

УДК 636.92.082.345:612.017.1:579.64

DOI: 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2022.2.56-66

**ВЛИЯНИЕ ДОБАВКИ ПРОБИОТИКА НА ОСНОВЕ *L. reuteri*  
НА НЕСПЕЦИФИЧЕСКУЮ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ И РЕПРОДУКТИВНУЮ  
ФУНКЦИЮ У КРОЛИКОМАТОК**

Овчарова А.Н., Остренко К.С.

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных - филиал ФИЦ  
животноводства - ВИЖ им. Л.К. Эрнста, Боровск Калужской обл.,  
Российская Федерация*

Цель исследования – изучить влияние добавки пробиотических микроорганизмов *L. reuteri* на репродуктивную функцию кроликов с целью профилактики развития патологических состояний вызванных патогенной и условно-патогенной микрофлорой. Опыт проведен на 20 кроликоматках калифорнийской породы, в опытной группе (n=10) в качестве добавки в основной рацион включали препарат лактобацилл *L. reuteri* 395 и 238. Штаммы лактобацилл были выделены из содержимого кишечника здорового телёнка. Культуры с содержанием КОЕ 10<sup>9</sup>/мл смешивали в соотношении 1:1 и выпаивали индивидуально каждой крольчихе опытной группы по 1 мл. Животные контрольной группы получали эквивалентный объем стерильной среды MRS. Выпаивание препарата начинали за месяц до спаривания и продолжали до окрола. Перед спариванием и перед окролом отбирали образцы венозной крови из краевой ушной вены. Установлено, что применение пробиотических *L. reuteri* способствовало повышению фагоцитарной активности (P<0,05), фагоцитарного индекса (P<0,05); бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови (P<0,05) против контроля. При исследовании микрофлоры половых путей через 30 дней выпаивания препарата (перед покрытием) выявлено существенное повышение титра лактобактерий и энтерококков (P<0,05) у опытных кроликоматок, содержание грибов, наоборот, было ниже в опытной группе. Заключение, что использование пробиотических лактобацилл *L. reuteri* в рационе кроликоматок калифорнийской породы за месяц до спаривания и в течение всего периода сукрольности оказывает стимулирующее влияние на показатели неспецифической резистентности, способствует нормализации микробиоценоза половых путей, улучшает репродуктивные качества кроликоматок.

*Ключевые слова: кроликоматки, пробиотики, лактобациллы, микробиоценоз, неспецифическая резистентность, продуктивность*

*Проблемы биологии продуктивных животных, 2022, 2: 56- 66*

### **Введение**

Важную роль для увеличения продуктивности кроликов играет совершенствование системы кормления и содержания с учётом физиологических показателей. Внедрение интенсивных технологий выращивания, а также увеличение поголовья привело к значительному усилению техногенной и микробиологической нагрузки на организм кроликов, что, в свою очередь, вызывает нарушение процессов пищеварения, обмена веществ, понижается естественная резистентность и устойчивость к неблагоприятным факторам внешней среды, наблюдается снижение продуктивности и возникновение инфекционных заболеваний (Курчаева, 2020). Нарушение микроклимата в помещении, где содержатся животные, приводит к накоплению в воздухе пыли и вредных газов, что, помимо прочего, способствует развитию стресса и повышению падежа. Иммунодефицитные состояния организма неотделимы от стресса и наблюдаются у новорожденных, молодняка и старых животных (Вишневская, Абрамова, 2012).

Высокое потребление корма и адекватный баланс основных питательных веществ необходимы для поддержания повышенных потребностей высокопродуктивных кроликов (De Blas, 2013). Известно, что на воспроизводительные качества животных положительное влияние

оказывает введение в рационы кормовых добавок, при этом отмечается повышение эффективности при их комплексном использовании. В последнее время все более широко применяются препараты пробиотического действия. Микрофлора, формирующаяся в желудочно-кишечном тракте в результате применения пробиотиков, выполняет ряд функций, она защищает слизистую кишечника от проникновения в кровь патогенных и условно патогенных микроорганизмов, в процессе жизнедеятельности синтезирует антибиотикоподобные вещества, органические кислоты (уксусную, молочную, пропионовую), препятствующие развитию патогенов, участвует в синтезе витаминов и в усвоении макро- и микроэлементов (Ли, Петров, 2013). Однако в литературе существует немного работ по применению в кролиководстве пробиотических препаратов и изучению их влияния на репродуктивную систему кроликов.

В этой связи изучение воздействия пробиотических препаратов на физиологическое состояние организма животных при различных технологиях выращивания имеет как теоретическое, так и практическое значение. Известно, что пробиотические препараты стимулируют неспецифическую резистентность и минеральный обмен в организме, положительно влияют на биохимические и гематологические показатели крови (Ноздрин, 2012). При включении в рацион животных пробиотических добавок улучшается обмен веществ, повышаются усвояемость корма, интенсивность метаболических процессов и функциональные резервы организма. Пробиотики способствуют формированию иммунитета и положительно влияют на репродуктивные функции поголовья (Миронова, Черненко, 2017).

Гистологические исследования показали, что применение комплексного пробиотического препарата в оптимальной дозировке оказывает положительное влияние на структурную организацию внутренних органов и длинной мышцы спины и предотвращает развитие дистрофических и патологических процессов у молодняка кроликов (Курчаева, Михайлов, 2019).

По данным зарубежных исследований, состав рациона оказывает непосредственное влияние на сохранность молодняка и репродуктивные функции кроликоматок. Самки, имеющие более высокое содержание жира в теле, при первом окроле имели меньшую массу гнезда и более высокий риск выбраковки, чем более худые. Также выявлено, что масса тела при рождении и толщина окологривного жира влияют на продолжительность репродуктивной жизни самок. Избыток жира при первом окроле увеличивал повышенный риск смерти или выбраковки на 13% (Martínez-Paredes et al., 2018). Рацион матери перед спариванием влияет на репродуктивную функцию – способность к оплодотворению, рост и развитие эмбриона, течение беременности, может приводить к гестационным потерям (Martínez-Paredes. et al., 2015). Показано, что применение пробиотического препарата на основе лактобацилл в рационе молодняка кроликов приводит к снижению содержания внутреннего жира в тушке, что может оказывать влияние на будущие репродуктивные способности кроликоматок и требует дальнейшего изучения (Овчарова, Петраков. 2018).

Значительную роль в сохранении функций органов репродукции животных выполняет нормальная микрофлора половых путей самок. Известно, что у свиноматок со скрытым эндометритом микробиоценоз полового тракта отличается от такового у клинически здоровых животных меньшим содержанием индигенной и большим содержанием патогенной и условно-патогенной микрофлоры. Принимая во внимание роль микробного фактора в развитии воспалительных процессов в репродуктивных органах, для профилактики свиноматкам используют препараты, содержащие компоненты антимикробного действия, однако длительное их применение приводит к нарушению микробиома. В результате подавления нормальной микрофлоры и появления резистентности к препаратам, усиленно и беспрепятственно размножаются патогенные и условно-патогенные бактерии. Для профилактики воспалительных процессов в репродуктивных органах свиней в качестве альтернативы антибиотикам находят применение пробиотические препараты (Бригадиров и др., 2017). При применении пробиотиков у свиноматок повышаются многоплодие и сохранность поросят к моменту отъёма, что приводит в целом к повышению экономической эффективности (Граф 2017). Помимо этого, на рост молодняка во многом оказывают влияние условия пренатального периода. Именно в период супоросности через организм свиноматки возможно непосредственно влиять на трофику плодов, снизить или полностью исключить негативное влияние отдельных антипитательных веществ рациона, тем самым увеличить

воспроизводительные функции маток, физиологическое состояние новорождённого молодняка и защитные силы его организма. В этот период эффективно применение пробиотических препаратов (Овчинников, 2017).

На репродуктивные функции кроликоматок, как и у других млекопитающих, оказывают значительное влияние заболевания половых органов (Bertram, 2018). В практике кролиководства выявлены такие проблемы, как бесплодие, выкидыши, гибель плода во время окрола, дистоция. Репродуктивные проблемы кроликоматок могут возникнуть на любом этапе разведения кроликов: – естественное или искусственное оплодотворение, сукрольность, окрол, отъём. (Rosell, Fuente, 2018).

Часто заболевания половых путей у кроликов развиваются при несоблюдении условий содержания, большой скученности или на фоне инфекционных заболеваний. На снижение фертильности могут повлиять и такие факторы, как нарушения светового или теплового режима (Rosell et al., 2020). Болезни половых органов кроликов – большая группа заболеваний, которая имеет системный или инфекционный характер. К ним относят андрогенные и гинекологические патологии, возникающие обычно у взрослых особей. Среди заразных заболеваний репродуктивной системы чаще всего встречается спирохетоз или трепонемоз, однако, помимо этого к нарушению репродуктивной функции приводит большое число патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Несвоевременное лечение может привести не только к бесплодию животного, но и к летальному исходу. Профилактика и соблюдение правил ухода и содержания позволяют избежать заболеваний. Однако механизмы, с помощью которых инфекционно-воспалительные процессы вызывают бесплодие, известны лишь частично (Brecchia et al., 2014). Фактором риска преждевременных родов является бактериальный вагиноз. Он связан и с риском преждевременных родов и рождением потомства с низкой массой тела независимо от других факторов риска (Hillier et al., 1995).

Помимо заболеваний репродуктивных органов, у кроликоматок часто встречаются и другие инфекционные заболевания, влияющие на рост и развитие потомства, в том числе маститы, риниты и пододерматиты, которые оказывают непосредственное влияние на репродукцию и повышают риски бесплодия (Sánchez et al., 2012). Маститы встречаются примерно у (Rosell, Fuente, 2018). Мастит, вызванный стафилококками, является одним из основных факторов выбраковки взрослых кроликов на кроликофермах (Mogheiseh et al., 2017).

Патогенная микрофлора оказывает существенное влияние на сохранность крольчат перед отъёмом. Смертность перед отъёмом в основном вызывается причинами, связанными с болезнями самок (95%) и инфекционными агентами, включая кишечные палочки и сальмонеллы (5%). Смертность до и после отъёма может оказывать влияние на экономическую эффективность отрасли кролиководства в целом. Период отъёма является решающим периодом в продуктивном цикле кроликов, что связано с повышенным стрессом и восприимчивостью к заболеваниям. Однако, установление причин смертности до - и после отъёма остаётся затруднительным в 50% случаев (El-Ashram et al., 2020). Различные инфекционные агенты приводят к выкидышам, субфертильности и другим нарушениям репродуктивных функций. Золотистый стафилококк является серьёзной проблемой в кролиководстве. По данным некоторых исследователей, он был изолирован от 70% инфицированных животных. В других случаях были обнаружены представители *Pasteurella multocida*, которые приводили к развитию пиометры и пневмонии. Как пастереллы, так и золотистый стафилококк приводили к заболеванию эндометритом у кроликов, снижали фертильность (El-Ashram et al., 2020).

Изменение состава микробиоты кишечника оказывает значительное влияние на организм животного в целом, прямо и косвенно может влиять на развитие патологий, в том числе и репродуктивных органов (De Blas et al., 2012). Повышение устойчивости организма к неблагоприятным факторам - ключевой элемент в отношении здоровья животных и повышению репродуктивной эффективности самок (Rosell et al., 2018).

Состав нормальной микрофлоры животных зависит от стадии полового цикла. На бактериальную флору влагалища влияют рН, окислительно-восстановительные потенциалы, гормональный фон, наличие муцина, наличие и концентрация антимикробных агентов, а также

биологическое состояние. У кроликов состав микрофлоры отличается у такового у остальных животных. По всей видимости, это вызвано отсутствием у кроликов половых циклов. Кролики не проходят стадий эстрального цикла и овулируют после спаривания. До спаривания у кроликов секреция слизи слабая, выраженная секреция наблюдается после спаривания. Секреция слизи и количество микроорганизмов во влагалище у прекоитальных кроликов сравнимы с таковыми во время диэструса или анэструса у других видов животных. Было выявлено, что видовой состав половых путей кроликов достаточно скудный (Noguchi et al., 2003). Коагулазонегативные стафилококки, стрептококки, микрококки и неферментативные бациллы (в основном псевдомонады) наиболее часто выделялись из влагалищного содержимого кроликов. Значения pH влагалища кроликов колеблются от 6,6 до 8,1 при среднем значении 7,2. В отличие от других животных, у кроликов почти полностью отсутствуют лактобациллы, возможно, это связано с нейтральной средой влагалища кроликов. В половине образцов матки также обнаруживаются микроорганизмы (в основном коагулазонегативные стафилококки). У различных видов животных, таких как корова, лошадь, собака и мышь, бактерии были выделены из нормальной матки (Noguchi et al., 2003).

Состав микрофлоры половых путей, зависящий от стадии полового цикла, влияет и на восприимчивость животных к инфицированию. Так, при экспериментальном заражении крольчих кишечной палочкой на течение инфекционного процесса в матке оказывает влияние стадия эстрального цикла. В фазу диэструса заражение *E. coli* вызывало гнойный эндометрит, а во время проэструса – эструса инфекция протекала бессимптомно. Титр высеваемой *E. coli* быстро снижался в фолликулярной фазе по сравнению с лютеиновой фазой. Схожая картина наблюдалась и при инфицировании Nishikawa et al., 2017; Yarbrough et al., 2015 В целом, изучение репродуктивных функций кроликов и влияния на них пробиотических препаратов является актуальной задачей кролиководческой отрасли. Решение этой задачи может способствовать улучшению репродуктивных качеств кроликоматок, улучшению здоровья поголовья кроликов в целом и повышению экономической эффективности этой отрасли.

Цель исследования – изучить влияние пробиотических микроорганизмов *L. reuteri* на репродуктивную функцию кроликов с целью профилактики развития патологических состояний вызванных патогенной и условно-патогенной микрофлорой.

### Материал и методы

Исследование было проведено на базе вивария ВНИИФБиП на 20 кроликоматках калифорнийской породы. Животные были разделены на 2 группы – опытная и контрольная, по 10 животных в группе. На протяжении всего эксперимента животные содержались в индивидуальных клетках при световом режиме, состоящем из 16 часов света и 8 часов темноты. Кролики получали основной рацион (ОР), состоящий из 150 г разнотравного сена и 200 г полнорационных гранул. Рацион по питательности содержит (г): кормовых единиц – 212, сухого вещества – 270, сырого протеина – 40, переваримого протеина – 27, сырой клетчатки – 50, кальция – 1,8 и фосфора – 1,0. обменной энергии – 2,1 МДж, В добавление к ОР кролики опытной группы получали препарат лактобацилл *L. reuteri* 395 и 238.

Штаммы *L. reuteri* 395 и 238 были выделены из содержимого кишечника здорового телёнка. По результатам токсикологических исследований они отнесены к 4 группе патогенности – безопасны для теплокровных животных, устойчивы к желчи и соляной кислоте, проявляют антагонизм к бактериям рода *Salmonella*, *Klebsiella*, *E. coli*, *S. Aureus*, *S. Faecalis*, устойчивы к антибиотикам группы пенициллинов, аминогликозидов, нитрофуранов, фторхинолонов, проявляют высокую адгезивную способность к энтероцитам., депонированы в ВКМ. Штаммы повышают неспецифическую резистентность сельскохозяйственных животных, способствуют повышению продуктивности молодняка телят и кроликов.

Для исследования штаммы выращивали по-отдельности на жидкой среде MRS (Merck KGaA) при 38° С в течение 24 часов. Определяли содержание жизнеспособных клеток в 1 мл выросшей культуры методом серийных разведений с последующим посевом на чашки Петри с агаризованной средой MRS (Merck KGaA) и визуальным подсчётом выросших колоний через 24 ч

культивирования при 38°C. Количество КОЕ рассчитывали по формуле:

$$M=a*10^n/V,$$

где  $a$  – среднее число колоний при высеве из данного разведения;  $10$  – коэффициент разведения;  $n$  – порядковый номер разведения, из которого сделан высеv;  $V$  – объём суспензии, взятый для посева, мл.

Культуры с содержанием КОЕ  $10^9$ /мл смешивали в соотношении 1:1 и выпаивали индивидуально каждой крольчихе опытной группы из пипетки по 1 мл. Животные контрольной группы получали эквивалентный объём стерильной среды MRS. Выпаивание препарата начинали за месяц до спаривания и продолжали до окрота. Перед спариванием и перед окролом отбирали образцы венозной крови из краевой ушной вены. Взятие крови проводили с соблюдением правил асептики и антисептики в стерильные пробирки с ЭДТА, гепарином и активатором свёртываемости крови.

Гематологические показатели определяли на гематологическом анализаторе Mindrey BC-2800 vet. Определяли показатели неспецифической резистентности: фагоцитарную активность клеток крови по Кост и Стенко в модификации (Кондрахин, 2004), бактерицидную активность сыворотки крови – по модифицированному методу (Бухарин, 1979), содержание лизоцима – по (Емельяненко, 1980). Содержание общего белка и альбумина определяли с помощью наборов реагентов фирмы ЗАО Диакон-ДС.

Для микробиологических исследований были взяты вагинальные образцы. Существует три метода оценки численности и распространенности флоры – промывание (метод лаважа), мазок и петлевые методы. При методе лаважа для исследования используют смывы из влагалища. При мазковом методе вагинальные образцы собирают с помощью мазков, состав и количество флоры оценивают по исследованию материала на окрашенном мазке. В петлевом методе для сбора вагинальных образцов используется петля. Метод лаважа является наиболее информативным, с помощью этого метода можно исследовать более 90% культивируемых вагинальных бактерий. При этом влагалище промывают установленным объёмом разбавителя (стерильного физиологического раствора), отбирают стерильной пипеткой и проводят посев на селективные питательные среды. Количество и состав флоры оценивают по результатам посева (Mendling, 2016). После окрота оценивали массу гнезда и количество крольчат.

### **Результаты и обсуждение**

При исследовании гематологических показателей перед началом опыта было выявлено повышение гематокрита выше физиологической нормы и, в связи с этим, – повышенное содержание эритроцитов (табл. 1). Причина повышенного гематокрита не выяснена.

Через 30 суток после начала применения препарата лактобацилл, перед покрытием кроликоматок были снова отобраны пробы крови. Гематокрит и содержание эритроцитов в опытной группе находились в пределах физиологической нормы, тогда как в контрольной группе эти показатели оставались повышенными. Остальные показатели были в пределах нормы (табл. 2).

При изучении гематологических показателей перед окролом содержание лимфоцитов в обеих группах было ниже пределов физиологической нормы, что не считается патологией для самок в период беременности (Архипенко и др, 2012). Однако содержание лимфоцитов в опытной группе было близко к нижней границе нормы, тогда как в контрольной группе их количество было снижено значительно. Отмечена тенденция к повышению гемоглобина в опытной группе (табл. 3).

**Таблица 1. Гематологические показатели кроликоматок перед началом опыта (M+m, n=10)**

	<i>L. reuteri</i> 395+238	Контроль
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	7,40±0,41	7,02±0,52
Лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л	3,83±0,13	3,68±0,31
Моноциты, 10 <sup>9</sup> /л	0,22±0,02	0,25±0,04
Гранулоциты, 10 <sup>9</sup> /л	3,35±0,43	3,08±0,33
Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л	8,52±0,63	8,13±0,53
Гемоглобин, г/л	163±14	165±12
Гематокрит, %	60,8±5,2	58,0±4,4
Тромбоциты, 10 <sup>9</sup> /л	336±37	331±56

**Таблица 2. Гематологические показатели кроликоматок через 30 суток применения лактобацилл (M+m, n=10)**

	<i>L. reuteri</i> 395+238	Контроль
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	7,17±0,62	7,82±0,56
Лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л	3,47±0,14	3,62±0,38
Моноциты, 10 <sup>9</sup> /л	0,23±0,03	0,25±0,03
Гранулоциты, 10 <sup>9</sup> /л	3,46±0,51	3,92±0,45
Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л	6,98±0,49*	8,11±0,68
Гемоглобин, г/л	140±10	156±15
Гематокрит, %	49,7±3,6*	60,6±5,2
Тромбоциты, 10 <sup>9</sup> /л	448±60	401±47

Примечание: \*P<0,05 по *t*-критерию при сравнении с контролем

**Таблица 3. Гематологические показатели кроликоматок перед окролом (M+m, n=10)**

	<i>L. reuteri</i> 395+238	Контроль
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	7,36±0,84	6,14±0,67
Лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л	3,00±0,74*	2,13±0,37
Моноциты, 10 <sup>9</sup> /л	0,28±0,02	0,27±0,05
Гранулоциты, 10 <sup>9</sup> /л	4,06±0,53	3,92±0,22
Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л	6,32±0,27	6,27±0,09
Гемоглобин, г/л	123±13	117±1
Гематокрит, %	43,9±1,2	41,8±0,3
Тромбоциты, 10 <sup>9</sup> /л	368±35	472±53

В результате исследования установлено, что применение пробиотических *L. reuteri* способствовало повышению показателей неспецифической резистентности – фагоцитарная активность составила перед покрытием 67 и 56%, перед окролом 59 и 48% в опытной и контрольной группе соответственно (P<0,05); фагоцитарный индекс перед покрытием составил 13,0 в опытной и 10,3 в контрольной группе, и перед окролом 12,2 в опытной и 10 в контрольной группе (P<0,05); бактерицидная активность сыворотки крови перед покрытием на 10 % была выше в опытной группе (59 и 49%, P<0,05), и на 8% выше контроля перед окролом (58 и 50%, P<0,05). Лизоцимная активность сыворотки крови в опыте также превышала контрольные показатели и перед покрытием, и перед окролом в опытной и контрольной группе (P<0,05) (табл. 4). Полученные данные согласуются с данными других исследователей о том, что показатели неспецифической

резистентности остаются практически неизменными в течение физиологической беременности, однако, применение пробиотических лактобацилл способствовало повышению этих показателей до момента окрола (Овсянников, 2015).

Таблица 4. Показатели неспецифической резистентности (M+m, n=10)

	<i>L. reuteri</i> 395+238	Контроль
Начало опыта		
Фагоцитарная активность%	52,2±3,3	51,0±5,5
Фагоцитарный индекс	10,2±0,9	9,77±0,65
Бактерицидная активность сыворотки крови, %	46,9±1,9	
Лизоцимная активность сыворотки крови, %	45,5±1,2	45,2±1,8
Перед покрытием через 30 сут после начала опыта		
Фагоцитарная активность%	67,4±2,2*	56,3±3,1
Фагоцитарный индекс	13,0±1,9*	10,3±0,6
Бактерицидная активность сыворотки крови, %	59,4±1,7*	49,3±2,3
Лизоцимная активность сыворотки крови, %	61,9±2,1*	46,4±1,1
Перед окролом		
Фагоцитарная активность	58,6±2,4*	47,8±2,7
Фагоцитарный индекс	12,2±0,6*	9,99±0,88
Бактерицидная активность сыворотки крови, %	58,5±2,0*	50, 1±2,0
Лизоцимная активность сыворотки крови, %	51,5±1,3*	45,2±1,8

Здесь и далее в таблицах: \*P<0,05 по *t* - критерию при сравнении с контролем

Выявлено повышение содержания общего белка в опытной группе перед покрытием (62 и 56 г/л, P<0,05), также отмечена тенденция к повышению содержания альбуминов в опытной группе. Перед окролом в обеих группах показатели соответствовали таковым пред началом опыта в связи с физиологическим снижением содержания белков в крови беременных самок (табл. 5).

Таблица 5. Содержание общего белка и альбуминов в сыворотке крови (M+m, n=10)

	<i>L. reuteri</i> 395+238	Контроль
Начало опыта		
Общий белок, г/л	54,92±2,84	54,46±3,65
Альбумин, г/л	39,32±4,36	38,18±3,96
Перед покрытием через 30 сут после начала опыта		
Общий белок, г/л	61,732±3,15*	56,22±2,79
Альбумин, г/л	44,09±3,75*	39,33±4,02
Перед окролом		
Общий белок, г/л	52,92±3,15	50,04±2,99
Альбумин, г/л	37,32±3,47	34,22±3,14

Состав микрофлоры половых путей кроликоматок был изучен перед покрытием. Перед окролом во избежание негативных последствий для здоровья кроликоматок и плодов было решено отказаться от подобных вмешательств. При исследовании микрофлоры половых путей через 30 дней выпаивания препарата (перед покрытием) выявлено повышение уровня лактобактерий (P<0,05) и энтерококков (P<0,05) у опытных кроликоматок; содержание грибов, наоборот, было ниже в опытной группе (табл. 6).

Таблица 6. Состав микрофлоры половых путей кроликоматок перед покрытием через 30 сут. после начала опыта (M+m, n=10)

	<i>L. reuteri</i> 395+238	Контроль
Лактобациллы, 10 <sup>3</sup>	20,6±3,3*	4,5±1,3
Бифидобактерии, 10 <sup>3</sup>	19,0±2,7	11,7±4,0
Энтерококки, 10 <sup>4</sup>	19,9±1,6	17,4±1,6
Грибы, 10 <sup>3</sup>	2,6±0,1	15,0±13,0
Стафилококки, 10 <sup>2</sup>	1,2±0,5	4,0±2,0

В целом, результаты исследования свидетельствуют о положительном влиянии пробиотической добавки *L. reuteri* 238 и 395 на неспецифическую резистентность, здоровья и репродуктивных функций кроликоматок.

### Заключение

Применение *L. reuteri* 238 и 395 в рационе кроликоматок в дозе 10<sup>9</sup> КОЕ/мл повышает неспецифическую резистентность животных, улучшает гематологические показатели, положительно влияет на показатели белкового обмена, способствует элиминации УПМ из репродуктивного тракта кроликоматок, нормализует микробиоценоз влагалища. Применение пробиотических лактобацилл можно рекомендовать на кроликофермах с целью улучшения здоровья и репродуктивных функций кроликоматок для получения зорового поголовья кроликов и повышения экономической эффективности кролиководства.

### Список литературы

- Архипенко Н. В., Дроздова Л. И., Тимина Л. И. Состояние Т- и В-лимфоцитов крови у морских свинок в разные физиологические периоды и на фоне применения *Vacillus subtilis* 3. // Вестник Омского ГАУ. 2012. № 2. С. 38-45.
- Бригадиров Ю.Н., Коцарев В.Н., Шапошников И.Т., Лобанов А.Э., Лихачева И.Л. Применение пробиотического препарата «Гипролам» для профилактики скрытого эндометрита у свиноматок. // Ветеринарный врвч. 2017. № 2. С. 3-7.
- Бухарин О.В., Созыкин В.Л. Фотонейфелометрический метод определения бактерицидной активности крови. // В сб.: Факторы естественного иммунитета (Под ред. О.В. Бухарина). Оренбург, 1979: 43-45.
- Вишневская Т.Я., Абрамова Л.Л. Гематологические показатели кроликов в условиях стресса и при его иммунокоррекции. // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. 2012. № 2 С. 203-208.
- Граф Э.А. Продуктивность свиноматок под влиянием пробиотических кормовых добавок. // Вестник Орловского ГАУ. 2017. № 2. С. 163-165.
- Емельяненко П.А. Методические указания по тестированию естественной резистентности телят. М., 1980. 29 с.
- Кондрахин И.П. (Ред.) Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики. М.: КолосС, 2004. 520 с.
- Курчаева Е. Е., Востроилов А.В., Лыткина Л.И., Шенцова Е.С. Повышение продуктивности и качества мяса кроликов на основе комплексного использования пробиотиков и сорбентов в составе комбикормов. // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2020. № 1. С. 145-150.
- Курчаева Е.Е., Михайлов Е.В. Влияние пробиотических комплексов на структурную организацию тканей и органов кроликов. // Вестник Красноярского ГАУ. 2019. № 12. С. 112-118.
- Ли С.С., Петров А.В. Влияние пробиотика «ветом 1.1» на оплодотворяющую способность спермиев и гормональный статус быков-производителей. // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2013. № 12. С. 67-69.
- Миронова И.В., Черненко Е.Н. Естественная резистентность кроликов при скармливании пробиотической кормовой добавки Биогумитель. // Известия Оренбургского государственного аграрного университета 2017. № 1. С 115-117.



12. Ноздрин Г.А., Громова А.В. Иванова А.Б, Ноздрин А.Г., Лемяк А.И., Лемяк А.А. Морфологические и биохимические показатели у кроликов при применении пробиотического препарата Велес 6.59. // Достижения науки и техники АПК. 2012. № 10. С. 53-55.
13. Овсянников В.Г., Бойченко А.Е., Алексеев В.В., Алексеева Н.С., Абрамова М.В. Динамика активности лизоцима в крови интактных и подвергнутых аллогенному воздействию беременных самок крыс до и после родов. // Владикавказский медико-биологический вестник. 2015. Т. 21. С. 17-22.
14. Овчарова А.Н., Петраков Е.С. Влияние различных форм пробиотика на продуктивность и неспецифическую резистентность кроликов. // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. 2018. Т. 7. № 1. С. 113-118.
15. Овчинников А.А. Продуктивность свиноматок при использовании в рационе пробиотиков. // Вестник мясного скотоводства. 2017. № 1. С. 119-123.
16. Bertram C.A., Müller K., Klopffleisch R. Genital tract pathology in female pet rabbits [*Oryctolagus cuniculus*]: a retrospective study of 854 necropsy examinations and 152 biopsy samples. // *J. Comp. Pathol.* 2018. Vol 164. P. 17-26 DOI: 10.1016/j.jcpa.2018.08.003
17. Brecchia G., Menchetti L., Cardinali R., Castellini C., Polisca A., Zerani M., Maranesi M., Boiti C. Effects of a bacterial lipopolysaccharide on the reproductive functions of rabbit does. // *Anim. Reprod. Sci.* 2014. Vol. 147. P. 128-134. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2014.04.009. Epub 2014 May 6. PMID: 24838082.
18. El-Ashram S., Aboelhadid S.M., Abdel-Kafy E.M., Hashem S.A., Mahrous L.N., Farghly E.M., Kamel A.A. Investigation of pre- and post-weaning mortalities in rabbits bred in Egypt, with reference to parasitic and bacterial causes. // *Animals [Basel]*. 2020. Vol. 10. nr 3. P. 537. DOI: 10.3390/ani10030537
19. Hillier S.L., Nugent R.P., Eschenbach D.A., Krohn M.A., Gibbs R.S., Martin D.H., Cotch M.F., Edelman R., Pastorek J.G. Rao A.V. et al. Association between bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant. The vaginal infections and prematurity study group. // *N. Engl. J. Med.* 1995, Vol. 26. P 1737-1742. DOI: 10.1056/NEJM199512283332604
20. Naturil-Alfonso C., Lavara R., Vicente J.S., Marco-Jiménez F. Effects of female dietary restriction in a rabbit growth line during rearing on reproductive performance and embryo quality. // *Reprod. Domest. Anim.* 2016. P. 114-122. DOI: 10.1111/rda.12653
21. Martínez-Paredes E., Ródenas L., Pascual J.J., Savietto D. Early development and reproductive lifespan of rabbit females: implications of growth rate, rearing diet and body condition at first mating. // *Animal*. 2018. 12(11). P. 2347-2355. DOI: 10.1017/S1751731118000162
22. Mendling W. Vaginal microbiota. // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2016. Vol. 902. P. 83-93.
23. Mogheiseh A., Derakhshandeh A., Batebi E., Golestani N., Moshiri A. Co-relation of estrous cycle phases with uterine bacterial and fungal flora in non-pregnant female laboratory rabbits. // *Iran. J. Vet. Res.* 2017. Vol 18. nr 2. P. 128-133. PMID: 28775754
24. Nishikawa Y., Baba T., Imori T. Effect of the estrous cycle on uterine infection induced by *Escherichia coli*. // *Infect. Immun.* 1984. Vol. 43. nr 2. P. 678-683. DOI: 10.1128/IAI.43.2.678-683.1984
25. Noguchi K., Tsukumi K., Urano T. Qualitative and quantitative differences in normal vaginal flora of conventionally reared mice, rats, hamsters, rabbits, and dogs. // *Comp. Med.* 2003. Vol. 53. nr 4. P. 404-412. PMID: 14524417
26. Rosell J.M., Fuente L.F. Mastitis on rabbit farms: prevalence and risk factors. // *Animals [Basel]*. 2018. Vol. 8. nr 6. P. 98. DOI: 10.3390/ani8060098
27. Rosell J.M., Fuente L.F., Carbajo M.T., Fernández X.M. Reproductive diseases in farmed rabbit does. // *Animals [Basel]*. 2020. Vol. 10. P. 1873. DOI: 10.3390/ani10101873
28. Sánchez J.P., de la Fuente L.F., Rosell J.M. Health and body condition of lactating females on rabbit farms. // *J. Anim. Sci.* 2012. Vol. 90. nr 7. P. 2353-2361. DOI: 10.2527/jas.2011-4065
29. Yarbrough V.L., Winkle S., Herbst-Kralovetz M.M. Antimicrobial peptides in the female reproductive tract: a critical component of the mucosal immune barrier with physiological and clinical implications. // *Hum. Reprod. Update.* 2015. Vol. 21. nr 3. P. 353-377.

#### References (for publication in Russian)

1. Arkhipenko N.V., Drozdova L.I., Timina L.I. Sostoyanie T- и B-лимфоцитов у свиней в различные физиологические периоды и на фоне применения *Bacillus subtilis* 3. *Vestnik Omskogo GAU - Bulletin of the Omsk State Agrarian University*. 2012. 2: 38-45.
2. Brigadirov Yu.N., Kotsarev V.N., Shaposhnikov I.T., Lobanov A.E., Likhacheva I.L. [The use of the probiotic preparation "Giprolam" for the prevention of latent endometritis in sows]. *Veterinarnyi vrach - Veterinary doctor*. 2017. 2: 3-7.

3. Bukharin O.V., Sozykin V.L. [Photonephelometric method for determining the bactericidal activity of blood]. In: *Faktery estestvennogo immuniteta* (Factors of natural immunity). Orenburg, 1979. P. 43-45.
4. Emel'yanenko P.A. *Metodicheskie ukazaniya po testirovaniyu estestvennoi rezistentnosti telyat* (Guidelines for testing the natural resistance of calves). Moscow. 1980. 29 p.
5. Graf E.A. [Sow productivity under the influence of probiotic feed additives]. *Vestnik Orlovskogo GAU - Oryol State Agrarian University Bulletin*. 2017. 2: 163-165.
6. Kondrakhin I.P. (Red.) *Metody veterinarnoi klinicheskoi laboratornoi diagnostiki* (Methods of veterinary clinical laboratory diagnostics). Moscow: Kolos S Publ., 2004. 520 p.
7. Kurchaeva E.E., Vostroilov A.V., Lytkina L.I., Shentsova E.S. [Improving the productivity and quality of rabbit meat based on the integrated use of probiotics and sorbents in the composition of animal feed]. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta inzhenernykh tekhnologii - Bulletin of the Voronezh State University of Engineering Technologies*. 2020. 1: 145-150.
8. Kurchaeva E.E., Mikhailov E.V. [Influence of probiotic complexes on the structural organization of tissues and organs of rabbits]. *Vestnik Krasnoyarskogo GAU - Bulletin of the Krasnoyarsk State Agrarian University*. 2019. 12: 112-118
9. Li S.S., Petrov A.V. [Influence of the probiotic "vetom 1.1" on the fertilizing ability of spermatozoa and the hormonal status of sires]. *Vestnik Altaiskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta - Bulletin of the Altai State Agrarian University*. 2013. 12: 67-69.
10. Mironova I.V., Chernenkov E.N. [Natural resistance of rabbits when feeding the probiotic feed additive Biogumitel]. *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta - Proc. Orenburg State Agrarian University*. 2017. 1: 115-117.
11. Nozdrin G.A., Gromova A.V., Ivanova A.B. et al. [Morphological and biochemical parameters in rabbits when using the probiotic preparation Veles 6.59]. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK - Achievements of science and technology of the agro-industrial compl.* 2012. 10: 53-55
12. Ovsyannikov V.G., Boichenko A.E., Alekseev V.V., Alekseeva N.S., Abramova M.V. [Dynamics of lysozyme activity in the blood of intact and allogenicly exposed pregnant female rats before and after childbirth]. *Vladikavkazskii mediko-biologicheskii vestnik - Vladikavkaz Medical and Biological Bulletin*. 2015. 21: 17-22.
13. Ovcharova A.N., Petrakov E.S. [Influence of different forms of probiotic on the productivity and nonspecific resistance of rabbits]. *Sbornik nauchnykh trudov Krasnodarskogo nauchnogo tsentra po zootekhnii i veterinarii*. (Collection of scientific papers of the Krasnodar Scientific Center for Zootechnics and Veterinary Medicine). 2018. 7(1): 113-118.
14. Ovchinnikov A.A. [The productivity of sows when using probiotics in the diet]. *Vestnik myasnogo skotovodstva - Bulletin of beef cattle breeding*. 2017. 1: 119-123.
15. Vishnevskaya T.Ya., Abramova L.L. [Hematological parameters of rabbits under stress and during its immunocorrection]. *Aktual'nye problemy intensivnogo razvitiya zhivotnovodstva - Actual problems of intensive development of animal husbandry*. 2012. 2: 203-208.

UDC 636.92.082.345:612.017.1:579.64

**Effect of *L. reuteri* probiotic supplement for non-specific resistance and reproductive function in rabbits**

Ovcharova A.N., Ostrenko K.S.

*Institute of Animal Physiology, Biochemistry and Nutrition - Branch of Federal Research Center of Animal Husbandry - Ernst VIZh, Borovsk, Kaluga oblast, Russian Federation*

**ABSTRACT.** The aim of the study was to study the effect of the addition of probiotic microorganisms *L. reuteri* on the reproductive function of rabbits in order to prevent the development of pathological conditions caused by pathogenic and opportunistic microflora. The experiment was carried out on 20 California breed rabbits, in the experimental group (n=10) the preparation of *L. reuteri* 395 and 238 lactobacilli was included as an additive in the main diet. *Lactobacilli* strains were isolated from the intestinal contents of a healthy calf. Cultures with a content of CFU 10<sup>9</sup>/ml were mixed in a ratio of 1:1 and fed 1 ml individually to each rabbit of the experimental group. Animals in the control group received an equivalent volume of sterile MRS medium. Drinking the drug was started a month before mating and continued until birth. Before mating and before birth, venous blood samples were taken from the marginal ear vein. It was found that the use of probiotic *L. reuteri* contributed to an increase in phagocytic activity (P<0.05), phagocytic index (P<0.05), bactericidal and lysozyme activity of blood serum (P<0.05) vs control. In the study of the microflora of the genital tract after 30 days of drinking the drug (before coating), a significant increase in the titer of lactobacilli and enterococci (P<0.05) was revealed in experimental female rabbits, the content of fungi, on the contrary, was lower in the experimental group. Concluded that the use of probiotic lactobacilli *L. reuteri* in the diet of Californian breed rabbits a month before mating and throughout the entire period of pregnancy has a stimulating effect on nonspecific resistance, contributes to the normalization of the microbiocenosis of the genital tract, and improves the reproductive qualities of rabbits.

*Keywords: rabbit cats, probiotics, lactobacilli, productivity, microbiocenosis, nonspecific resistance.*

**Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology. 2022. 2: 56-66.**

Поступило в редакцию: 13.05.2022

Получено после доработки: 13.06.2022

Сведения об авторах:

**Овчарова Анастасия Никитовна**, к.б.н., с.н.с., [naka7@yandex.ru](mailto:naka7@yandex.ru)

**Остренко Константин Сергеевич**, д.б.н., вед.н.с., зав. лаб., [ostrenkokoks@gmail.com](mailto:ostrenkokoks@gmail.com)