

Научная статья
УДК 619:579.842.17
DOI: 10.37102/0869-7698_2022_222_02_11

Особенности энтеробиоценоза новорожденных телят при массовых желудочно-кишечных заболеваниях

М.Е. Остякова, И.С. Шульга✉

Марина Евгеньевна Остякова
доктор биологических наук
доцент
Дальневосточный зональный научно-исследовательский ветеринарный институт,
Благовещенск, Россия
dalznividv@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2996-0991>

Ирина Станиславовна Шульга
кандидат биологических наук
ведущий научный сотрудник
Дальневосточный зональный научно-исследовательский ветеринарный институт,
Благовещенск, Россия
dalznivilabmicro@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2514-3879>

Аннотация. Острой проблемой для хозяйств, занимающихся разведением и выращиванием крупного рогатого скота, является заболеваемость и гибель молодняка. Основной ущерб животноводству наносят инфекционные болезни, возбудителями которых являются условно-патогенные микроорганизмы. Состав и чувствительность микрофлоры к антибиотикам влияет на выбор эмпирической антибактериальной терапии в начале лечения. В связи с этим в условиях животноводческого хозяйства Тамбовского района Амурской области в период с 2016 по 2020 г. изучена этиологическая структура патогенных микроорганизмов и их ассоциаций, вызывающих массовые желудочно-кишечные заболевания новорожденных телят, и их резистентность к антимикробным препаратам. Проведен анализ антибиотикорезистентности при ассоциативном течении массовых желудочно-кишечных заболеваний, вызванных *Escherichia coli* и *Proteus mirabilis*, на наличие совместимости по отношению к антимикробным препаратам.

Результаты исследования крови новорожденных телят с клиническими признаками заболеваний пищеварительной системы показали наличие у них вторичных иммунодефицитов. Необходим иной подход к терапии дисбактериозов пищеварительной системы животных: выявление иммунодефицитных состояний, их коррекция и профилактика.

Ключевые слова: новорожденные телята, энтеробактерии, микробные ассоциации, антибиотико-чувствительность, резистентность

Для цитирования: Остякова М.Е., Шульга И.С. Особенности энтеробиоценоза новорожденных телят при массовых желудочно-кишечных заболеваниях // Вестн. ДВО РАН. 2022. № 2. С. 121–130. https://doi.org/10.37102/0869-7698_2022_222_02_11.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания.

Original article

Peculiarities of enterobiocenosis of newborn calves in the case of mass gastrointestinal diseases

M.E. Ostyakova, I.S. Shul'ga

Marina E. Ostyakova

Doctor of Biological Sciences

Associate Professor

Far East Zone Research Veterinary Institute, Blagoveshchensk, Russia

dalznividv@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-2996-0991>

Irina S. Shul'ga

Candidate of Biological Sciences

Senior Researcher

Far East Zone Research Veterinary Institute, Blagoveshchensk, Russia

dalznivilabmicro@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0003-2514-3879>

Abstract. An acute problem for farms engaged in breeding and rearing cattle is the morbidity and death of young animals. The main damage to animal husbandry is caused by infectious diseases, the causative agents of which are conditionally pathogenic microorganisms. The composition and sensitivity of microflora to antibiotics affect the choice of empiric antibacterial therapy at the beginning of treatment. The etiologic structure of pathogenic microorganisms and their associations in the cases of mass gastrointestinal diseases in newborn calves and their resistance to antimicrobial drugs was studied on a cattle farm of the Tambov District of the Amur Region in 2016–2020. The authors analyzed antibiotic resistance in calves with the associative course of mass gastrointestinal diseases, caused by *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*, for compatibility with antimicrobial agents.

The blood tests results of the study of newborn calves with clinical signs of the digestive system revealed the presence of secondary immunodeficiency disorders. Another approach to the treatment of dysbacteriosis of the animal digestive system is the detection of immune deficiency states, their correction, and prevention.

Keywords: newborn calves, enterobacteria, microbial associations, antibiotic susceptibility, resistance

For citation: Ostyakova M.E., Shul'ga I.S. Peculiarities of enterobiocenosis of newborn calves in the case of mass gastrointestinal diseases. *Vestnik of the FEB RAS*. 2022;(2):121–130. (In Russ.). https://doi.org/10.37102/0869-7698_2022_222_02_11.

Funding. The study was conducted according to the state assignment.

Наиболее острой проблемой для хозяйств, занимающихся разведением и выращиванием крупного рогатого скота, является заболеваемость и гибель молодняка. Причиной заболеваемости молодняка являются вирусные и бактериальные инфекции, а также их ассоциации. На первом месте в структуре болезней новорожденных телят (в возрасте от 1 до 30 дней) стоят нарушения работы желудочно-кишечного тракта (50–100 % телят). Смертность при этом может достигать 55 %. Основной ущерб животноводству наносят факторные инфекционные болезни [1], возбудителями которых являются условно-патогенные микроорганизмы [2–5], обладающие факторами персистенции, обеспечивающими «иммунорезистентность» и выживание возбудителя при контакте с гуморальными и клеточными эффекторами антибактериальной защиты макроорганизма [6].

Согласно различным исследованиям в ходе мониторинга этиологической структуры желудочно-кишечных болезней молодняка крупного рогатого скота из биоматериала, полученного от заболевших животных, выделяют различные микроорганизмы: бактерии *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* spp., грибы рода *Candida*, *Streptococcus* spp. В большинстве случаев циркулируют и выделяются примерно одни и те же возбудители, и чаще всего заболевания имеют полиэтиологичную природу [7, 8].

Проявление и распространение инфекционных болезней в период новорожденности у телят связаны с особенностями формирования иммунитета, низкой активностью компонентов врожденного и приобретенного иммунитета, повышенной проницаемостью анатомических барьеров (кожи и слизистых оболочек) для инфекционных агентов. Иммунодефициты новорожденных телят могут быть следствием перинатальной гипоксии и стресса, недостаточным или несвоевременным поступлением с молозивом защитных факторов, низким качеством молозива, недостаточном усвоении иммуноглобулинов [7, 9].

Для терапии желудочно-кишечных заболеваний животных наряду с симптоматическим лечением используют антибиотики, но за многие десятилетия патогенные и условно-патогенные микроорганизмы адаптировались к препаратам, и применение антибиотиков становится менее эффективным [5, 8, 10]. Постоянная циркуляция патогенных и условно-патогенных бактерий в условиях животноводческих хозяйств указывает на их потенциальную опасность. Необходим контроль за распространением штаммов микроорганизмов и их чувствительностью к антимикробным препаратам.

Цель исследования: определить этиологическую структуру патогенных микроорганизмов и их ассоциаций при массовых желудочно-кишечных болезнях новорожденных телят и их резистентность к антимикробным препаратам в условиях животноводческого хозяйства Тамбовского района Амурской области.

Материалы и методы

Материал отбирали в условиях животноводческого хозяйства Тамбовского района Амурской области. Исследования проведены в период с 2016 по 2020 г.

Исследовали пробы биоматериала из прямой кишки и кровь новорожденных телят с клиническими признаками острых кишечных расстройств. Использованы общепринятые в микробиологии методы. Морфологические свойства выделенных культур микроорганизмов изучали посредством световой микроскопии.

Культуральные свойства определяли по результатам посевов на обычные, специальные и дифференциально-диагностические среды. Наличие или отсутствие подвижности устанавливали с использованием питательной среды, предназначенной для идентификации микробов по маркеру подвижности. Биохимические свойства культур проверяли на способность сбраживать глюкозу, лактозу, мальтозу, манит, сахарозу, дульцит, использовать цитраты, синтезировать фенилаланиндезаминазу, сероводород, индол, каталазу, оксидазу. Идентифицировали выделенные микроорганизмы при помощи справочника «Определитель бактерий Берджи» [11].

Серологическую идентификацию бактерий *E. coli* проводили с использованием диагностических сывороток и в соответствии с Инструкцией по применению сывороток О-коли агглютинирующих (ФПК «Армавирская биофабрика»).

Чувствительность микроорганизмов к антимикробным препаратам определяли методом диффузии в агар с применением стандартных индикаторных дисков, затем оценивали антибиотикорезистентность.

Патогенность культур микроорганизмов устанавливали путем постановки биологической пробы на белых беспородных мышах по наступлению их гибели.

Биохимические и иммунологические исследования сыворотки крови проводили на биохимическом фотометре Stat Fax 1904+R с биохимическими реактивами SPINREACT.

Естественную резистентность телят оценивали по методике П.А. Емельяненко [12]. Статистическую обработку результатов исследований проводили по И.А. Ойвину [13].

Результаты исследования

Бактериологические исследования показали, что из биоматериала кишечника новорожденных телят были выделены следующие бактерии: *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* и *P. mirabilis*, *Enterobacter aerogenes* и *E. cloacae*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii* и *C. diversus*, *Pseudomonas aeruginosa* (рис. 1).

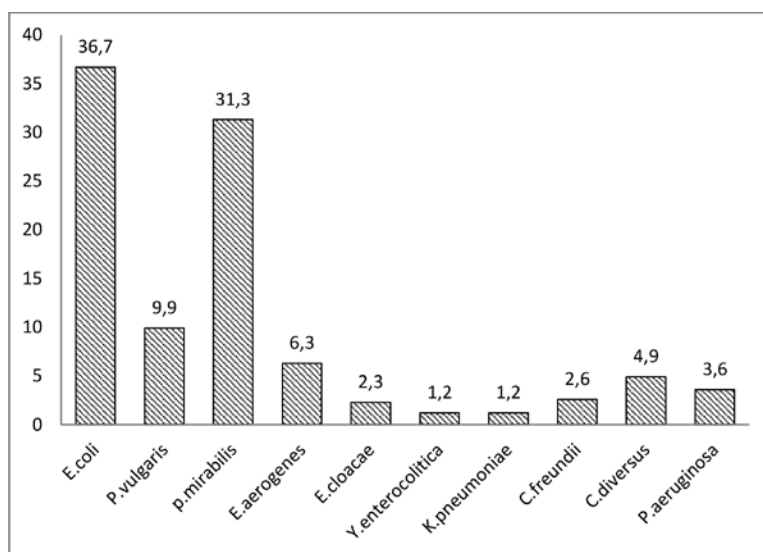


Рис. 1. Доля (%) видов условно-патогенных микроорганизмов в общем количестве выделенных культур

Среди выделенных бактерий чаще всего встречается *Escherichia coli* (кишечная палочка) – 36,7 %. При нормальном физиологическом состоянии макроорганизма эшерихия выполняет ряд полезных функций, в том числе антогониста патогенных кишечных бактерий (выделяет колицины), гнилостных бактерий, грибов рода *Candida*, принимает участие в синтезе витаминов группы В, Е, К₂, стимулирует иммунитет, частично расщепляет клетчатку, однако при снижении иммунных сил организма способна вызвать дисбактериозы кишечника и различные гнойно-воспалительные заболевания за пределами пищеварительного тракта: пневмонии, нагноения ран и полостей, циститы, отиты, менингиты, сепсис [14]. Были выделены энтеропатогенные серотипы кишечной палочки O15, O18, O26, O86, O137, вызывающие энзоотические вспышки колиинфекции у телят. В хозяйстве обнаруживали 1–2, реже 3–4 энтеропатогенных серотипа.

Вторым по частоте встречаемости является *Proteus mirabilis* (протей) – 31,3 %.

Из биологического материала микроорганизмы чаще выделяли в виде ассоциаций из 2–3 культур (рис. 2), наиболее обычны: *Escherichia coli* + *Proteus mirabilis* (30,8 %), *Escherichia coli* + *Enterobacter aerogenes* (15,4 %), *Escherichia coli* + *Proteus vulgaris* (12,8 %).

Так как кишечные инфекции в большинстве случаев представлены ассоциациями микроорганизмов, для результативного лечения необходимы точно подобранные лекарственные средства. Бесконтрольное применение антибактериальных препаратов приводит к повышению антибиотикорезистентности патогенной и условно-патогенной микрофлоры кишечника, что увеличивает сроки персистенции и повышает колонизационную активность. Необходим мониторинг антибиотикочувствительности энтеробактерий при назначении больным животным антибиотикотерапии.

Результаты антибиотикочувствительности *E. coli*, выделенных из биоматериала от новорожденных телят, показали, что бактерия резистентна к ципрофлоксацину, эритромицину, офлоксацину, бензилпенициллину (рис. 3). Наиболее чувствительны эшерихии были к полимиксину (91,7 %), цефазолину (70,6 %), стрептомицину (65,5 %), амоксициллину в сочетании с клавуналовой кислотой (62,5 %).

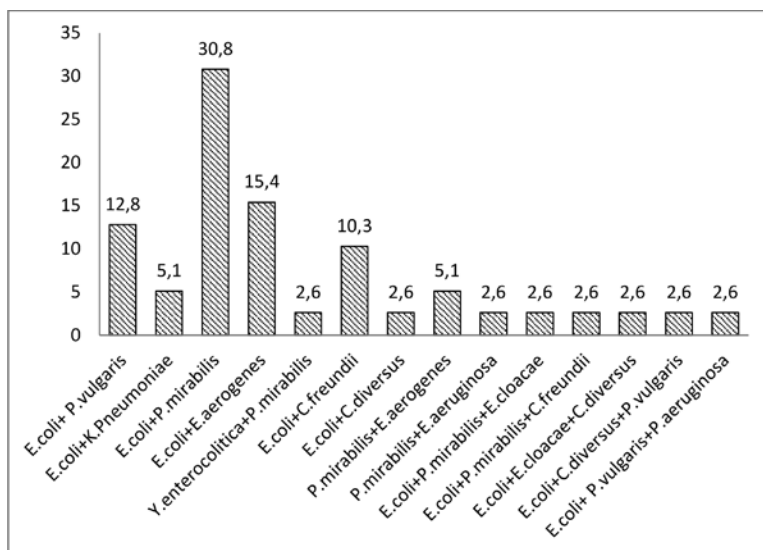


Рис. 2. Встречаемость ассоциаций патогенных энтеробактерий новорожденных телят, %

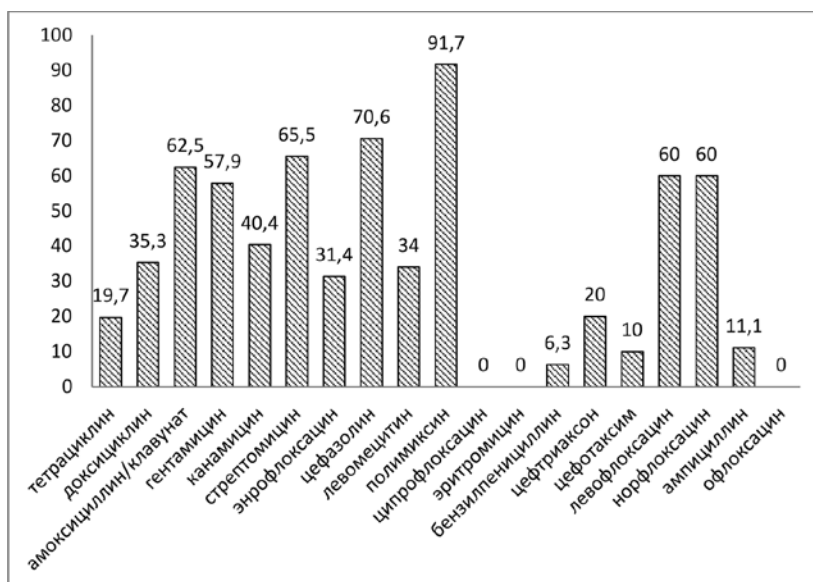


Рис. 3. Антибиотикочувствительность *E. coli*, %

Результаты исследования антибиотикочувствительности *Proteus mirabilis* из биоматериала кишечника телят показали, что бактерия практически резистентна к норфлоксацину, бензилпенициллину, тетрациклину, ампициллину (рис. 4). Наиболее чувствительна к цефазолину (75%), офлоксацину (62,5%), цефтриаксону (50%).

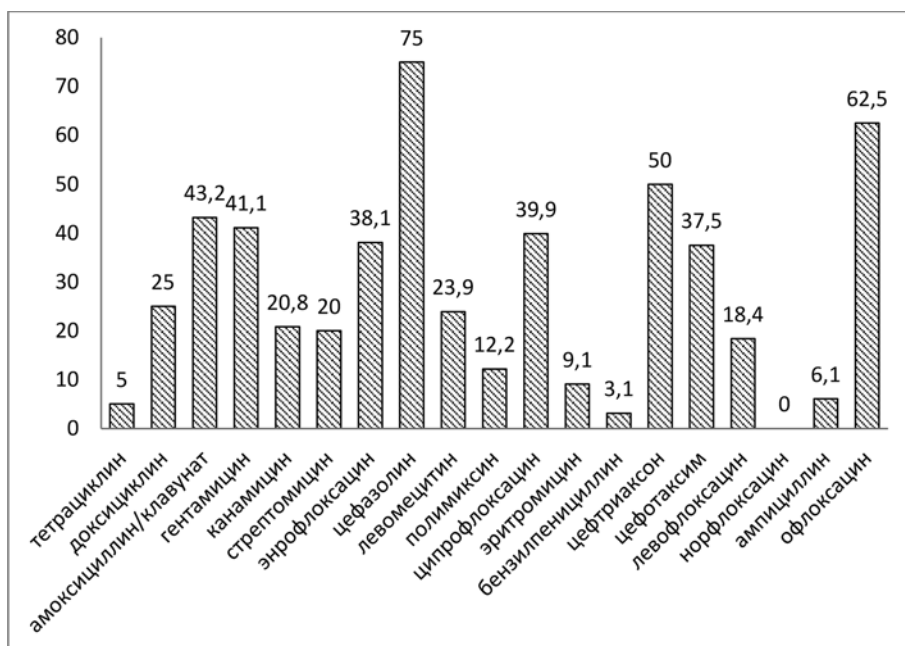


Рис. 4. Антибиотикочувствительность *P. mirabilis*, %

Анализ антибиотикорезистентности *E. coli* и *P. mirabilis* показал, оба вида чувствительны к следующим антибиотикам: цефазолину, амоксициллину, гентамицину, цефтриаксону и устойчивы к тетрациклину, канамицину, левомецитину, эритромицину, бензилпеницилину и ампициллину (рис. 5).

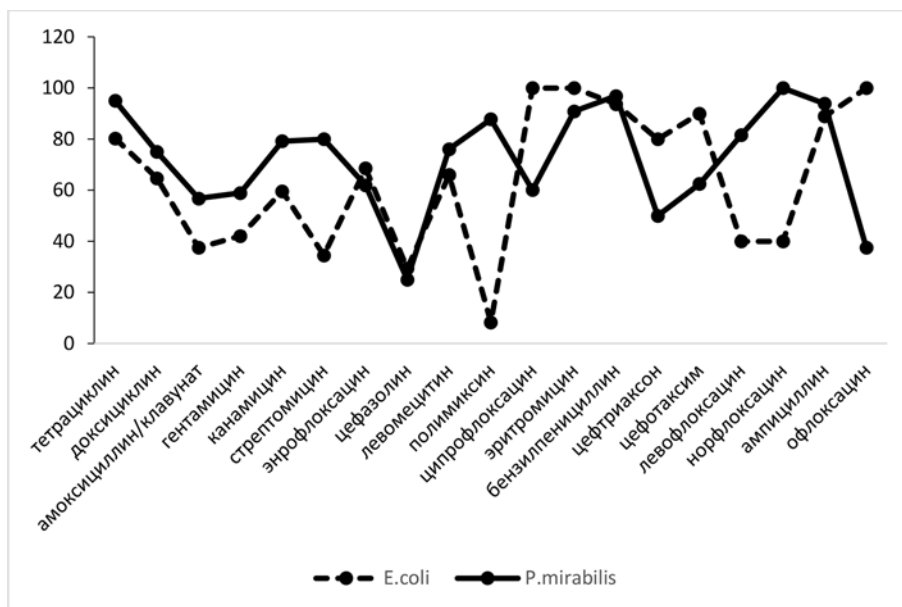


Рис. 5. Анализ совместимости антибиотикорезистентности *E. coli* и *P. mirabilis*, %

В остальных случаях в ассоциации у *E. coli* + *P. mirabilis* не одинаковая чувствительность к антибиотикам. С одной стороны, *E. coli* чувствительна к стрептомицину, полимиксину, левофлоксацину, норфлоксацину, а *P. mirabilis* к данным антибиотикам мало чувствителен или резистентен. С другой стороны, *Proteus mirabilis* чувствителен к ципрофлоксацину, цефтриаксону, офлоксацину при резистентности *Escherichia coli* к данным антибиотикам. Поэтому при терапии смешанной кишечной инфекции телят рекомендуем сочетанное назначение двух антимикробных или комплексных препаратов для направленного действия на ассоциации микроорганизмов.

Применение антибиотиков при лечении желудочно-кишечной патологии сопровождается селекцией антибиотикоустойчивых штаммов микроорганизмов, а также приводит к подавлению развития нормальной микрофлоры кишечника новорожденных телят. Поэтому необходим иной подход к терапии дисбактериозов пищеварительной системы животных: выявление иммунодефицитных состояний, их коррекция и профилактика.

Анализ крови новорожденных телят с клиническим проявлением заболеваний пищеварительной системы показал наличие у них вторичных иммунодефицитов.

У телят в 1-й день после рождения был выявлен низкий уровень гамма-глобулинов ($23,5 \pm 2,29\%$), что указывало на возрастной иммунодефицит. Он связан с недостаточным или несвоевременным поступлением с молозивом защитных факторов, недостаточным количеством выпаиваемого молозива или низким его качеством, что наблюдается при неполноценном кормлении матерей, недостаточном

усвоении иммуноглобулинов вследствие морфофункциональной незрелости новорожденных, выпаивании молозива от больных маститом коров.

На 7-й день после рождения было зафиксировано значительное снижение всех трех классов иммуноглобулинов: Ig M в 14,8 раза, Ig G в 11,7 раза, Ig A в 14,6 раза, что связано с возрастным иммунодефицитом, обусловленным распадом колостральных иммуноглобулинов.

Гуморальная иммунная недостаточность новорожденных телят компенсировалась усилением клеточного иммунитета – в крови животных в 1,5 раза увеличивалось количество сегментоядерных нейтрофилов ($42,1 \pm 5,14$ %), а их фагоцитарная активность была выше нормы у 100 % животных ($79,8 \pm 2,59$ %).

На фоне заболеваний бактериальной этиологии и воспаления желудочно-кишечного тракта у новорожденных телят отмечалась анемия, следовательно, гипоксия и нарушение обмена веществ.

Заключение

Из биоматериала кишечника новорожденных телят выделены следующие бактерии: *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* и *P. mirabilis*, *Enterobacter aerogenes* и *E. cloacae*, *Yersenia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii* и *C. diversus*, *Pseudomonas aeruginosa*. Среди выделенных бактерий наиболее часто встречаются *E. coli* (36,7 %) и *P. mirabilis* (31,3 %). Культуры различных микроорганизмов выделяются чаще в ассоциациях, из которых наиболее обычна *E. coli* + *P. mirabilis* (30,8 % случаев). Анализ антибиотикорезистентности *E. coli* и *P. mirabilis* показал наличие у обоих видов совместимости по чувствительности к амоксициллину, гентамицину, цефазолину, цефтриаксону и по устойчивости к тетрациклину, канамицину, левомецитину, эритромицину, бензилпеницилину и ампициллину. Полученные данные рекомендованы для использования при назначении антибактериальных средств до получения информации о конкретном возбудителе. При отсутствии совместимости для терапии смешанной кишечной инфекции телят возможно сочетанное применение двух антимикробных или комплексных препаратов для их направленного действия на микроорганизмы.

Нерациональное использование антибиотиков широкого спектра действия до получения результата посева и чувствительности к антибиотикам при лечении желудочно-кишечной патологии приводит к подавлению нормальной микрофлоры кишечника новорожденных телят. Следовательно, необходимо изменить подход к терапии дисбактериозов пищеварительной системы животных: выявление иммунодефицитных состояний, их коррекция и профилактика.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ефанова Л.И., Манжурина О.А., Моргунова В.И., Адодина М.И. Иммунный статус телят и качество молозива при факторных инфекциях // Ветеринария. 2012. № 10. С. 28–31.
2. Долгополов В.Н., Александров Д.Е., Мигаеш В.С., Мелешкина С.Р. Роль персистентной микрофлоры в патогенезе эндогенных инфекций птиц // Вестн. Воронеж. гос. аграр. ун-та. 2012. № 2. С. 187–188.
3. Исакова М.Н., Ряпосова М.В., Безбородова Н.А., Брицина О.А. Микробиологический фон при воспалении молочной железы у высокопродуктивных коров // Рос. журн. Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2017. № 2. С. 63–67.

4. Портянко А.В., Лыско С.Б., Красиков А.П., Гофман А.А. Энтеромикробиоценоз цыплят-бройлеров при ассоциативной кишечной инфекции // *Вестн. Омск. гос. аграр. ун-та*. 2018. № 1. С. 85–91.
5. Безбородова Н.А., Ким Н.А. Сравнение лабораторных методов диагностики инфекций, вызываемых патогенными и условно-патогенными микроорганизмами // *Эффективное животноводство*. 2018. № 2. С. 46–47.
6. Гриценко В.А., Иванов Ю.Б. Роль персистентных свойств микроорганизмов в патогенезе эндогенных бактериальных инфекций // *Вестн. Урал. мед. акад. науки*. 2009. № 2. С. 35–39.
7. Пудовкин Д.Н., Щепеткина С.В., Карпенко Л.Ю., Ришко О.А. Болезни молодняка крупного рогатого скота: практ. рекомендации. Изд. 2, доп. СПб.: Изд-во СПб. гос. акад. вет. медицины, 2019. 204 с.
8. Горковенко Н.Е., Жолобова И.С. Микрофлора энтеробиоценоза новорожденных телят с желудочно-кишечной патологией // *Научное обеспечение агропромышленного комплекса: сб. тез. по материалам Всерос. (нац.) конф. Краснодар: Кубан. гос. аграр. ун-т им. И.Т. Турбилина*, 2019. С. 438–439.
9. Белкин Б.Л., Малахова Н.А., Комаров В.Ю., Прудников В.С. Общая и специфическая профилактика инфекционных болезней молодняка крупного рогатого скота // *Вестн. аграр. науки*. 2019. № 5. С. 45–49. – <http://dx.doi.org/10.15217/48484> (дата обращения: 1.03.2022 г.).
10. Пашаян С.А. Экологическое обоснование профилактики и лечения респираторных заболеваний животных // *Экологическое обоснование профилактики и лечения респираторных заболеваний животных – 2019: X Нац. науч.-практ. конф. (с междунар. участием)*. Омск: Омск. гос. аграр. ун-т им. П.А. Столыпина, 2019. С. 282–286.
11. Определитель бактерий Берджи: справ. по микробиологии. Т. 1. М.: Мир, 1997. 432 с.
12. Емельяненко П.А. Методические указания по тестированию естественной резистентности телят / ВАСХНИЛ, отд-ние ветеринарии, Моск. вет. акад. им. К.И. Скрябина. М., 1980. 64 с.
13. Ойвин И.А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований // *Патол. физиол. и эксп. терапия*. 1960. № 4. С. 76–85.
14. Алешкевич В.Н., Вербицкий А. А., Корочкин Р. Б. и др. Энтеробактерии в патологии сельскохозяйственных животных: учеб.-метод. пособие. Витебск: Витебск. гос. акад. вет. медицины, 2017. 88 с. ISBN 978-985-512-958-6.

REFERENCES

1. Efinova L.I., Manzhyrina O.A., Morgunova V.I., Adodina M.I. Immunnyi status telyat i kachestvo moloziva pri faktornykh infektsiyakh. *J. Veterinariya*. 2012;(10):28-31. (In Russ.).
2. Dolgopopov V.N., Alexandrov D.E., Migaesh V.S., Meleshkina S.R. Rol' persistentnoi mikroflory v patogeneze endogennykh infektsii ptits. *Vestnik of Voronezh State Agrarian University*. 2012;(2):187-188. (In Russ.).
3. Isakova M.N., Ryaposova M.V., Bezborodova N.A., Britsina O.A. Mikrobiologicheskii fon pri vospalenii molochnoi zhelezy u vysokoproduktivnykh korov = [Microbiological background in highly-productive cows with inflammation of lacteous glands]. *Rus. J. "Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology"*. 2017;(2):63-67. (In Russ.).
4. Portyanko A.V., Lysko S.B., Krasikov A.P., Gofman A.A. Enteromikrobiotsenoz tsyplyat-broilev pri assotsiativnoi kischechnoi infektsii. *Vestnik Omskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2018;(1):85-91. (In Russ.).
5. Bezborodova N.A., Kim N.A. Sravnenie laboratornykh metodov diagnostiki infektsii, vyzyvamykh patogennymi i uslovno-patogennymi mikroorganizmami. *Effektivnoe zhivotnovodstvo*. 2018;(2):46-47. (In Russ.).
6. Gritsenko V.A., Ivanov Y.B. Rol' persistentnykh svoistv mikroorganizmov v patogeneze endogennykh bakterial'nykh infektsii. *J. Ural Medical Academic Science*. 2009;(2):35-39. (In Russ.).
7. Pudovkin D.N., Shchepetkina S.V., Karpenko L.Y., Rishko O.A. Bolezni molodnyaka krupnogo rogatogo skota: prakticheskie rekomendatsii. 2nd ed. St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine; 2019. 204 p. ISBN 978-5-86983-921-3. (In Russ.).
8. Gorkovenko N.E., Zholobova I.S. Mikroflora enterobiotsenoza novorozhdennykh telyat s zheludochno-kischechnoi patologiei. In: *Nauchnoe obespechenie agropromyshlennogo kompleksa*. Krasnodar: Kubanskiy State Agrarian Univ. named after I.T. Turbilin; 2019. 438-439 p. (In Russ.).

9. Belkin B.L., Malakhova N.A., Komarov V.Y., Prudnikov V.S. Obshchaya i spetsificheskaya profilaktika infektsionnykh boleznei molodnyaka krupnogo rogatogo skota. *Bull. Agrarian Sci.* 2019;(5):45-49. <http://dx.doi.org/10.15217/48484>. (In Russ.).

10. Pashayan S.A. Ekologicheskoe obosnovanie profilaktiki i lecheniya respiratornykh zabolevaniy zhivotnykh. In: *Ekologicheskie chteniya – 2019: X Nat. Sci.-Practical Conf. (with international participants)*. Omsk: Omsk State Agrarian Univ.; 2019. 282-286 p. (In Russ.).

11. *Opredelitel' bakterii Berdzhi* = [Bergey's Manual of Determinative Bacteriology]. Vol. 1. Moscow: Mir; 1997. 432 p. (In Russ.).

12. Emeliyanenko P.A. Metodicheskie ukazaniya po testirovaniyu estestvennoi rezistentnosti telyat. Moscow: VASHNIL, Veterinary department. Moscow Veterinary Academy named after K.I. Skryabin; 1980. 64 p. (In Russ.).

13. Oivin I.A. Statisticheskaya obrabotka rezul'tatov eksperimental'nykh issledovaniy. *Pathological Physiology and Experimental Therapy*. 1960;(4):76-85. (In Russ.).

14. Aleshkevich V.N., Verbitskiy A.A., Korochkin R.B., et al. *Enterobakterii v patologii sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh*. Vitebsk: Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, 2017. 88 p. ISBN 978-985-512-958-6. (In Russ.).