

Influence of microbic factor on developing of postnatal endometritises of cows

Darmenova A.¹, Yusupov S.² (Russian Federation)

Значение микробного фактора в возникновении послеродовых эндометритов у коров

Дарменова А. Г.¹, Юсупов С. Р.² (Российская Федерация)

¹Дарменова Альбина Габдрахимовна / *Darmenova Albina* - аспирант;

²Юсупов Самат Равхатович / *Yusupov Samat* - кандидат ветеринарных наук, доцент,
кафедра акушерства и патологии мелких животных имени А. П. Студенцова,

Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н. Э. Баумана, г. Казань

Аннотация: в статье приведена информация о значении микробного фактора, способствующего возникновению послеродовых эндометритов у коров, определена чувствительность этой микрофлоры матки к антибиотикам.

Abstract: this article is about the microbe's factor which promotes a developing of postnatal endometritises of cows, sensitivity of this microflora to antibiotics.

Ключевые слова: эндометриты; микрофлора; микроорганизмы; диски с антибиотиками.

Keyword: endometritis; microflora; microorganism; disks with antibiotics.

Введение. Среди незаразных болезней акушерско-гинекологические заболевания коров наносят огромный экономический ущерб животноводству, вследствие снижения продуктивности и затрат на лечение [1, с. 47]. Основной причиной распространения заболевания являются условно-патогенные микроорганизмы [2, с. 7]. По данным многих авторов, причина возникновения акушерско-гинекологических заболеваний в 60-95% случаях приходится на долю этих микробов. Условно-патогенная микрофлора половых органов наиболее распространена у крупного рогатого скота. Инфекции половых органов и продукты их жизнедеятельности, вызывая воспалительные процессы, нарушения функции матки и яичников, приводят к бесплодию коров [6, с. 837].

Из множества причин, приводящих к снижению уровня воспроизводства у коров, особое место занимают патологии в послеродовом периоде, в частности послеродовой эндометрит. А основной причиной развития данного заболевания является повышение вирулентности условно-патогенной микрофлоры на фоне снижения резистентности организма животных. По данным некоторых авторов, в 80-90% случаях заболеванию способствует внедрение в полость матки условно-патогенных микроорганизмов (стафилококки, диплококки, стрептококки, кишечная палочка, сапрофиты) [3, с. 24-25].

При послеродовых эндометритах у коров в содержимом матки часто выявляют *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp*, *Streptococcus*. Патогенная микрофлора, проникая через наружные половые органы, попадает во влагалище и в полость матки. Поэтому основным и важным этапом при постановке диагноза является микробиологическое исследование содержимого матки.

Определение чувствительности микрофлоры матки к антибиотикам основано на диффузии препаратов из бумажных дисков. Диффузия антибиотиков в среде АГВ приводит к формированию зоны подавления роста микроорганизмов вокруг дисков.

Материалы и методы исследований. Исследования проводились на 67 бесплодных коровах, в возрасте 3-5 лет, средней упитанности, живой массой 500-550 кг. Изучение содержимого матки у коров, больных послеродовым эндометритом, было проведено в период с мая по июль 2016 года. Отбор проб проводили из полости матки коров с помощью стерильного шприца с катетером. Образцы были получены у 15-ти больных коров. После получения содержимое матки разбавляли транспортной средой (физиологический раствор) и доставляли для дальнейших исследований в лабораторию биотехнологии НИИ ЗКАТУ имени Жангир хана.

Для определения микрофлоры маточного содержимого готовили среды для посева – мясо-пептонный агар (МПА), селективные среды Эндо и Сабуро. Для определения общего микробного числа делали посева на МПА, для изучения наличие плесневых грибов и дрожжей – на среду Сабуро, для выделения БГКП (бактерий группы кишечной палочки) – на среду Эндо. При культивации микроорганизмов важное значение имеют условия окружающей среды (температура, влажность, рН среды). Посевы проводили бактериологической петлей на поверхности питательной среды (МПА, Эндо, Сабуро). Культивировали в термостате в течение 24 часов при температуре 37°C. Мазки, приготовленные из этой бактериальной культуры, высушивали при комнатной температуре и фиксировали. Их окрашивали раствором карболового генцианвиолета, затем краску смывали и наносили раствор Люголя, докрашивали фуксином Пффейрфера (по

методу Грамма). Затем мазок промывали водой, сушили фильтровальной бумагой и микроскопировали. Идентификацию бактерий, основанную на различиях в строении клеточной стенки и отношении окраски по Грамму, определяли по методу Берджи. В окрашенных мазках наличие или отсутствие микроорганизмов определяли с помощью тринокулярного микроскопа.

Подсчет количества микроорганизмов проводили следующим образом: поместив чашку Петри вверх дном на темном фоне, делили ее на 8 одинаковых секторов и подсчитывали число колоний в трех секторах. Затем находили среднее арифметическое число колоний одного сектора и умножали на общее количество секторов всей чашки. Таким образом, находили общее количество микроорганизмов, выросших на одной чашке [8, с. 324].

После проведения бактериологического исследования содержимого матки, определяли чувствительность этих бактерий к антибиотикам – *in vitro* – диско-диффузионным методом (с использованием бумажных дисков с антибиотиками).

Процесс исследования состоит из следующих этапов:

- приготовление питательной среды;
- приготовление суспензии микроорганизма;
- наложение дисков на среду АГВ;
- подсчет результатов и их интерпретация.

Для исследования использовали среду АГВ. После автоклавирования питательную среду сразу же разливали в чашки Петри слоем 4 мм. Перед заполнением расплавленной средой чашки Петри устанавливали строго на горизонтальной поверхности. Затем чашки оставляли при комнатной температуре для застывания. После чего на поверхность среды АГВ наносили бактериальную суспензию определенной плотности. Затем на них помещали диски с антибиотиками (доксциклин, амоксицилин, ColistinSulphate, ципрофлоксацин, Sulphamethoxazde Trimethoprim), содержащие определенное количество препарата.

По данной методике оценивали чувствительность микрофлоры матки к антибиотикам. На 15 чашках Петри со средой АГВ была посеяна бактериальная суспензия с исследуемым материалом от больных послеродовым эндометритом коров (15 гол.).

Результаты исследований. Исследования проводились на 15-ти коровах, у которых по результатам акушерско-гинекологических исследований диагностировали послеродовой эндометрит. У этих коров отмечалось общее угнетение, корень хвоста был приподнят, животное принимало позу мочеиспускания. Лохии на 5-7-й день после отела приобретали темно-коричневый цвет, наблюдался неприятный гнилостный запах. Обильные кровянистые выделения являются благоприятной средой для размножения различных условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, а создавшиеся условия, способствующие проникновению их в полость матки, предрасполагают развитие послеродовых эндометритов у коров. Исследование проводили на 5-7-й день после отела. В основном выделения экссудата наблюдались у коров, у которых проводилось родовспоможение или ручное отделение последа. С целью выделения культур микроорганизмов из маточного содержимого коров, были приготовлены посевы.

Первым этапом выделения культуры является накопление микроорганизмов, создание оптимальных условий для роста исследуемого материала.

Вторым этапом проводили пересев бактериальной суспензии на плотные питательные среды, затем чашки Петри с исследуемым материалом ставили в термостат и после культивирования (через 24 часа) наблюдали рост культур на средах МПА, Эндо и Сабуро. Мазки из культур маточного содержимого, окрашенные по Грамму, чаще представляли различные кокки (стрепто- и стафилококки), кишечная палочка и сапрофиты (Рис. 1, 2, 3).

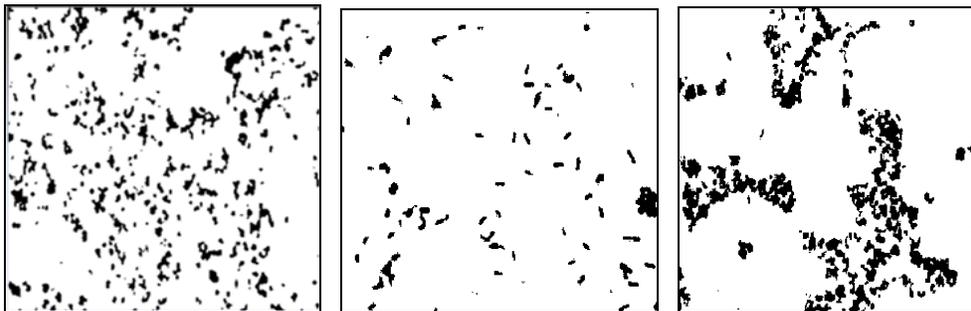


Рис. 1. Streptococcus Рис. 2. Escherichia coli Рис. 3. Staphylococcus

Стрептококки – это микроорганизмы шаровидной формы, образующие в процессе своего деления длинные цепочки. Размер клеток варьирует от 0,6 до 2 мкм в диаметре (Рис. 1).

Выделенная из содержимого матки кишечная палочка обнаруживается в виде палочек средних размеров от 1 до 5 мкм (Рис. 2). Кишечная палочка – это самая распространенная бактерия, полученная из полости матки коров, которая приводит к последующему заражению другими микроорганизмами. Кроме того, содержание *Escherichia coli* в течение первых дней или недели после родов связано с неблагоприятным воздействием на полость матки [7, с. 550].

Также среди выделенной микрофлоры были обнаружены стафилококки – микроорганизмы шаровидной формы диаметром 0,5-1,5 мкм, образующие неправильные скопления, похожие на виноградные грозди. При микроскопии мазков, окрашенных по Грамму, можно увидеть сформированные цепочки (Рис. 3).

Эти три основных бактерии – *Streptococcus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* воздействуют на слизистую оболочку матки и тем самым ингибируют фагоцитоз и создаются благоприятные условия для развития воспалительных процессов [4, с. 275].

Бактериальные инфекции очень опасны тем, что они не только нарушают функции матки, но и приводят к гипофункции яичников и угнетают иммунную систему организма [5, с. 301].

Общее микробное число (ОМЧ) и группы микроорганизмов из содержимого матки коров, больных эндометритом, представлены в таблице 1.

Таблица 1. Группы и количество микроорганизмов, выделенных из матки коров, больных послеродовым эндометритом

Номера больных коров	Питательные среды	ОМЧ*	Микроорганизмы		Плесневые грибы
			БГКП**	УПМ***	
1	2	3	4	5	6
1	МПА	0,25 * 10 ³	+	+	-
	Эндо	0,15 * 10 ³	+	-	-
2	Сабуро	0,21 * 10 ³	-	-	+
	МПА	0,42 * 10 ³	+	+	-
3	Эндо	0,7 * 10 ³	+	+	-
	Сабуро	0,24 * 10 ³	-	-	+
4	МПА	0,37 * 10 ³	-	+	-
	Эндо	0,14 * 10 ³	+	-	-
5	Сабуро	0,21 * 10 ³	-	-	-
	МПА	0,42 * 10 ³	+	+	-
6	Эндо	0,11 * 10 ³	+	+	-
	Сабуро	0,45 * 10 ³	-	-	+
7	МПА	0,51 * 10 ³	+	+	-
	Эндо	0,16 * 10 ³	+	+	-
8	Сабуро	0,18 * 10 ³	-	-	+
	МПА	0,62 * 10 ³	-	+	-
9	Эндо	0,18 * 10 ³	-	+	-
	Сабуро	0,32 * 10 ³	-	-	+
10	МПА	0,41 * 10 ³	+	+	-
	Эндо	0,12 * 10 ³	+	-	-
11	Сабуро	0,25 * 10 ³	-	-	+
	МПА	0,43 * 10 ³	+	-	-
12	Эндо	0,17 * 10 ³	+	+	-
	Сабуро	0,32 * 10 ³	-	-	-
13	МПА	0,28 * 10 ³	-	+	-
	Эндо	0,18 * 10 ³	+	-	-
14	Сабуро	0,23 * 10 ³	-	-	+
	МПА	0,27 * 10 ³	+	+	-
15	Эндо	0,12 * 10 ³	+	+	-
	Сабуро	0,54 * 10 ³	-	-	+
16	МПА	0,72 * 10 ³	+	-	-
	Эндо	0,17 * 10 ³	+	-	-
17	Сабуро	0,34 * 10 ³	-	-	-
	МПА	0,62 * 10 ³	+	-	-
18	Эндо	0,12 * 10 ³	+	+	-

13 1	Сабуро	0,51* 10 ³	-	-	+
	МПА	1,2* 10 ³	-	+	-
	Эндо 2	0,15* 10 ³ 3	+	-	-
14	Сабуро	0,27* 10 ³	-	-	+
	МПА	0,32* 10 ³	+	-	-
	Эндо Сабуро	0,8* 10 ³ 0,19* 10 ³	+	+	-
15	Сабуро	0,19* 10 ³	-	-	+
	МПА	0,53* 10 ³	+	+	-
	Эндо	0,9* 10 ³	+	-	-
	Сабуро	0,11* 10 ³	-	-	+

Примечание: ОМЧ* – общее микробное число;
БГКП** – бактерии группы кишечной палочки;
УПМ*** - условно-патогенная микрофлора (стрептококки и стафилококки)

Из таблицы 1 видно, что в маточном содержимом больных послеродовым эндометритом коров чаще встречаются бактерии группы кишечной палочки, условно-патогенная микрофлора и плесневые грибы.

Также было установлено, что содержимое матки при послеродовом эндометрите преимущественно представлено кишечной палочкой, стафилококками и стрептококками. Учитывая, что часто развитие данной патологии связано с нарушениями в кормлении и содержании, не соблюдением ветеринарно-санитарных норм и правил, а также с ослаблением защитных сил организма, снижение резистентности организма является благоприятным фактором для развития условно-патогенной микрофлоры.

Определение чувствительности микроорганизмов, выделенных из матки больных послеродовым эндометритом коров, к противомикробным препаратам проводили путем воздействия антибиотиков на поверхностный рост микроорганизмов в плотной питательной среде. Чашки Петри с исследуемым материалом ставили на 24 часа в термостат при температуре 37⁰С.

Результаты учитывали путем измерения диаметра отсутствия роста микроорганизмов вокруг дисков с антибиотиками.

Таблица 2. Значение диаметров зон ингибиции роста (мм)

Исследуемые животные	Диски с антибиотиками					
	Доксциклин	Амоксицилин	Энрофлоксацин	Colistin Sulphate	Ципрофлоксацин	Sulphamethoxazide Trimethoprim
1	10	20	35	11	32	16
2	7	19	12	26	17	-
3	9	16	11	12	30	8
4	8	13	26	12	18	11
5	11	15	16	21	26	18
6	-	11	18	-	23	15
7	8	15	15	11	29	18
8	7	34	21	18	19	17
9	12	23	32	18	21	12
10	-	10	33	16	23	9
11	8	27	12	10	17	15
12	11	12	15	9	32	7
13	9	31	10	-	21	14
14	14	10	25	8	18	6
15	7	12	12	11	14	-

Из данных таблицы можно увидеть, что в результате определения чувствительности микроорганизмов, полученных из микрофлоры матки коров с послеродовым эндометритом, диаметр зоны отсутствия роста микроорганизмов менее 10 мм наблюдалось к ColistinSulphate, Sulphamethoxazde Trimethoprim, доксициклину, следовательно данные антибиотики являются не эффективными при лечении послеродовых эндометритов. У антибиотиков цiproфлоксацин, амоксицилин и энрофлоксацин диаметр зоны отсутствия роста микрофлоры в исследуемой культуре было более 10 мм, следовательно их можно рекомендовать для лечения послеродовых эндометритов у коров.

Заключение. Микрофлору маточного содержимого у коров при послеродовых эндометритах представляет разнообразие условно-патогенных микроорганизмов. Определение этих микроорганизмов необходимо для эффективного лечения коров с данным заболеванием. Проведенные исследования показывают, что в полости матки коров, больных послеродовыми эндометритами, выявлены кишечная палочка, условно-патогенные микроорганизмы и плесневые грибы.

Результаты определения чувствительности микрофлоры матки больных коров к антибиотикам показал, что микроорганизмы менее чувствительны к Colistinsulphate, Sulphamethoxazde Trimethoprim, доксициклину и более чувствительны к цiproфлоксацину, амоксицилину и энрофлоксацину. Препараты цiproфлоксацина, амоксицилина и энрофлоксацина можно использовать при лечении коров с послеродовыми эндометритами в исследуемом хозяйстве.

Литература

1. *Гордеева И. В.* Пробиотики в лечении болезней продуктивных органов коров. // Ветеринария сельскохозяйственных животных, 2008. № 2. С. 46-49.
2. *Напримеров В. А.* Влияние трантимма на микрофлору матки коров при эндометритах России: Дисс. ...канд. вет. наук. Барнаул, 2004. 20 с.
3. *Колычева Н. М., Кисленко В. Н.* Руководство по микробиологии и иммунологии. Новосибирск: АРТА, 2010. 255 с.
4. *Бияшев Б. К.* Ветеринарная микробиология и иммунология. Алматы: Қайнар, 2007. 417 с.
5. *Sheldon I. M. and Dobson.* Postpartum Uterine Health in Cattle. Anim. Reprod. Sci, 2014. 82-83: 295-306.
6. *Sheldon I. M., Noakes D. E., Rycroft A. N, Pfeiffer D. U., Dobson H.* Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. Reproduction, 2002. 123:837-845.
7. *Williams E. J., Fischer D. P., Noakes D. E., England G. C., Rycroft A., Dobson H., Sheldon I. M.* The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. Theriogenology, 2007. Sep. 1. 68 (4):549-59.
8. *Берджи.* Определитель бактерий. М.: Мир, 1997. 799 с.