

11 [in Russian]

14. Subbotin V.V., Sidorov M.A. Prevention of gastrointestinal diseases in newborn animals with diarrhea symptom complex. *Veterinary Medicine*. 2001. No 4. pp. 3-7 [in Russian]

15. Tambiev T.S., Malysheva L.A. Associative gastrointestinal infections of young pigs. *Izdatelstvo Donskoy GAU*. 2015. 180 p. [in Russian]

16. Kareva E.P., Irskiy A.G., Soldatenko H.A., Zimina V.N. Etiological structure of gastrointestinal diseases in piglets. *Veterinarniy consultant*. 2003. No 1. pp. 6. [in Russian]

17. Cheng G., Hao H., Xe S. Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in

animal husbandry. *Front in Microbiology*. 2014. pp. 1-15 [in Russian]

18. Gashins, H.R. Intestinal bacteria and their influence on swine growth. In: Lewis A.V. *Swine nutrition 2* and ed. CRC Press. Florida. USH: 2001. pp. 585–608 [in Russian]

19. Gresse R, Chaucheyras Durand F., Gut microbiotadysbiosis in postweaning piglets; understanding the keys to health. *Trends Microbiol*. 2017. 25. pp. 851–873 [in Russian]

20. Pluske J.R., Turpin D.L., Kim J.C. Gastrointestinal tract (gut) health in the young pig. *Anim. Nutr*. 2018. 4(2). pp. 187–196 [in Russian]

УДК 619:637.055:579.6:639.3.043

DOI: 10.34655/bgsha.2021.62.1.011

Н.В. Явников, А.В. Ткачев

ИЗУЧЕНИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММОВ ЛАКТОБАКТЕРИЙ И БИФИДОБАКТЕРИЙ ПРОТИВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МАСТИТОВ У КОРОВ

Ключевые слова: корова, мастит, возбудители маститов, пробиотические бактерии.

*Частота выявления клинических форм мастита в различных технологических группах животноводческих хозяйствах Белгородской области колебалась от 1,70 до 4,33 %, субклинических – от 3,36 до 7,88 %. При бактериологических исследованиях проб молока и секрета вымени от клинически больных животных наиболее часто выявляли различные культуры стрептококков и стафилококков, соответственно, в 61,54 и 44,23 % исследуемых пробах. Реже выделяли культуры кишечной палочки – 15,38 % исследуемых проб, протей – 7,19 %, синегнойной палочки – 7,19 % и микоплазмы – 5,77 % соответственно. Стрептококки представлены *Str. agalactiae* – 11 культур (21,2 %), *Str. dysagalactiae* – 6 культур (11,5 %), *Str. pyogenes* – 4 культуры (7,7 %) и *Str. faecalis* – 2 культуры (3,8 %), стафилококки – *St. aureus* – 17 культур (32,7 %), *St. epidermidis* – 10 культур (19,2 %) и *St. haemolyticus* – 5 культур (9,6 %). Большинство выделенных культур, микроорганизмов-возбудителей маститов относятся к антибиотико-резистентным штаммам. Обнаружили 100 % резистентность данных культур к прокаин-бензилпенициллину, эритромицину, тетрациклину, стрептомицину и неомицину. Наименьшую устойчивость культуры-возбудители маститов проявили к амоксициллину потенцированного клавулановой кислотой, цефтиофуру и цефкиному. Исследования *in vitro* показали высокую антагонистическую активность лактобактерий и бифидобактерий по отношению к наиболее распространённым возбудителям маститов. Принимая во внимание то, что маститы коров являются не только проблемой животноводства, но и социальной, считаем необходимым разрабатывать и внедрять методы лечения данного заболевания без применения противомикробных препаратов, в том числе с использованием пробиотических микроорганизмов.*

N. Yavnikov, A. Tkachev

STUDY OF ANTAGONISTIC ACTIVITY OF LACTOBACILLUS AND BIFIDOBACTERIUM STRAINS AGAINST CAUSATIVE AGENTS OF COW MASTITIS**Keywords:** cow, mastitis, mastitis pathogens, probiotic bacteria.

The frequency of detection of clinical forms of mastitis in various technological groups of livestock farms in the Belgorod region ranged from 1.70 % to 4.33 %, subclinical - from 3.36 % to 7.88 %. During bacteriological studies of milk samples and udder secretions from clinically ill animals, various cultures of streptococci and staphylococci were most often detected, respectively in 61.54% and 44.23% of the studied samples. Less frequently isolated cultures of Escherichia coli 15.38 % of the studied samples, Proteus-7.19 %, Pseudomonas aeruginosa-7.19 % and Mycoplasma-5.77 %, respectively. Streptococci are represented by Str. aqalactiae-11 cultures (21.2 %), Str. dysaqalactiae-6 cultures (11.5 %), Str. pyogenes-4 cultures (7.7 %) and Str. faecalis – 2 crops (3.8 %). Staphylococci – St. aureus – 17 cultures (32.7 %), St. epidermidis – 10 cultures (19.2%) and St. haemolyticus – 5 cultures (9.6%). Most of the isolated cultures, microorganisms that cause mastitis, belong to antibiotic-resistant strains. These cultures were found to be 100% resistant to procaine benzylpenicillin, erythromycin, tetracycline, streptomycin, and neomycin. The least resistance of the culture-pathogens of mastitis showed to amoxicillin potentiated with clavulanic acid, ceftiofur and cefkin. In vitro studies have shown high antagonistic activity of lactobacilli and bifidobacteria in relation to the most common pathogens of mastitis. Taking into account that cow mastitis is not only a problem of animal husbandry, but also a social one. We consider it necessary to develop and implement methods of treatment of this disease without the use of antimicrobial drugs, including the use of probiotic microorganisms.

Явников Назар Валентинович, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры незаразной патологии; e-mail: virus0401@mail.ru

Nazar V. Yavnikov, Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Non-infectious Pathology Chair; e-mail: virus0401@mail.ru

Ткачев Александр Владимирович, доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры общей и частной зоотехнии

Alexander V. Tkachev, doctor of agricultural Sciences, Professor of the Department of General and Private Animal Science

ФГБОУ ВО «Белгородский государственный аграрный университет им. В.Я. Горина», п. Майский, Белгородская обл., Российская Федерация

Belgorod State Agrarian University named after V. Ya. Gorin, Maysky, Belgorod region, Russian Federation

Введение. Молоко является полноценным и наиболее усваиваемым продуктом питания. Заболевание коров маститами является одной из основных причин снижения молочной продуктивности коров. Опасно попадание молока от больных маститами коров в сборное молоко, это приводит к снижению качества и питательной ценности молочных продуктов, которые к тому же могут стать причиной заболеваний людей [1-4].

Традиционно основным способом лечения маститов является антибиотикоте-

рапия. Но при использовании антибиотиков и других противомикробных препаратов для лечения лактирующих животных происходит накопление данных препаратов в молоке. И после окончания курса лечения производители вынуждены утилизировать молоко от таких животных на период каренции препарата.

Поэтому существует необходимость создания препаратов для лечения маститов, действующим началом которых были бы не антибиотики [5-8]. Одним из перспективных направлений при создании ле-

чебно-профилактических противомаститных препаратов является использование пробиотических культур [7-10].

Целью исследования было установить особенности антагонистической активности штаммов лактобактерий и бифидобактерий, которые применяются при производстве пробиотиков, против возбудителей маститов коров.

Материалы и методы. На первом этапе наших исследований изучали распространение клинических и субклинических маститов у дойных и сухостойных коров в хозяйствах Белгородской области. Для изучения распространения клинических и скрытых маститов было обследовано 2174 животных, из этого числа 1638 голов в период лактации, в том числе 116 животных во время запуска и 536 животных в период сухостоя. Клинический мастит был выявлен у 71 коровы (4,33 %), в том числе у 5 животных (3,45 %) во время запуска и у 9 особей (1,70 %) в период сухостоя. При этом заболевание маститом в субклинической форме установлено у 129 голов (7,88 %), в том числе у 14 животных (12,10 %) во время запуска и у

18 (3,36 %) сухостойных коров.

С целью изучения этиопатогенеза маститов были проведены бактериологические исследования молока (секрета) 52 коров, больных клиническим маститом. При этом было выделено 32 культуры *Streptococcus*, 23 – *Staphylococcus*, 8 – *E.coli*, по 4 культуры *Pseudomonas* и *Proteus* и 3 – *Micoplasma*.

Результаты исследований. В исследованных пробах чаще всего обнаруживали бактерии родов *Streptococcus* (61,54 %) и *Staphylococcus* (44,23%), что свидетельствует о главном этиологическом значении в возникновении клинических маститов коров. Из 12 (23,1 %) проб молока/воспалительного секрета одновременно выделяли бактерии обоих родов.

При маститах с разным характером воспалительного процесса и клинического течения существенная разница в видовом составе микрофлоры не установлена (табл. 1). Однако культуры *Proteus* и *Pseudomonas* чаще выделяли при гнойных формах маститов, а микоплазмы – при серозно-катаральных маститах.

Таблица 1 – Микрофлора секрета вымени при различных формах клинических маститов у коров

Характер воспаления вымени	Количество исследованных проб	Количество выделенных культур					
		<i>Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>E.coli</i>	<i>Proteus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Micoplasma</i>
серозный	16	11	8	-	-	-	-
катаральный	13	8	5	1	-	-	1
серозно-катаральный	11	5	6	1	1	-	2
гнойно-катаральный	7	6	1	3	1	2	-
гнойный	3	-	2	3	2	1	-
геморрагический	2	2	1	-	-	1	-
Всего	52	32	23	8	4	4	3

Изучение культуральных и биохимических свойств выделенных культур позволило отнести их к следующим видам. Род *Staphylococcus* представлен *St. aureus* – 17 культур (32,7 %), *St. epidermidis* – 10 культур (19,2 %) и *St. haemolyticus* – 5 культур (9,6 %). Род

Streptococcus представлен *Str. aqalactiae* – 11 культур (21,2 %), *Str. dysaqalactiae* – 6 культур (11,5 %), *Str. pyogenes* – 4 культуры (7,7 %) и *Str. faecalis* – 2 культуры (3,8 %). Род *Escherichia* был представлен *E. coli* – 8 культур (15,4 %); род *Proteus* был представлен *Pr. Vulgaris* – 4 культу-

ры (7,7 %), род *Pseudomonas* – *Ps. aeruginosa* – 4 культуры (7,7 %) и род *Micoplasma* – *M. bovis* – 3 культуры (5,8 %).

При определении чувствительности выделенных культур родов *Staphylococcus* и *Streptococcus* к 20 противомикробным препаратам в 100 % случаев они проявляли устойчивость к прокаин-бензилпенициллину, эритромицину, тетрациклину, стрептомицину и неомицину; в 70-99 % случаев – к канамицину, тилозину, трисульфону, триметоприму, норфлоксацину и колистину; в 40-69 % – к амоксициллину, гентамицину, окситетрациклину, цефазолину, ципрофлоксацину и энрофлоксацину; в 10-39 % – к амоксициллину с клавулановой кислотой и цефтиофуру; до 10 % культур резистентны к цефкиному.

При определении чувствительности выделенных культур *Escherichia coli* к противомикробным препаратам в 100 % случаев они проявляли устойчивость к прокаин-бензилпенициллину, эритромицину, тетрациклину, стрептомицину, неомицину, тилозину, трисульфону и триметоприму; в 70-99 % случаев – к амоксициллину, канамицину и колистину; в 40-69 % – к амоксициллину с клавулановой кислотой, гентамицину, окситетрациклину, цефазолину и

энрофлоксацину; в 13-39 % – к норфлоксацину, ципрофлоксацину и цефтиофуру; к цефкиному резистентность выявлена у 1 культуры (13 %).

Таким образом, нашими исследованиями установлено, что наиболее распространенные штаммы микроорганизмов возбудителей маститов характеризуются полирезистентностью к антимикробным препаратам. Поскольку основной способ лечения маститов коров – это применение противомикробных препаратов, существует опасность недостаточно эффективного лечения маститов, вызванного устойчивыми к антибиотикам штаммами. В настоящее время как альтернатива антибиотикотерапии широко применяются пробиотические препараты, в том числе и для лечения маститов. Перед определением терапевтической эффективности *in vivo* были проведены исследования по установлению антагонистической активности молочнокислых бактерий по отношению к патогенной микрофлоре по методу Н.С. Егорова (1997). Антагонистическую активность пробиотических штаммов *L. plantarum* 8 β , *B. adolescentis* 17-11 β определяли в отношении наиболее распространенных микроорганизмов возбудителей маститов.

Таблица 2 – Антагонистическая активность пробиотических штаммов по отношению к микроорганизмам-возбудителям маститов (диаметр зон задержания роста, мм), ($M \pm m$, $n = 6$)

Бактерии	Тест-культуры	
	<i>L. plantarum</i> 8 β	<i>B. adolescentis</i> 17-11 β
<i>St. aureus</i>	21,64 \pm 0,38	20,68 \pm 0,30
<i>St. epidermidis</i>	24,72 \pm 0,31	23,92 \pm 0,24
<i>St. haemolyticus</i>	20,73 \pm 0,17	21,18 \pm 0,31
<i>Str. aqalactiae</i>	22,34 \pm 0,21	23,37 \pm 0,23
<i>Str. dysaqalactiae</i>	24,10 \pm 0,25	24,62 \pm 0,32
<i>E. coli</i>	20,90 \pm 0,39	20,16 \pm 0,21

Как видно из данных, приведенных в таблице 2, штаммы *L. plantarum* 8 β , *B. adolescentis* 17-11 β проявляли высокую антагонистическую активность в отношении патогенной микрофлоры, зоны задержки роста составляли, в среднем,

20,16-24,62 мм.

Активность, проявленная штаммами *L. plantarum* 8 β и *B. adolescentis* 17-11 β *in vitro* в отношении микроорганизмов родов *Staphylococcus*, *Streptococcus* и *Escherichia*, вызывающих маститы у ко-

ров, позволяет использовать данные пробиотиков с целью разработки препаратов для лечения маститов.

При тестировании культур в РМГА в большинстве (до 60 %) выделенных стафилококков и стрептококков установлены адгезивные свойства. В реакции РМГА было исследовано по 15 культур *Streptococcus* и *Staphylococcus*. При этом 7 (46,7 %) культур *Staphylococcus* вызывали агглютинацию эритроцитов морской свинки и барана в разведении 1: 2, что свидетельствует об их слабовыраженной адгезивной активности. Бактериям рода *Streptococcus* присущи более выраженные адгезивные свойства, поскольку они агглютинировали эритроциты морской свинки и барана в разведении 1:2 (2 культуры – 13,3 %), 1: 4 (5 культур – 33,3 %) и в разведении 1: 8 (1 культура – 6,7 %).

Выводы. 1. Основными этиологическими факторами клинических маститов у коров в Белгородской области являются грамположительные микроорганизмы – стрептококки – 61,5 % от общего количества выделенных культур и стафилококки – 44,2 %; менее значима роль кишечной палочки – 15,4 %, протей и синегнойной палочки – по 7,7 % и микоплазм – 5,8%.

2. Выделенные культуры-возбудители маститов коров в Белгородской области обладают резистентностью к большинству антибактериальных препаратов различных фармакологических групп.

3. Пробиотические штаммы *L. plantarum* 8 β , *B. adolescentis* 17-11 β , которые используются при производстве кормовых добавок, проявляли высокую антагонистическую активность в отношении патогенных микроорганизмов-возбудителей маститов, зоны задержки роста составляли, в среднем, 20,16-24,62 мм.

Библиографический список

1. Белкин Б.Л., Комаров В.Ю., Андреев В.Б. Мастит коров: монография / под ред. профессора Б.Л. Белкина. – Орел: Изд-во Орловского государственного аграрного университета имени Н.В. Парахина, 2015. – 113 с.

2. Возбудители клинических и субклини-

ческих маститов коров и их чувствительность к антибактериальным препаратам / А.В. Горбенко, Д.В. Гадзевич, С.А. Гужвинская и др. // Ветеринарная медицина – 2013. – Вып. 97. – С.176-179.

3. Баркова А.С., Шурманова Е.И., Липчинская А.К. Заболеваемость коров маститами и качество молока // Аграрный вестник Урала. – 2010. – № 11–2. – С. 10–11.

4. Раповская Ю.П., Фурманов И.Л. Сравнительная оценка способов диагностики субклинического мастита у коров / Сб.: Диагностика, лечение и профилактика акушерско-гинекологических заболеваний у животных: материалы Всероссийской студенческой научно-практической онлайн-конференции с международным участием. – Орел: Орловский государственный аграрный университет имени Н.В. Парахина, 2014. – С. 34-35.

4. Кочарян В.Д., Чижова Г.С., Перерядкина С.П. Поиск лечения мастита без антибиотиков // Нижневолжский агроуниверситетский комплекс: наука и высшее профессиональное образование. – 2015. – № 2 (38). – С. 184-189.

5. Перепелюк А., Сопова Ю. Лечение мастита может приносить прибыль. Лечим мастит без антибиотиков // АПК Эксперт. – 2012. – № 4. – С. 42-44.

6. Егунова, А.В. Применение септогеля при мастите у коров // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2009. – № 4. – С. 63–64.

7. Киселева Е.В., Сорокина И.А. Применение препарата хлорофиллипта растительного средства для лечения мастита у коров // Вестник РГАТУ. – 2012. – № 1(13). – С.14-17.

8. Киселева Е.В., Киселев О.А., Незаленова А.А. Опыт использования различных препаратов для лечения мастита у коров в ООО «АПК «Русь» Рыбновского района Рязанской области // Принципы и технологии экологизации производства в сельском, лесном и рыбном хозяйстве: материалы 68-й Международной научно-практической конференции, посвященной Году экологии в России. - Рязань, 2017. – С. 74-77.

8. Бала С.С., Савина И.В. Диагностика и лечение маститов у коров // Успехи современного естествознания. – 2005. – № 10. – С. 36-37.

9 Ткачев А.В. Зоогиgienическая оценка бактериального загрязнения козьего молока Белгородской области // Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии. -

2020. - № 2 (16). - С. 120-126.

10. Ткачев А.В. Зоогигиеническая оценка качества молока коз различных пород // Международный вестник ветеринарии. – 2020. - № 2. – С. 137-143.

11. Ткачев А.В. Эффективность различных зоогигиенических методик оценки козьего молока по количеству соматических клеток // Ветеринария и кормление. – 2020. – № 5. – С. 47 – 50.

1. Belkin B.L., Komarov V.Yu., Andreev V.B. Mastitis of cows. Ed. by Professor B.L. Belkin. Publishing house of Oryol state agrarian University named after N. V. Parakhin. 2015. 113 p. [in Russian]

2. Gorbenko A.V., Gadzevich D.V., Guzhvinskaya S.A. et al. Pathogens of clinical and subclinical mastitis of cows and their sensitivity to antibacterial drugs. Veterinary medicine. 2013. Issue 97. pp. 176-179 [in Russian]

3. Barkova A.S., Shurmanova A.S., Lipchinskaya A.K. The incidence of cow mastitis and milk quality. Agrarian Bulletin of the Urals. 2010. No 11. pp. 10–11 [in Russian]

4. Rapovskaya Yu.P., Furmanov I.L. Comparative evaluation of methods for diagnosing subclinical mastitis in cows. Materials of the all-Russian student Sci. and Pract. online conf. with Int. Part. "Diagnostics, treatment and prevention of obstetric and gynecological diseases in animals". Orel. 2014. pp. 34-35 [in Russian]

4. Kocharyan V.D., Chizhov G.S., Pererodina S.P. Search for a cure mastitis without antibiotics. *Nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa: nauka i vyssheye professional'noye obrazovaniye.*

2015. No 2 (38). pp. 184-189 [in Russian]

5. Perepelyuk A., Sopova Yu. Treatment of mastitis can be profitable. We treat mastitis without antibiotics. *APK Ekspert.* 2012. No 4. pp. 42-44 [in Russian]

6. Egunova A.V. Application of Septogel in mastitis in cows. *Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii.* 2009. No 4. pp. 63-64 [in Russian]

7. Kiseleva E.V., Sorokina I.A. Application of Chlorophyllipt herbal medicine for the treatment of mastitis in cows. *Vestnik RGATU.* No 1(13). 2012. pp. 14-17 [in Russian]

8. Kiseleva E.V., Kiselev O.A., Nezalenova A.A. Experience of using various drugs for the treatment of mastitis in cows in LLC "APK " Rus " Rybnovsky district of the Ryazan region. Proc. of the 68th Int. Sci. and Pract. Conf. dedicated To the Year of ecology in Russia "Principles and technologies of greening production in agriculture, forestry and fisheries". Ryazan. 2017. pp. 74-77 [in Russian]

8. Bala S.S., Savina I.V. Diagnosis and treatment of mastitis in cows. *Uspekhi sovremennogo yestestvoznaniya.* 2005. No 10. pp. 36-37 [in Russian]

9. Tkachev A.V. Zoogenic assessment of bacterial contamination of goat milk of the Belgorod region. *Aktualnyye voprosy selskokhozyaystvennoy biologii.* 2020. № 2 (16). pp. 120-126 [in Russian]

10. Tkachev A.V. Zoohygienic quality assessment of goats milk of various breeds. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii.* 2020. No 2. pp. 137-143 [in Russian]

11. Tkachev A.V. The effectiveness of various zoohygienic methods for assessing goat milk by the number of somatic cells. *Veterinariya i kormleniye.* 2020. No 5. pp. 49–51 [in Russian]