавод «Петровское» (Токаревском молочном комплексе) Люберецкого района Московской области проводилось сравнительное испытание двух коммерческих пробиотиков – лактобифадола и ветома 1:1. Оба эти пробиотика скармливали телятам согласно наставлениям по их применению. В частности, первый применяли 1 раз в день в течение 10 дней ежедневно, второй выпаивали новорожденным телятам 1 раз в двое суток в течение 10 дней.

Наблюдение за клиническим состоянием телят проводили ветврач и телятница фермы, данные о каждом теленке со дня его рождения до 10 – 12 дневного возраста регистрировали в отдельном журнале. Результаты испытаний представлены в таблицах 4 и 5.

Из данных таблицы 4 видно, что из общего числа 35 телят, получавших лактобифадол, у 11 (31%) на 2 – 4 дни жизни отмечалась легко протекающая диарея, которую устраняли обычно диетическими средствами; общее

состояние телят было удовлетворительным, аппетит сохранялся. У 24 телят (69%) диарея протекала в тяжелой форме и хотя общее состояние животных было удовлетворительным, диарея трудно поддавалась лечению диетическими и симптоматическими средствами, аппетит у телят отсутствовал. Общая сохранность телят из числа заболевших к 10 – 12 дневному возрасту составляла 97%.

Таблица 4

Профилактическое действие лактобифадола при инфекционной диарее новорожденных телят

Опытная лактобифадол					Контрольная				
кол-во родив- шихся телят	заболело диареей			выздо- ровело	кол-во родив- шихся телят	заболело диареей			выздо- ровело
	всего	легкое течение	тяжелое течение			всего	легкое течение	тяжелое течение	
35	35 (100%)	11 (31%)	24* (69%)	34 (97%)	89	61 (68%)	20 (22%)	41 (46%)	61** (100%)

Примечание: * 1 теленок пал в результате диареи, протекавшей в тяжелой форме.

** полное выздоровление многих телят контрольной группы наступало после интенсивного лечения на 6 – 9 и даже 11 день.

При применении ветома 1:1 опытная группа насчитывала 26 телят, из которых у 80% (21 гол.) отмечалась диарея, протекавшая в легкой форме, которая проходила после лечения на 3 – 5 сутки. У 5 гол. (19%) болезнь проявлялась в тяжелой форме. Общая сохранность телят из числа заболевших к 10 – 12 дневному возрасту составляла 100%.

Таблица 5

Профилактическое действие ветома 1:1 при инфекционной диарее
новорожденных телят

Опытная					Контрольная				
Ветом 1:1									
кол-во родив- шихся телят	заболело диареей			выздо- ровело	кол-во родив- шихся телят	заболело диареей			выздо- ровело
	всего	легкое течение	тяжелое течение			всего	легкое течение	тяжелое течение	
26	26 (100%)	21 (80%)	5 (19%)	26 (100%)	89	61 (68%)	20 (22%)	41 (46%)	61** (100%)

Примечание: ** полное выздоровление многих телят контрольной группы наступало обычно на 6 – 9 день после интенсивного лечения.

Сравнительное испытание профилактического действия пробиотиков – лактобифадола, ветома 1:1 и *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92 показало, что применение последнего предохраняло 77% новорожденных телят от заболевания диареей к 10 – 12 дневному возрасту, а у 23% животных болезнь протекала лишь в легкой форме и непродолжительное время, заканчиваясь выздоровлением, тогда как при использовании лактобифадола заболеваемость телят инфекционной диареей составила 100%, а из них 69% животных переболели в тяжелой форме. При использовании ветома 1:1 заболеваемость телят диареей также составила 100%, при этом у 80% животных болезнь протекала в легкой форме и заканчивалась на 3 – 5 сутки и только 5 гол. (19%) переболели в тяжелой форме.

Экономическая эффективность от применения штамма – антагониста *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92 новорожденным телятам с профилактической целью на молочной ферме ГПЗ «Петровское» Люберецкого р – на составила в расчете на 100 гол. сумму в размере 37 440 руб по сравнению с телятами, не получавшими пробионт.

4. ВЫВОДЫ

1. Видовая идентификация штамма *Streptococcus* СЛК – 92 показала, что он, согласно Определителю бактерий Берджи (1997), относится к виду *Streptococcus vestibularis*. Данный штамм не обладает патогенностью для белых мышей при внутрибрюшинном заражении в дозе 1,5 млрд. м. к. и является безвредным для новорожденных телят при скармливании им дозы 70 млрд. м. к., у которых не отмечается каких – либо побочных действий и отклонений в клиническом состоянии в течение 4^х сут после скармливания пробионта.

2. При изучении антагонистической активности штамма – пробионта *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92 установлена его высокая антибактериальная активность и широкий спектр действия. Штамм ингибирует *in vitro* патогенные полевые и музейные штаммы бактерий родов *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, а также *Listeria*, *Staphylococcus*, но не задерживает роста бактерий видов *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis* и *Pseudomonas aeruginosa*.

3. Продолжительность персистирования штамма *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92 в кишечнике новорожденных телят в высокой концентрации после однократного скармливания составляла: при введении дозы 50 млрд. м. к. – 4 суток; при введении дозы 70 млрд. м. к. – 6 суток, на основании чего был определен оптимальный режим применения штамма – пробионта для профилактики инфекционной диареи новорожденных телят бактериальной этиологии, включающий двукратное введение суспензии антагониста в первый и на 5 дни жизни телят в дозах по 50 – 60 млрд. м. к. (в зависимости от массы теленка).

4. Производственные испытания штамма *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92 показали, что он профилактировал инфекционную диарею бактериальной этиологии у новорожденных телят в разных хозяйствах,

соответственно, в 3 и 1,2 раза по сравнению с контрольными телятами, не получавшими штамм – антагонист. У большинства опытных животных, заболевших диарей, болезнь протекала в легкой форме, непродолжительное время и заканчивалась выздоровлением после одной диетотерапии и использования симптоматических средств.

5. Использование штамма – пробионта *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92 оказывало благоприятное влияние на формирование микробиоценоза помещений профилактория молочных ферм за счет снижения уровня патогенных штаммов разных видов энтеробактерий, циркулирующих в окружающей среде.

6. Экономическая эффективность от применения штамма – антагониста *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92 с целью профилактики инфекционной диареи бактериальной этиологии новорожденным телятам на молочной ферме ГПЗ «Петровское» Люберецкого р – на составила в расчете на 100 гол. сумму в размере 37 440 руб по сравнению с телятами, не получавшими пробионт.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ДЛЯ ПРАКТИКИ

На основании проведенных исследований разработаны:

Методические рекомендации по неспецифической профилактике инфекционной диареи новорожденных телят на основе оптимизации микробиоценоза желудочно – кишечного тракта молодняка и репродукторных отделений молочных ферм, утвержденные Отделением ветеринарной медицины РАСХН 26. 12. 2006 г..

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Л. С. Каврук, М. Г. Аверенкова. Разработан и испытан новый пробиотик СЛК – 92 // Газ. «Ветеринарный консультант», М., 2006, с. 18 – 19.

2. Л. С. Каврук, М. Г. Аверенкова. Новорожденному молодняку поможет новый пробиотик // Журнал «Ветеринария и кормление», М., 2006, с. 12 – 13.

3. М. Г. Аверенкова. Новый штамм – пробионт для профилактики и лечения желудочно – кишечных заболеваний новорожденных телят // Сборник трудов ВНИИВСГЭ «Проблемы вет. санитарии, гигиены и экологии», М., 2006, т. 118, с. 184 – 192.

4. М. Г. Аверенкова. Определение антагонистической активности и спектра действия микроба – пробионта *Streptococcus vestibularis* СЛК – 92 // Сборник трудов ВНИИВСГЭ «Проблемы вет. санитарии, гигиены и экологии», М., 2006, т. 118, с. 192 – 199.

5. Заявка на патент №2006 115 860 от 11.05.2006 г. Авторы: Светоч Э. А., Левчук В. П., Ковалев Ю. Н., Каврук Л. С., Аверенкова М. Г., Клево Е. И.

ВНИИВСГЭ г. Москва, Звенигородское шоссе, 5
Заказ 220/2. Тираж 80 экз.